

昆虫の精細胞に授精能はあるか？

畠山 正統・大石 陸生

Masatsugu HATAKEYAMA and Kugao OISHI: Do insect spermatids have potential for fertilizing eggs upon micro-injection?*

Department of Biology, Faculty of Science, Kobe University, Nada, Kobe, Hyogo 657, Japan

カブラハバチは昆虫で唯一、精子を成熟未受精卵に顕微注入することによって体外人工受精が可能な実験系である (Sawa and Oishi, 1989a)。また、この顕微授精法を用いて、成熟精子だけでなく、凍害防止剤なしに凍結・解凍して運動性を失わせた、いわゆる「死んだ」精子にも授精能があることを確認している (Hatakeyama *et al.*, 1994a)。最近、ヒトやマウスでは顕微授精法を使って、精細胞 (減数分裂は終了しているが精子変態過程に入る前の細胞、哺乳類では round spermatid とよんでいる) を用いた人工授精に成功している (Aitken and Irvine, 1996)。さて、昆虫の精細胞には授精能はあるのだろうか。顕微授精法を利用し、カブラハバチの精細胞を成熟未受精卵に注入してその授精能について調べた。

カブラハバチの蛹化直後の精巢内から精細胞を取り出し、5-8日令の雌から取り出した成熟未受精卵の前端 (卵門付近) に顕微注入した。精細胞由来の核の発生参加を確認するために、*yfb* (yellow fat body: 蛹後期の脂肪体の色で区別できる非細胞自律的な突然変異)、*cec* (cream eye color: 胚発生後期から成虫にいたるまでの眼色で区別できる細胞自律的な突然変異) および、*sw* (short wing: 成虫の翅が短くなる細胞自律的な突然変異) の3種類の可視マーカー突然変異を用いた。

yfb をマーカーに用いて蛹後期で調べると、388個の成熟未受精卵に精細胞を注入して1%弱のものが半数体サイズのキメラ雄となった (Table 1)。一方、*cec* をマーカーに用いて胚発生後期に調べると、約5%のものが精細胞由来の核が発生に参加していることが確認できた。さらに飼育すると蛹まで生き残ったものはすべてが半数体サイズのキメラ雄となった (Table 2)。これらの半数体サイズのキメラ雄は羽化後、交配して子孫検定を行い、半数体であることを確認した。また、これまでの子孫検定から、これらの半数体キメラ雄の生殖細胞には卵核由来の細胞だけでなく、注入された精細胞由来の細胞も寄与していた。しかしながら、いずれの場合にも受精卵 (二倍体雌) は得られなかった。

カブラハバチの精細胞には発生参加能があることは確認されたが、授精能の有無については現在のところ不明である。哺乳類 (マウス、ウサギ) では精細胞の顕微授精に先立って卵を付活しておくとう受精率が上がるという報告があり (Kimura and Yanagimachi, 1995; Sofikitis *et al.*, 1996)、また、カブラハバチでも卵付活してから成熟精子を顕微注入すると受精率が上がることがわかっている (Sawa and Oishi, 1989b)。卵付活して発生

Table 1 Spermatid micro-injection into mature oocytes in *Athalia rosae* (*yfb* and *sw* were used as markers).

Spermatids injected	No. of eggs injected	No. of embryos normally developing after 2 days	No. of larvae hatched	No. pupated and examined	No. of haploid males			No. of diploid females
					arrhenotoky	chimeras		
(+; +; <i>sw</i>)	(<i>yfb</i> ; +; +)				<i>yfb</i> ; +; +	<i>yfbll</i> +; +; +	<i>yfbll</i> +; +; <i>swll</i> +	<i>yfblyfb</i> ; +/+; +/+
	388 (100)	231 (59.5)	187 (48.2)	152 (39.2)	148 (38.1)	2 (0.5)	1 (0.3)	1 (0.3)

* Abstract of paper read at the 32nd Annual Meeting of Arthropodan Embryological Society of Japan, May 30 - 31, 1996 (Hatonosu, Tokyo).

Table 2 Spermatid micro-injection into mature oocytes in *Athalia rosae* (*cec* and *yfb* were used as markers).

Spermatids injected	No. of eggs injected	No. of embryos normally developing after 3 days	No. of larvae hatched	No. pupated and examined	No. of haploid males				
					arrhenotoky	chimeras			
(<i>yfb</i> ; +; +)	(+; <i>cec</i> ; +)				+; <i>cec</i> ; +	+; <i>cecll</i> +; +	<i>yfb</i> ; <i>cecll</i> +; +	<i>yfb</i> // +; <i>cec</i> ; +	<i>yfb</i> ; +; +
	285 (100)	165 (57.9)							
		<i>cec</i> 150 (52.6)	137 (48.1)	106 (37.1)	105 (36.8)	0	0	1 (0.4)	0
		<i>cecll</i> + 15 (5.3)	7 (2.5)	5 (1.8)	0	2 (0.7)	1 (0.4)	0	2 (0.7)

開始させてから精細胞を注入して授精能の有無について調べる必要があろう。

今回の結果と、成熟精子を卵前端から注入した場合には受精卵は得られても半数体キメラは得られず、一方、卵後端から注入した場合には受精卵は得られず半数体キメラが得られるというこれまでの結果 (Hatakeyama *et al.*, 1994b) とあわせて考えると、卵内にある核の発生参加や融合、あるいは余分な核の発生参加抑制にかかわる細胞質因子や、それらと精子、あるいは精細胞との相互作用についての新たな疑問が生じてきた。

引用文献

- Aitken, R. J. and D. S. Irvine (1996) *Nature*, **379**, 493-495.
 Hatakeyama, M., M. Sawa and K. Oishi (1994a) *J. Insect Physiol.*, **40**, 909-912.
 Hatakeyama, M., M. Sawa and K. Oishi (1994b) *Roux's Arch. Dev. Biol.*, **203**, 450-453.
 Kimura, Y. and R. Yanagimachi (1995) *Development*, **121**, 2397-2405.
 Sawa, M. and K. Oishi (1989a) *Zool. Sci.*, **6**, 557-563.
 Sawa, M. and K. Oishi (1989b) *Roux's Arch. Dev. Biol.*, **198**, 242-244.
 Sofikitis, N. V., T. Toda, I. Miyagawa, P. M. Zavos, P. Pasyianos and E. Mastelou (1996) *Fertil. Steril.*, **65**, 176-185.