



Title	鮭精液の卵膜溶解物質に就いて
Author(s)	濱野, 繁
Citation	札幌博物学会会報, 19(1-2), 40-44
Issue Date	1950-08-31
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/64368
Type	journal article
File Information	Vol.19No.1-2_006.pdf



鮭精液の卵膜溶解物質に就いて

On the egg membrane-lysin from the sperm suspension of
the salmon (*Oncorhynchus keta*).

濱 野 繁

Shigeru Hamano

北海道大學農學部水産動物學教室

受精現象に於て卵内に精子が侵入してからの精子核が重要な役割を果す事は云ふまでもないが、精子が卵に近接して侵入する過程に於ても亦精子が受精遂行上不可欠の物質をもつて居る事は種々の事實から當然考へられる。従つて精子の分泌物や抽出物に對する作用に關しての研究が少なくない。

Loeb (13) はリシン説を提唱し、精子に受精現象に於て卵の表面を壊溶さす物質即ちリシンなる一種酵素様物質の存在を考へた。其後多くの人々に依つて検討されたが遂に A. Tyler (39-40) によりカサガヒの一種 *Megathura crenulata* の濃厚精子懸濁液から卵膜分解素と抗精子凝集素の抽出が成功された。

本研究は鮭精液に卵膜溶解作用があるか、又存在すればその一般的性状及び作用する卵膜の部分、更に又卵が淡水に接する時に惹起する卵膜の硬化に依る受精不能と溶解作用との關係等を知らん爲に行はれたものである。

實驗方法

精液に卵膜溶解作用があるならば精液を作用させる事に依つて卵膜の含水量に變化を生ずべきであるとの見解のもとに實驗を行つた。即ち約30個の卵を各々2つに切つて片方を對照區とし他方を實驗區とし、對照區の方はその卵膜を M/7.5 NaCl にて卵黄等を流ひ去り、濾紙で水分を拭ひ取り秤量し次いで 110°C で恒量になるまで乾燥して其の含水量 (%) を出した。

實驗區の方は上記の様に M/7.5 NaCl にて洗つた卵膜を軽く濾紙で拭つてから濃厚精子懸濁液中に入れて 10°C に保ち一定時間 (4時間) 浸漬後更に M/7.5 NaCl にて卵膜に附着せる精液を洗ひ落してから濾紙で水分を拭ひ取り對照區と同じ方法で其の含水量 (%) を求めた。卵膜の秤量はすべて Torsion Balance を使用した。

實驗結果

1) 卵膜溶解作用及び其の盲試験

溶解作用の盲試験として M/7.5 NaCl にて洗つた卵膜を蒸溜水及び等調 Ringer 氏液に各々4時間浸漬した場合の含水量をそれぞれの對照區と比較し、又別に卵膜溶解作用の有無をしらべた結果が第1表で精液には卵膜溶解作用のある事がうかがへる。

第1表

	對照區含水量 (%)	實驗區含水量 (%)	(對照區含水量) - (實驗區含水量) %
蒸溜水に入れた場合	64.4	64.7	- 0.3
等調 Ringer 氏液に入れた場合	63.5	63.4	+ 0.1
卵膜溶解作用試験	62.8	58.8	4
	61.4	56.4	5

2) 遠心分離に依り2分した精液の各

部分の作用力比較

第1表に依り卵膜溶解作用の存在を確認したから更に精液を遠心分離して上澄と沈降部とどちらに作用物質があるかを知らん爲に卵を3分して其の1を對照區とし、1を上澄に、残りの1を沈降部に浸漬した。

* Contribution No. 119 from the Department of Fishery, Faculty of Agriculture, Hokkaido University.

第 2 表

對 照 區	67.7%
上 澄 の 部	63.3%
沈 降 の 部	65.0%
(對照區)－(上澄の部)	4.4%
(對照區)－(沈降の部)	2.7%

其の結果は第2表に示す様に上澄の溶解作用が強く又沈降部にも或る程度の作用力の存在が認められ斯る方法では完全に分離の行なはれない事を知る。

3) 温度の溶解作用に及ぼす影響

A) 卵膜溶解作用が温度に依つて鋭敏に影響されることは一種の酵素的作用であることを示す。即ち夫々予め 30°C に30分間及び100°C に10分間さらした精液に卵膜を浸漬作用させた場合には第3表に見る如く30°C で殆んど作用力を失ひ、100°C では完全に其の作用力を消失してしまふ。

B) 作用温度の 0°C, 10°C 及び20°C に於ける精液の卵膜に対する作用力は第4表に示す如く10°C が作用適温なるを示し、20°C に於ては殆んど作用を認め得ない。

4) 等調鹽溶液で精液を稀釋した場合の影響

第 4 表

	對照區 含水量 (%)	實驗區 含水量 (%)	(對照區) － (實驗區)
0°Cの場合	65.4	64.3	+ 1.1%
10°Cの場合	63.8	60.9	+ 2.9
20°Cの場合	64.3	63.6	+ 0.7

5) 卵膜の Chorion の部に對する作用力

青木 ('41) 及び濱野 ('49) は卵膜が N/100以下の HCl にて Chorion と膨潤層とに分離することを明にした。M/7.5 NaCl で洗つた未吸水卵膜と15分間吸水させた卵の卵膜を N/50 HCl にて膨潤層を除いたものと對する作用力の差異は第6表に見られる様に殆んど認められず且つ Chorion に對しは溶解能力を認め得ない。

第 6 表

	對照區 含水量 (%)	實驗區 含水量 (%)	(對卵區) － (實驗區)
未 吸 水 卵 膜	53.2	52.8	+ 0.4%
吸 水 卵 膜	60.9	60.2	+ 0.7

結果が第7表である。此の様に溶解作用の消失と受精率の遞減とは平行する。

7) 10% HCl で加水分解させた吸水卵膜に對する作用力

第 3 表

	對照區 含水量 (%)	實驗區 含水量 (%)	(對照區) － (實驗區)
30°Cの場合	64.5	63.7	+ 0.8%
100°Cの場合	65.1	65.1	0

量に於て精液の2に對して各等調鹽溶液1の割合に稀釋した各液への浸漬卵膜に對する作用結果が第5表で、蒸溜水と MgCl₂ で稀釋した兩場合には作用力が殆んど消失する。

第 5 表

	對照區 含水量 (%)	實驗區 含水量 (%)	(對照區) － (實驗區)
對照區	65.4	64.1	+ 1.3%
蒸溜水で稀釋した場合	64.3	64.0	+ 0.3
NaCl "	65.0	63.4	+ 1.6
KCl "	66.5	64.0	+ 2.5
CaCl ₂ "	65.1	63.9	+ 1.2
MgCl ₂ "	64.8	64.7	+ 0.1

6) 卵膜の各吸水時間に依る作用力

鮭卵を淡水に浸漬する時30秒で其の受精率は半減し、2分で全く受精力を失ふ。斯る受精能力の遞減と卵膜溶解作用との關係を見出さん爲に30秒、40秒、50秒、1分及び2分間吸水させた卵膜に對する溶解力を調べた結果が第7表である。

第 7 表

	對照區 含水量 (%)	實驗區 含水量 (%)	(對照區) — (實驗區)
30秒吸水	65.3	62.9	+ 2.4%
40秒 "	65.5	64.4	+ 1.1
50秒 "	64.4	64.2	+ 0.2
60秒 "	64.6	64.5	+ 0.1
2 分 "	63.5	63.3	+ 0.2

第 8 表

	對照區 含水量 (%)	實驗區 含水量 (%)	(對照區) — (實驗區)
30秒吸水卵膜	56.0	49.7	+ 6.3%
2 分吸水卵膜	57.1	46.6	+ 10.5

第7表に見る如く1分以上吸水させた卵膜に對しては溶解作用がなくなるが、此の様な吸水に依る硬化卵膜を10% HCl で若干

加水分解して軟化せしめた場合の作用力をしらべる爲に30秒吸水の卵膜を10分間、2 分間吸水の卵膜を20分間加水分解せしめた。斯る處理下の卵膜は其の形を保持し吸水卵膜よりもろくなる。明に吸水に依る硬化卵膜も加水分解により軟化される時は作用を受けることが第8表より認められる。

考 察

Loeb ('13) が人工處女生殖の研究で受精に際し精子の有するリンと彼が名付けた酵素様物質に依る卵膜溶解作用が起ること、所謂リン説を提唱して以來此の問題は多くの人に取上げられ遂に A. Tyler ('39 '40) によつてカサガヒの一種 *Megathura crenulata* の濃厚精子液を -80°C に過冷却する事に依り卵膜溶解作用の有効物質の抽出が成功された。

鮭精液にも斯る卵膜溶解作用の存在が本研究を通して知られる。而して鮭卵卵膜は内外二層より成り(青木, '41, 濱野, '49), 溶解作用は内層の Mucoid より成る膨潤層に働き硬蛋白より成る外層部の Chorion には作用能力が無い(第6表)。酵素と同様に温度に對して非常に鋭敏である(第3, 4表)。然し酵素作用に於ける Activator と Inhibitor との關係に就いては本研究に於ては各イオンに於ける作用力價の開きが僅少な爲に説明し得なかつた(第5表)。鮭卵は淡水に接すると2分間で受精能力を失ふ。此の事實は山本('44) がメダカ卵で觀察した表層窩胞の潰崩と同様な現象の存在が想像される。即ち鮭卵は淡水に接すると卵膜が不透明になり外面からの觀察は不可能になるが淡水に接して活性化してから略々2分間で表層窩胞の潰崩が完了されるのではないかと考へられる。然し石田('49)に依ると30分間 Ringer 及び淡水に浸漬したメダカの兩卵の呼吸量に大差なく、淡水への浸漬は卵自体に大なる生理的影響を及ぼさぬと云つて居る。又 A. Tyler ('40) は魚卵の淡水に接しての受精能力消失を受精前の沈澱膜生成による精子の侵入不能と解した。

本研究の結果に於ては淡水に接する事に依る受精能力と卵膜溶解作用との兩者の減退はよく一致し、受精能力を失ふ2分間卵膜が淡水に接することに依つて溶解作用も亦殆ど消失する(第7表)。更に卵膜溶解作用を受ける Mucoid から成る膨潤層には吸水に依り Ca が吸着し所謂 Sol→Gel の膠狀變化が起る事は既に報告した(濱野'49)。此の事實より Sol 狀の膨潤層(未吸水卵の膨潤層)は溶解作用を受けるが吸水して Gel 狀に膠狀變化を來たした膨潤層は作用を受けないこととなる。然して一度 Gel 狀になつた膨潤層は本實驗に使用した Ca のみを除去し再び Sol 狀に返そうと試みた試薬に依ては卵膜に溶解性を附與し得なかつた。

以上の如き卵膜の性質變化が淡水に接することによる受精能力の減退に密接に關係する

ものと思はれる。

吸水卵膜も 10% HCl で加水分解する時再び溶解作用が表はれる。此の事實は幾分分解された硬蛋白の Chorion に對する溶解作用の表はれで、此の場合膨潤層は殆んど脱落溶解してゐる。

結 言

- 1) 鮭精液中には卵膜溶解素が存在し、それは酵素的作用を表はすものである。
- 2) 溶解作用は卵膜の内側の膨潤層に對して働くものである。
- 3) 溶解作用は卵膜の吸水と共に消失する。それは卵膜の吸水に依り膨潤層に起る膠狀變化に依るものである。

本研究に於ける犬飼教授、齋藤教授の御助言並に北海道鮭鱒孵化場の鮭卵分與に對して深謝す。

参 考 文 献

- 1) 青木兼, 1941. 鮭卵卵膜の膨潤. 科學, 11, 第13號.
- 2) 濱野繁, 1949. 鮭卵卵膜の膨潤層について. 生理生態, 3卷, 1/2號, 43頁.
- 3) 石田壽老, 1949. 微量の鹽類に依るメダカ未受精卵の受精能力の保持とその機構. 北大教授小熊博士退職記念細胞學遺傳學論文集, 上, 48頁.
- 4) J. Loeb. 1913. Artificial parthenogenesis and fertilization. The University of Chicago Press.
- 5) A. Tyler. 1939. Extraction of egg membrane-lysin from sperm of the giant Keyhol limpet (*Megathura crenulata*). Pro. Nat. Acad. Sci. vol. 25. pp. 317.
- 6) A. Tyler. 1940. Agglutination of sea-urchin eggs by means of a substance extracted from the egg. Pro. Nat. Acad. Sci. vol. 26. pp. 249.
- 7) T. Yamamoto. 1944. Physiological studies on fertilization and activation of fish eggs.
1. Response of the cortical layer of the egg of *Oryzas latipes* to insemination and to artificial stimulation. Annot. Zool. Jap. vol. 22. pp. 109.

R é s u m é

Since the time of Loeb ('33) who established Lysin theory, many authors have directed the attention to find a substance of enzymatic nature in the sperm suspension, and attempted to extract from the suspension some substance effecting the unfertilized egg.

In 1939 A. Tyler extracted from the sperm suspension a substance which dissolves the membrane of the limpet egg and called it as "lytic agent". The water content of the egg membrane including the chorion becomes small when immersed in the sperm suspension. This may be induced by the presence of the lysin-like substance which dissolves the swelling layer of the egg membrane to some extent.

By means of the centrifugal machine the lytic agent is separated, being contained less in the sediment than in the supernatant fluid (Table 2). The optimum temperature for the

activity is approximately 10° C. (Table 4), and it becomes easily inactive by heat (Table 3). From the above the lytic agent may be recognized as enzymatic nature. The lytic agent does not act on the chorion but on the swelling layer of egg membrane (Table 6). It is true that the fertilizability of eggs is lost within 2 minutes in tap water as the swelling layer takes the Gel-character by contact with water. The loss of fertilizability is correlated with inactivation of the lytic agent (Table 7). This shows the inactivity of the lytic agent in Gel state. By hydrolyzation with 10% HCl, dissolving activity of the lytic agent appears not only on the swelling layer but also on the chorion (Table 8).