

ギンブナ卵ホモジェネートによる 精子核クロマチンの拡散

松村清隆・梶島孝雄

信州大学理学部生物学教室
(1984年3月21日 受理)

緒 言

日本では、フナ *Carassius auratus* の性比が雌に傾くことは古くから知られている。雄個体がほとんど発見できない関東系のギンブナ *C. auratus langsdorfii* において、この雌個体の体細胞染色体数が他のフナ属の染色体数 $2n=100$ に対し、156あるいは206と、高倍性を示すことを、小林等 (1970) は明らかにした。さらに、小林 (1971)、小林等 (1972)、OJIMA (1977) は、これら3倍性ギンブナが雌性発生により繁殖することを細胞学的に観察している。また小林 (1971) は、2倍性ギンブナ精子で媒精した3倍性ギンブナ卵の細胞学的観察で、精子侵入後、卵核は雌性前核に変化し、第1分裂へと進むのに対し、精子核は、星状体は形成するものの、凝縮したままで前核を形成せず、分裂核に関与しないということを報告している。

受精時における精子核の動態の研究は様々な動物について行なわれている。電子顕微鏡 (TEM) による観察はウニ (LONGO and ANDERSON, 1968)、メダカ (IWAMATSU and OHIA, 1978) 等で行なわれ、雄性前核形成は精子頭部の核膜の消失、クロマチンの拡散、次いで核膜の再形成という過程を経て進行することが報告されている。また、精子核の動態は、卵あるいは卵母細胞の細胞質環境に依存することが、未成熟卵の媒精、卵あるいは卵母細胞への核の注入などの方法により解析されている。

ENG and METZ (1980) は、ウニ *Lytechinus variegatus* を材料とし、その精子頭部を *in vitro* で卵ホモジェネートに加えることにより、精子核の拡散を誘導する因子は卵ホモジェネートの高分子分画にあり、その活性は Ca^{++} に依存すると報告している。

本研究では、ENG and METZ (1980) の方法にもとづき、フナ卵における精子核の膨潤、特にクロマチンの拡散の機構を明らかにする目的で、卵ホモジェネートの精子核クロマチンに与える影響を解析した。なお、他種硬骨魚類精子に与える影響を調べるため、メダカ精子も用いた。

材料および方法

材料魚として、諏訪湖産のギンブナ *Carassius auratus langsdorfii*、ナガブナ *C. auratus bürgeri*、およびメダカ *Oryzias latipes* の成魚を用いた。フナは諏訪漁業組合より購入し、メダカは大学で飼育しているものを使用した。各個体の体長、体高、体幅、体重、背鰭条数、鰭耙数を測定し、倍数性の検定は、赤血球核 DNA 量の相対値の測定、さらに可能な

ものについては細胞学的に染色体数を算定することにより決定した。なお、赤血球核 DNA 量は、フォイルゲン染色後、オリンパス製顕微鏡分光光度計 (MMSP) により、核 1 個当たりの積算吸光度を測定することによって求めた。

I 卵母細胞溶液の調整

雌成魚を 0.08% NS222 で麻酔した後、断頭し開腹して、卵巣片を摘出した。(なお、保存する場合は、 -20°C で凍結保存した。) 次いで、卵巣片より卵母細胞をピンセットで分離し、重量を測定した後、約 3 倍量の岩松塩類溶液 (NaCl 6.5 mg/ml, KCl 0.4 mg/ml, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.15 mg/ml, $\text{MgCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.15 mg/ml に 0.5M NaHCO_3 を加え pH7.3 にしたもの) (IWAMATSU *et. al.* 1976) を加え、ホモゲナイズした。ホモジェネートを 0°C で 15,000r.p.m. (約 14,000 G), 30 分間遠心し、その上清を直接、あるいはミリポアフィルターでろ過したものを卵母細胞溶液とした。

II 成熟卵溶液の調整

産卵期に雌成魚を MS222 で麻酔した後、腹部を押し、乾いたろ紙上に放卵させた。放卵を前記の卵母細胞溶液と同様に調整し、成熟卵溶液とした。

III 精子希釈液の調整

追星の確認できる雄成魚を MS222 で麻酔した後、腹部総排泄口付近を押し、射精させ、それを岩松塩類溶液で希釈し、 4°C で 1 晩保存した。実験直前に精子濃度を $5.0 \times 10^6/\text{ml}$ とし、精子希釈液とした。

IV クロマチン拡散試験

洗浄したカバーガラス上に 0.05% poly-L-lysine を 1 滴滴下し、約 10 分後それを吸引して除去し、岩松塩類液で洗浄した。塩類溶液を除いた後、精子希釈液を $8 \mu\text{l}$ 滴下し、15 分後に界面活性剤 (0.1%, 1% Triton X-100, または 0.1%, 1% Nonidet P-40) を $8 \mu\text{l}$ 加え、15 分間静置した。さらに卵母細胞溶液あるいは成熟卵溶液を $8 \mu\text{l}$ 滴下し、 25°C でインキュベートした。なお、以上の操作は湿室中で行なった。コントロールはそれぞれ、界面活性剤あるいは卵母細胞溶液、成熟卵溶液の代わりに岩松塩類溶液を同量滴下した。卵母細胞溶液または成熟卵溶液滴下後様々な時間に 5% ホルマリンを 1 滴加えることにより固定した。なお、プレパラートは倒立位相差顕微鏡で観察した。またプレパラートの一部は走査電子顕微鏡 (SEM) 観察用試料とした。SEM 試料は、エチルアルコールシリーズで脱水後、酢酸イソアミルに移し、臨界点乾燥をして、イオンコートで Au をコーティングすることにより作製した。

V トリプシン、 β -メルカプトエタノール処理

前記のクロマチン拡散試験における卵母細胞溶液、成熟卵溶液の代わりに 0.1% トリプシン、 10^{-1} , 10^{-2}M β -メルカプトエタノールを $8 \mu\text{l}$ 滴下し、プレパラート作製後、検鏡した。

結 果

I 精子に対する界面活性剤の効果

塩類溶液中におけるフナ精子は位相差顕微鏡観察によれば、球形に近い頭部に中片が続き、さらに長い尾部がのびている (第 1 図)。走査電顕観察では、頭部は球形に近い卵形

で表面にはしわ状の凹凸がある。中片は頭部と尾部の中間にあり、尾部は表面が比較的なめらかなひも状を呈している(第2図)。位相差顕微鏡観察によるメダカ精子の構造もほぼフナと同様であった。

フナ精子を0.1%または1% Nonidet P-40 (実質濃度0.05%, 0.5%), あるいは0.1%または1% Triton X-100 (実質濃度0.05%, 0.5%) で処理すると、いずれの場合も位相差顕微鏡観察では、頭部が未処理精子よりも球形に近づき、中片がとれて、尾部は非常に細くなる(第3図)。また、走査電顕で観察した0.1% Triton 処理精子では、頭部は未処理精子のようなしわがなくなり、表面のなめらかな球形に近い構造を呈している。中片は脱落し、尾部も表面の膜状構造が剥離しているのが認められた(第4図)。以上の観察結果から判断すると、これ等の処理により細胞膜が除去され、精子核は露出しているものと考えられる。なお、この界面活性剤による処理は、処理時間を90分から20時間迄のぼしても、それ以上の変化は認められなかった。メダカ精子においても、Nonidet P-40 処理の位相差顕微鏡観察で、フナ精子と同様な結果が観察された。

II フナ精子の反応

1. 2倍性フナ卵母細胞溶液に対する反応

産卵期の2倍性個体から摘出した十分に成長した卵母細胞溶液に対する精子核の反応は以下の通りである。

- (1) 界面活性剤処理をしていないフナ精子はほとんど変化を示さなかったが、ごく少数(5%未満)のもので、45~60分以降、頭部クロマチンの拡散したものが観察された。
- (2) 0.1% Triton 処理により細胞膜を除去したフナ精子核では、30分後、位相差顕微鏡による観察で核はしだいに黒色を帯び、輪郭が明瞭でなくなってくる(第5図)。45分後には核の輪郭は消失し、外側からクロマチンの拡散の進行が開始される。次いで60分後にはクロマチンの拡散はさらに進行し、多くの核でその直径が倍以上に膨潤してくる。この時期でも、クロマチンの拡散は核の内部に比べ外表近くでより進行しており、中心粒窩(centriolar fossa)の周辺で最も遅れる(第6図)。さらに時間が経過するにつれ拡散は進行するが、前核形成の際に観察される核膜の再構成は認められなかった。
- (3) 細胞膜除去を1% Triton, Nonidet P-40 処理で行なった場合も0.1% Triton 処理精子核と同様な変化を示した。
- (4) ミリポアフィルターでろ過を行なった卵母細胞溶液でも精子核の反応には相異が認められなかった

次に、秋~冬期の2倍性個体から摘出した成長期卵母細胞溶液に対する精子核の反応は、

- (1) intact なフナ精子への処理では頭部の変化はみられず、
- (2) Triton 処理精子核でも90分、20時間後まで変化が認められなかった。

2. 3倍性フナ卵母細胞溶液に対する反応

産卵期の十分に成長した卵母細胞、秋~冬期の成長期卵母細胞溶液を用いて調整した3倍性個体の卵母細胞溶液はいずれも、intact フナ精子、細胞膜除去フナ精子に対し、クロ

マチン拡散反応は示さなかった。

3. 2倍性フナ成熟卵溶液に対する反応

産卵期の2倍性個体の放出卵を用いて調整した2倍性成熟卵溶液は、intact フナ精子、細胞膜除去フナ精子に対してクロマチン拡散反応を示さなかった。

4. 3倍性フナ成熟卵溶液に対する反応

2倍性成熟卵溶液同様、3倍性成熟卵溶液に対して、intact、細胞膜除去フナ精子いずれもクロマチン拡散反応を示さなかった。

III メダカ精子の反応

1. メダカ卵母細胞溶液に対する反応

産卵期の十分に成長した卵母細胞を用いて調整したメダカ卵母細胞溶液に対するメダカ精子の反応は、フナ精子の2倍性の充分成長した卵母細胞溶液による処理とほぼ同様で、クロマチン拡散反応を示した。intact メダカ精子のメダカ卵母細胞溶液処理では、45~60分後、数パーセントで頭部クロマチンの拡散が認められるにすぎないが、Nonidet 処理で細胞膜を除去した精子核では20~30分後にクロマチン拡散が開始された。なお、反応時間には若干のばらつきがみられたが、フナ精子の2倍性フナの充分成長した卵母細胞溶液処理に比べ、反応速度はわずかに速いように思われた。

2. 2倍性フナの充分成長した卵母細胞溶液に対する反応

産卵期の2倍性フナ卵母細胞から抽出した充分成長した卵母細胞溶液で細胞膜除去メダカ精子の処理を行なった結果は、フナ精子の反応と同様に、クロマチン拡散反応が認められ、拡散の開始する時間はメダカ卵母細胞溶液の方がやや早かった。

3. 3倍性フナの充分成長した卵母細胞溶液に対する反応

産卵期に3倍性フナから抽出した十分に成長した卵母細胞で調整した卵母細胞溶液も、細胞膜除去をしたメダカ精子核クロマチンの拡散を惹起した。ただ、反応を開始する時期は同じ精子核を2倍性卵母細胞溶液で処理した場合よりも有意に遅いことが示された。

IV フナ精子の0.1%トリプシン処理

intact フナ精子を0.1%トリプシンで処理した場合、一部のものが15分後から頭部クロマチンの拡散が認められるが、その後拡散した精子数は増加せず、20時間経過したものでもその割合は10%を超えなかった。Triton 処理により細胞膜を除去した精子核では、処理後5分でクロマチンの拡散が始まり、15分後にはほとんどの精子核で拡散が認められた。なお、クロマチン拡散の様子は卵母細胞溶液処理の場合と比較して、明確な相異はなかった。

V フナ精子の β -メルカプトエタノール処理

フナ精子を 10^{-2} M および 10^{-1} M β -メルカプトエタノールで処理した。intact フナ精子、Triton 処理フナ精子ともに、120分後、20時間後まで変化は示さなかった。

考 察

今回のフナ精子を用いた実験では、細胞膜除去精子核のクロマチン拡散を誘導するため有効であったのは2倍性の充分成長した卵母細胞だけであり、2倍性成長期卵母細胞、2倍性成熟卵、そしてすべての3倍性卵母細胞、成熟卵でクロマチンの拡散は認められな

表1 ギンブナ卵ホモジェネートに対する精子核クロマチンの反応 (S. C. D. A)

sperm	egg or oocyte	S. C. D. A	
funa	diploid	growing oocyte	-
		full-grown oocyte	+
		matured egg	-
	triploid	growing oocyte	-
		full-grown oocyte	-
		matured egg	-
medaka	medaka	full-grown oocyte	+
	diploid	full-grown oocyte	+
	triploid	full-grown oocyte	(+)

かった。(表)。また、細胞膜をもった intact 精子ではいかなる条件でもクロマチンの拡散はほとんど認められなかった。ただ、ごく少数の精子核でクロマチンの拡散がみられたが、これらのものは恐らく精子希釈液調整の過程における何等かの原因で細胞膜が損傷したためではないかと思われる。

精子核クロマチンの拡散、および前核形成を誘導する卵母細胞、卵の細胞質環境については、多くの動物卵で報告がある。

ウニにおいては、成長期卵母細胞では侵入した精子のクロマチン拡散はみられないが、減数分裂期の卵母細胞ではクロマチンの拡散がみられ、さらに前核卵では核膜の再構成まで誘導される。このことから、雄性前核形成のために必要な因子、条件は、雌性核の成熟の進んだ段階において現われると考えられている。(LONGO, 1978)。一方、*in vitro* において、ウニ未受精卵母細胞質が精子クロマチンの拡散を誘導することが示されている (KUNKLE *et al.*, 1978, ENG and METZ, 1980) が、これは、ウニ卵では受精前に減数分裂が完了しているためと考えられる。これに対しヒトデ卵では、精子核のクロマチン拡散と前核形成に必要な因子は未成熟卵母細胞の細胞質には存在せず、I-メチルアデニン処理により卵核胞崩壊を起こすことにより初めて現われるといわれている (HRIAI, 1976, SHUETZ and LONGO, 1981)。

両生類においては、*Bufo bufo* の卵母細胞から様々な時期に卵核胞を除いた除核卵を媒精したり、Triton 処理精子を注入する実験から、卵核胞崩壊以前に除核した卵では前核形成や DNA 合成は起こらないが、卵核胞内容物を除核卵に注入した場合、精子核はある程度膨潤し、DNA 合成を開始することが示されている (KATAGIRI and MORIYA, 1976)。また、Triton 処理精子を成熟分裂の様々な時期の卵母細胞に注入すると、精子核は雌性核と同調した特徴を示すことが報告されている (MORIYA and KATAGIRI, 1976)。

哺乳類においては、USUI and YANAGIMACHI (1976) がハムスターの精子クロマチンを拡散させる細胞質の能力は卵核胞崩壊期ごろに現われ、核の成熟の進行とともに増加し、排卵の時期に最高に達し、受精後減少して第1卵割の間に再び現われると報告している。マウス (IWAMATSU and CHANG, 1972)、ラット (THADANI, 1979) においても、精子核

クロマチンの拡散は卵核胞崩壊後に起こり、マウスでは付活後1.5時間経過した卵においてもクロマチン拡散因子が残存しているものと考えられている (KOMAR, 1982)。

以上のように、精子クロマチンの拡散に対する卵細胞質環境の影響は動物により若干の相異がみられるものの、一般には卵核胞崩壊が必要条件であり、その後細胞周期に伴いその活性に変動がみられるようである。

一方、魚類においてはメダカを材料とした実験で、卵核胞除去を *in vitro* で成熟させ媒精すると、精子は卵内に侵入しクロマチンの拡散、さらには前核形成を行なうが、染色体形成は行なわないことから、卵核胞内容物は前核形成のためには必要でないが染色体形成過程には必須であると考えられている (IWAMATSU and OHTA, 1980)。また最近、軟体動物 *Barnea Candida* の卵母細胞についても、媒精後 Ca^{++} の増加を阻害すると卵核胞崩壊は抑えられるが精子核クロマチンは拡散することから、精子核の拡散には卵核胞崩壊は必要でなく、細胞内 pH の上昇が関係していると報告されている (DUBÉ *et. al.*, 1982)。

今回の実験で、卵核胞をもった十分に成長した卵母細胞溶液によって精子核クロマチンの拡散がみられたことは、メダカ卵における IWAMATSU and OHTA (1980) などの卵核胞崩壊を必要とする結果と一致している。しかし、本実験でクロマチン拡散を誘導できたのは産卵期の卵母細胞であり、その卵核胞は崩壊直前の状態にあったと考えられる。このような状態の卵母細胞を機械的にホモゲナイズして反応液にしたのであるから、クロマチン拡散に卵核胞内容物が全く関与していないと結論することはできない。この問題に関しては、今後細胞質と卵核胞を分離して解析を行なう必要があるものと考えられる。

また、成長期卵母細胞溶液ではクロマチン拡散がみられなかったことから、ホルモン刺激に対する反応性、すなわち卵核胞崩壊を起こす能力をもつ卵母細胞でのみクロマチン拡散能力を潜在的にもっているのではないかと考えられる。さらに、成熟卵溶液でクロマチン拡散が起こらなかつた原因としては、両生類で報告のある染色体凝縮活性 (CCA) (ZIEGLER and MASUI, 1973, MORIYA and KATAGIRI, 1976) が細胞質に存在していたことが考えられる。

今回の実験ではクロマチンの拡散は誘導できたが前核形成までには至らなかつた。これは MORIYA and KATAGIRI (1976) の報告にもあるように、卵核胞崩壊後成熟卵をブリッキングなどで付活することにより前核形成を誘導する条件が整うのであり、本実験で前核形成を誘導できなかつたのは当然であると思われる。今後、付活卵あるいは受精卵を用いて同様な実験を行なう必要があるものと思われる。

また、ウニ精子核では効果がないと報告されている0.1%トリプシン処理 (ENG and METZ, 1980) でフナ精子核はクロマチン拡散を示したこと、さらに哺乳類精子核のクロマチン拡散を誘導すると考えられている β -メルカプトエタノール (MARUSHIGE and MARUSHIGE, 1975, 1978, WAGNER *et. al.*, 1978) には反応を示さなかつたことより、フナ精子核クロマチンはウニ、哺乳類の精子クロマチンとはこれらの薬品に対する反応性が異なり、クロマチン拡散機構も違っていると考えられる。

今回のフナ精子核に対する十分に成長した卵母細胞溶液処理の実験において、2倍性フナ卵母細胞と3倍性フナ卵母細胞との間で、クロマチン拡散に与える影響に明らかに相異があることがわかつた。このことは、小林 (1971) が細胞学的観察によって示した、媒精

した3倍性ギンブナ卵では精子核の膨潤がみられないという報告と一致するものである。

また、メダカ精子核に対する3倍性フナの充分成長した卵母細胞溶液処理では、反応速度は遅いもののクロマチンの拡散を誘導した。このことは、*in vivo*においてキンギョ精子核が時として3倍性卵母細胞中で不完全ながら膨潤すること(中久木等 1983)と関連があるのかも知れない。一方、小林(1971)は、3倍性ギンブナ卵でキンブナ精子侵入後精子核は凝縮したままであるのに対し、雌性核(卵核)は雌性前核へと変化することを報告している。これらのことは、3倍性卵にはクロマチンを拡散させ、前核形成をする条件が整っていることを示すものである。こうした条件の中でなぜフナ精子核の前核化が阻害されるのであろうか。このことは卵細胞質中においてそこに存在する核は雌性核(宿主核)と同調した特徴を示すという報告(GURDON, 1968, MORIYA and KATAGIRI, 1967)と明らかに矛盾するものである。

また、異種のメダカ精子核がフナ卵母細胞溶液によってクロマチン拡散反応を示したことは、クロマチン拡散を誘導する要因は必ずしも種特異的なものではないことを示すものと考えられる。

以上のことから考察すると、3倍性ギンブナ卵で近縁種の精子核が凝縮したままでとどまるのは、クロマチン拡散要因に問題があるのではなくて、近縁種の精子核に働いてその機能を阻害する別種の要因が存在するためではないかと考えられる。この問題に関してはさらに今後の解析が期待される。

文 献

- DUBE, F. L, DUFRESNE-DUBE and P, GUERRIER (1982) Sperm nuclear decondensation in *Barnea candida* (Mollusca Pelecypoda) oocytes doesnot require germinal vesicle breakdown. *J. Exp. Zool.* **221** : 383-387.
- ENG, L, A, and C, B, METZ (1980) Sperm head decondensation by a high molecular weight fraction of sea urchin egg homogenate. *J. Exp. Zool.* **212** : 159-169.
- GURDON, J. B. (1968) Changes in somatic cell nuclei inserted into growing and maturing amphibian oocyte. *J. Embryol. exp. Morph.* **20**, 3. 401-414.
- HIRAI, S. (1976) The role of germinal vesicle material on the swelling of sperm nuclei penetrated in immature oocytes of the starfish. *Bulletin of the marine biological station of asamusi.* **15**. No. 4 165-171.
- IWAMATSU, T and M, C, CHANG(1972) Sperm penetration *in vitro* of mouse oocytes at various times during maturation. *J. Reprod. Fert.* **31** 237-247.
- IWAMATSU, T, T, OHTA, N, NAKAYAMA and H. SHOJI (1976) Studies of oocyte maturation of the medaka, *Oryzias latipes*, III, cytoplasmic and nuclear changes of oocyte during *in vitro* maturation. *Annot. Zool. Japon.* **49** : 28-37.
- IWAMATSU, T and T, OHTA (1978) Electron microscopic observation on sperm penetration and pronuclear formation in the fish egg. *J. Exp. Zool.* **205** : 157-180.
- IWAMATSU, T and T, OHTA (1980) The change in sperm nuclei after penetrating fish oocytes matured without germinal vesicle material in their cytoplasm. *Gamete Research.* **3** : 121-132.
- KATAGIRI, C and M, MORIYA (1976) Spermatozoan response to the toad egg matured after removal of

- germinal vesicle. *Develop Biol.* **50** : 235-241.
- 小林 弘, 川島康代, 竹内直政 (1970) フナ属の染色体の比較研究, 特にギンブナに現われた倍数性について. *魚類学雑誌* **17** : 153-160
- 小林 弘 (1971) 3倍体ギンブナの gynogenesis に関する細胞学的研究. *動雑* **80** : 316-322
- 小林 弘, 越智尚子 (1972) キンブナとドジョウの精子の媒精により生じた3倍体ギンブナの仔魚の染色体について. *動雑* **81** : 67-71
- KOMAR, A. (1982) Fertilization of parthenogenetically activated mouse eggs, I. Behaviour of sperm nuclei in the cytoplasm of parthenogenetically activated eggs. *Expt. Cell. Res.* **139** : 361-367.
- KUNKLE, M. B, E, MAGUN and F, J, LONGO (1978) Analysis of isolated sea urchin nuclei incubated in egg cytosol. *J. Exp. Zool.* **203** : 381-390.
- LONGO, F, J. (1978) Insemination of immature sea urchin (*Arbacia punctulata*) eggs. *Develop. Biol.* **62** : 271-291.
- MARUSHIGE, Y and K. MARUSHIGE (1975) Enzymatic unpacking of bull sperm chromatin. *Biochimica et Biophysica Acta*, **403** : 180-191.
- MARUSHIGE, Y and K, MARUSHIGE (1978) Dispersion of mammalian sperm chromatin during fertilization: an *in vitro* study. *Biochimica et Biophysica Acta.* **519** : 1-22.
- MORIYA, M and C, KATAGIRI (1976) Microinjection of toad sperm into oocytes undergoing maturation division. *Develop. Growth and Differ.* **18** : 349-356.
- OJIMA, Y and N, ASANO (1977) A cytological evidence for gynogenetic development of the ginbuna (*Carassius auratus langsdorfii*) *Proc. Japan. Acad.* **53** : 138-142.
- SCHUETZ, A, W and F, J, LONGO (1981) Hormone-cytoplasmic interactions controlling sperm nuclear decondensation and meiotic pronuclear development in starfish oocytes. *J. Exp. Zool.* **215** : 107-111.
- THADANI, V, M. (1979) Injection of sperm heads into immature rat oocytes. *J. Exp. Zool.* **210** : 161-168.
- USUI, N and R, YANAGIMACHI (1976) Behaviour of hamster sperm nuclei incorporated into eggs at various stages of maturation, fertilization, and early development. The appearance and disappearance of factors involved in sperm chromatin decondensation in egg cytoplasm. *J. Ultra. Res.* **57** : 276-288.
- WAGNER, T, E, J, E SLIWINSKI and D, B, SHEWMAKER (1978) Subunit structure of eutherian sperm chromatin. *Archives of Andrology* **1** : 31-41.
- ZIEGLER, D and Y, MASUI (1973) Control of chromosome behaviour in amphibian oocytes I. The activity of maturing oocytes inducing chromosome condensation in transplanted brain. *Nuclei.* **35** : 283-292.

***In vitro* analysis on the decondensation of sperm head
chromatin by the homogenates of oocyte
cytoplasm in *Carassius auratus langsdorfi***

K. MATSUMURA and T. KAJISHIMA

Department of Biology, Faculty of Science,
Shinshu University

(Received March, 1984)

ABSTRACT

Sperm chromatin decondensing activity of funa eggs and oocytes was studied *in vitro*, in order to clarify the mechanism of sperm chromatin decondensation in egg cytoplasm. To assay for sperm chromatin decondensing activity, naked sperm nuclei treated with Triton were exposed to homogenate from oocytes and eggs.

As a result of experiments using funa sperm, full-grown oocytes of diploid funa induced chromatin decondensation, though growing oocytes, matured eggs of diploid, and oocytes and matured eggs of triploid did not. On the other hand, using medaka sperm, fullgrown oocytes of triploid funa also induced chromatin decondensation.

From the present study, it becomes apparent that homogenate from full-grown oocytes before germinal vesicle breakdown possess the ability to decondense chromatin. And it seems to be probable that egg cytoplasm of triploid ginbuna does not lack the ability to decondense chromatin but possesses the factor(s) inhibiting decondensation of sperm chromatin of the other sub-species.

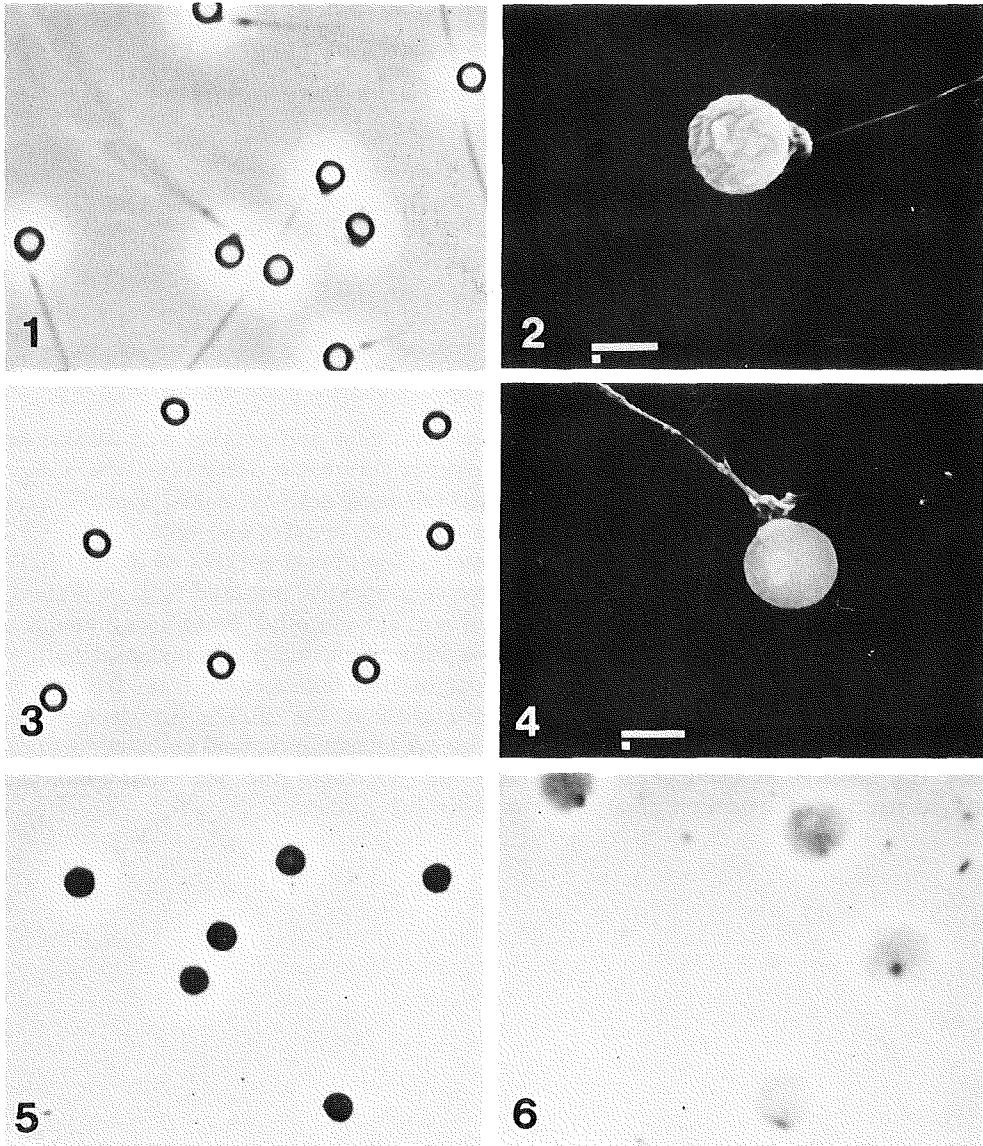


図 版

- 第1図 位相差顕微鏡によるフナ精子
 第2図 走査電顕によるフナ精子
 第3図 位相差顕微鏡による界面活性剤処理をしたフナ精子
 第4図 走査電顕による界面活性剤処理をしたフナ精子
 第5図 位相差顕微鏡によるクロマチン拡散初期のフナ精子
 第6図 位相差顕微鏡によるクロマチン拡散末期のフナ精子