

精子鞭毛運動の制御機構に関する研究 — 鶏精子除膜モデルの作成と再活性化 —

木村 建・尾関有一*・保地眞一・花田 章
信州大学繊維学部 応用生物科学科、三和化学研究所*

1. 緒 言

射精された鶏の精子は体外で活発に運動するが、生理的塩類溶液で洗浄すると、鶏の体温である 40℃ 付近で運動を停止する事が知られている。一旦運動を停止した精子は、環境温度の低下に伴って再び運動を再開するので、この鶏精子に特異な現象は「体温付近における可逆的不動化」と呼ばれているが、どのような機構が関わるのかについては明らかにされていない。本実験では、この可逆的不動化の機構解明を目的に、intact な精子と同様の運動を行う除膜モデルの作成と再活性化を試みた。

2. 材料と方法

腹部マッサージ法により採取した鶏精子を PBS で洗浄後、Triton X-100 で膜を抽出し、再活性化液中に懸濁し、ATP を添加して再活性化を行った。モデルの運動の観察は、暗視野で CCD カメラとビデオカセットレコーダーを用いて記録した。再活性化率および前進運動率はこの記録テープを再生し求めた。

3. 結 果

界面活性剤の濃度と抽出時間の変化を図 1 に示した。Triton で抽出後、ATP を欠く再活性化液中で運動を停止しているモデルは完全に除膜されたものとし、運動を続けているモデルは除膜が不完全であると判断した。また、再活性化液に ATP を加えた時に運動を開始した精子の比率を指標として、抽出の最適条件を求めた。界面活性剤の濃度が低いと除膜が不完全となり、濃度が高くなると除膜率は高くなるが、再活性化率は逆に低くなり、抽出時間が 20 分を越えると再活性化率が著しく低下した。除膜モデルの再活性化率は、0.025% で 5 分間抽出した場合が 1 番高く約 75% であった。モデルの再活性化率は ATP

濃度に影響を受け、1 mM の ATP を添加したときが最大で、この傾向は、30℃ でも 40℃ でも変わらなかった (図 2)。

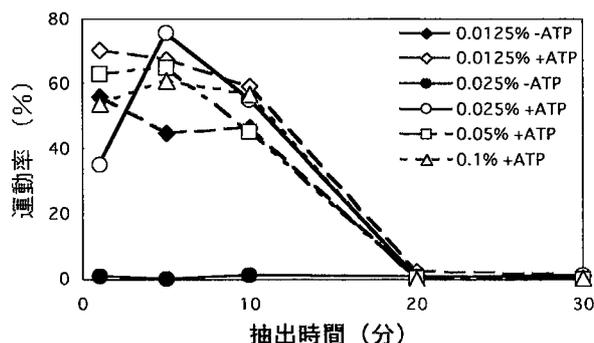


図 1. 界面活性剤の濃度と抽出時間がモデルの活性化に与える影響

4. 考 察

鶏精子の可逆的不動化は、細胞内 Ca^{2+} が細胞外に汲み出され、細胞内 $[Ca^{2+}]$ が低下

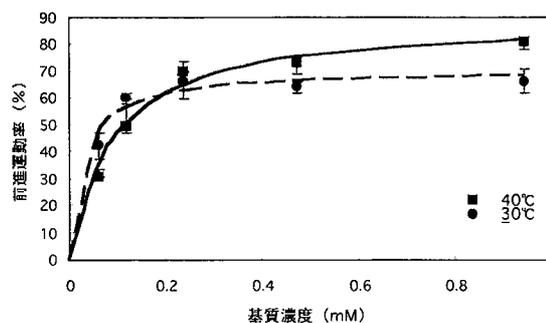


図 2. ATP 濃度と前進運動率

することによるとする主張と、鞭毛にある温度感受性の機構によるとする主張が存在する。今回の実験で除膜モデルが 40℃ 条件下でも活発に運動したことは、この可逆的不動化は温度感受性の機構に依存する現象ではなく、細胞内の物理化学的变化に起因するものと推察され、細胞内の環境が適切に保たれば、洗浄鶏精子はその体温付近においても活発に運動することが示された。