

発生生物学誌

JAPANESE JOURNAL OF DEVELOPMENTAL BIOLOGY

第 22 号

旧 名 実 験 形 態 学 誌

Formerly Japanese Journal of Experimental Morphology

日本発生生物学会

(1968)

Z. HOSHINO

発 生 生 物 学 誌 第 22 号

目 次

巻 頭 言	団 勝 磨 ... 1
日本発生生物学会設立記念講演会講演要旨	
形態学における二・三の問題	団 勝 磨 ... 2
細菌べん毛の形成と分化	飯 野 徹 雄 ... 7
植物の発生	古 谷 雅 樹 ... 12
動・植物学会合同シンポジウム「細胞分化の基礎過程」講演要旨	
カエル胚リボゾーム RNA 合成の調節因子	山名清隆・塩川光一郎・和田 薫 ... 19
植物ホルモンの作用と細胞分化	柳 島 直 彦 ... 27
日本発生生物学会第1回大会講演要旨	34
会 記	115
編集後記	

巻 頭 言

—日本発生生物学会の発足，実験形態学誌より
発生生物学誌への誌名変更に際して—

今年の春これまでの発生学の諸団体を統合し，さらに植物学，医学の関係分野を併せて日本発生生物学会が組織された。これを機会に岡田要先生によって創始され市川衛先生に受けつがれてきた実験形態学誌と佐藤忠雄先生が初めから現在まで統轄してこられたエムブリオロギアの両誌から本会の機関誌になって戴く御承諾をえたので，本会は名実ともに我が国のこの方面の研究者の大同団結としての学会となることができた。

それに伴って両誌の名称を変更して新学会の性質により適切にしてはどうかとの議が起って，実験形態学誌は第21輯で区切って，本号から発生生物学誌として次の段階に発展してゆくことになった。この新名称がどこでどのように決められたかの経緯は私は全く知らないが，発足に当たってこの誌名を少し考えてみる必要はなかろうか？

近頃発生生物学とか細胞生物学とか，後に生物学を付けることが流行している。これは私が学生だった頃に「実験」という字を各分野の頭に付けることが往行した当時を思いださせる。その頃の気持を察すると生物学に実験的な研究法が持ち込まれた結果，それまでの正常の過程を傍観的に眺めるだけとは違うということを強調したかったのであろう。しかし今では実験はどの分野でも当り前のことになって意味がなくなった。そこに「生物学」というのが取って代って現われたのであろう。

一体発生だの細胞だのの後にさらに「生物学」をくっつけるのは私には冗漫に思えるし，これがどういう時代精神の表現であるかもわからない。しかし全く便宜主義的に私なりの妥協を試み，かつ本学会の成り立ちなどを考えて，次のように考えることができそうである。生物学の知識内容が近年やっと充足してきたので各分野の成果をこれまでのようにその分野だけに限ることなく，生物学全般の基盤の上で考察できるようになったためと解することはできまいか。このような提唱を敢えてするのは，新学会のスタートラインに並ぼうとするわれわれの間で，会名の受けとり方を多少でも揃える方がよからうと思うからである。しかしこの会名の最終的意義は，会がこれからたどるであろう進展の途すじによって決定されるべきものである。

いずれにせよ新装ならんとする発生生物学誌に実り多い将来を念願する次第である。

団 勝 磨

形態学における二・三の問題

団 勝 磨

(東京都立大学 理学部 生物学教室)

Katsuma DAN (Department of Biology, Faculty of Science, Tokyo Metropolitan University, Tokyo):
Some Basic Problems in Morphology.

私が申し上げようとするには何も新しい点はない。だが責めていえば、それらは経験を通して私が経験しているという意味だけがあるかも知れない。

1. 生物測定に関して

一つの物体の形を研究するとき、初めは丸いとか四角いとかいう定性的な捉え方をするが、考えが熟してくるに従ってこのような表現は不満足になり、より定量的な規定が望まれる。ここで物体の大きさの dimension だの、重さの測定に立ち至るのである。測定の極限は絶対的な意味をもつ数値を与えることであって、光の速度とか天体の軌道の決定などは純粋な例であろう。

ところが、対象が生物体である場合は、そもそも生物体自身が metastable な状態にあるため、えられた測定値の間で、その意義や重要性に幾段かのレベルの差が生じてくる。私には生物測定の中でやや絶対性の高い数値は chromosome number かも知れないと思うが、これにさえ変異のあることは周知の通りである。まして細胞に関する他の値に至っては、その数値として独立性はさらに少なく、単に環境条件の一函数値でしかなくなる。例えば、日本人の背丈の代表値を考えれば、二・三十年前の低い値は歴史的・一資料ではあろうが、数値としては現在ほとんど意味がなくなっている。

私の経験範囲から1例をとれば、かつて私は分裂中のウニ卵の紡錘体の長さを測ったことがある。spindle length は徐々に増大するが、私が対象としたのは細胞が球形である限りでの最大長であった。この maximum length は一つの種類のウニでは一見はなほ一定した値である。しかし、卵の一部を切って作った部分卵を分裂させてみると、そのときの紡錘長は決して対照の全卵

のそれと等しくはなく、部分卵の大きさに釣合って、それぞれちようどよい値になる。という意味は、分裂しつつある部分卵の外形はいつも全卵の外形と相似形である。したがって、この結果を悲観的にみれば、紡錘体の長さを測ることそれ自身無意味だともいえよう。

しかし、私はまだ若かったから事態を收拾しようとした。すなわち、紡錘体の最長値が部分卵の大きさに比例することに着目して、紡錘長と部分卵の直径との間に関係式を建てたところ、綺麗な直線がえられた。このことは一見私の面子を救ったように見えるが、実はこれで紡錘体の長さなるものは環境の函数に随して絶対性を失ってしまった。

しかし、それから15年ほどしてから、井上君はツバサゴカイ *Chaetopterus* の成熟分裂の紡錘体では、コルヒチン作用させると、一旦できている紡錘体が短くなり、コルヒチンを洗いとると、また元の長さに戻ることを報告した (INOUE, 1952)。この際紡錘体の幅はあまり変わらないことは注目に値する。その後彼はさらにクラゲ卵で 4°C で紡錘体を消滅させ、室温で再形成させることに成功した (INOUE, 1964)。アミープでも同じことが起る (ROTH, 1967)。こうなると紡錘体の長さは細胞直径以外に温度の函数にもなって、数値としての権威はますます低くなる。

あえて spindle length に意味をもたせようとするなら、紡錘体の別の性質を考慮する必要に迫られる。紡錘体は一見定常的な構造のように見えるが、近年その構成要素は赤道面から両極に向って流れていると考える節がでてきた。

一番早いのが CARLSON (1952) の報告で、ベッタの神経原細胞 (neuroblast) の紡錘体に軽く microneedle を

刺しておくと、暫らくのうちに紡錘体が縦にずれて、針は極の外側に吐きだされる。この不思議な現象の報告は、ながい間孤立していたが、近頃 FORRER (1965) によって、全く違った条件下で、これに似た結果が観察された。すなわち、紡錘体は元来かなり強い複屈折性を示すが、その一部に偏光させた紫外線の beam を使って、しかも偏光面を紡錘軸に直角にして照射すると紡錘体の複屈折はその部分だけ消失して isotropic になる。これを照射後時間的に追跡してみると、その等方性になった部分は徐々に紡錘極の方に移動し、極に達するとなくなってしまうのである。序でを再びいえば、照射線の偏光面を紡錘軸に平行に当てると何の変化も起らない。さらに去年 BAJER (1967) は *Haemanthus* の endosperm の

紡錘体で位相差でみえる粒子の極に向う "transport" を報告し、しかもその移動速度は anaphase のときの染色体の速度と同じであるといっている。こうなると、紡錘体の長さとは特殊な方向性をもつ流れに乗った動的平衡の一面を示すことになって、少なくとも紡錘体の幅を測るより意味がでさうである。

この1例が示すように、生物学における測定値は相対的な意味しかもたないから、研究者は自分のえた値を測り放しにしないで、その意味づけを常に反省することが進展の一つの動機を与えるように思われる。しかし、私はこれ故に生物学が天文学や物理学より劣るとは考えていない。生命現象はもともと函数関係の複雑な集積であるから、このこと自体が生物学の本質と感じている。

2. 細胞分裂と蛋白の新合成の問題

(1) で述べたような途すじを通ってきた者には MAZIA が主張する mitotic apparatus を作っている protein はいつも monomers として細胞内に存在し、分裂装置の形成・消失はそれらの単体の polymerization, depolymerization であろうとする考えを深いニュアンスをもって玩味できるわけである。

もちろん井上君も紡錘体が小さくなったり大きくなったりする可逆性に対して、紡錘体の構成要素が抜け落ちたり、挿し込まれたりすることを考え、結晶とそれを囲む飽和溶液のような関係を想像しているし、MAZIA はもっと典型的な重合を考えているようである。しかし、要点は井上君にせよ MAZIA にせよ、紡錘体の中に方向の定った物質の transport があるとなると説明は困難になる。朝倉さんは *Salmonella* の鞭毛の再生で、新しい構成要素の付加は細胞外に突きでている鞭毛の先端で起るかも知れないという大変面白いデータをもっておられるけれど、その時でも伝送されるのは単体で重合の生産物の方ではない。

話を再び分裂に戻せば、分裂装置の形成を単体の重合と考えるならば、次のステップとして、その単体は当然前から存在するので、分裂の度ごとに新生され破壊されるのではなからうという議論を許すことになる。ところが、他方に ZBUTHEN の有名な発見である織毛虫 *Tetrahymena* の "division protein" (分裂蛋白) なるものがあって、この蛋白の新合成が分裂に不可欠のことが証明されている。

このために思想的にも実験的にも混乱が生じたのである。例えば、上の二つの考えを単純に併せて実験を計画

すると、まず次のようになる。すなわち、分裂装置の単体がすでにあって、蛋白の新生のないはずのウニの分裂卵にラベルされたアミノ酸をとり込ませ、後で autoradiography によってラベルが分裂装置の中に入るかどうかみて、入らなければ非合成であり、入れば新合成があると議論に決着をつけられよう。STAFFORD and IVERSON (1964) の研究がその例である。確かに彼らのオートグラフでは分離された分裂装置の中に銀粒子がでている。しかし、粒子が分裂装置内のどの構造に付着しているかは決められない程度に漫然としたものである。これをさらに一歩磨いたのが MANGAN *et al.* (1965) の仕事で、郭大を電子顕微鏡のレベルにまで上げたけれど、結果としては統計的にラベルが microtubules に重っている場合が中間にはずれている場合よりも多いという程度であった。

全く違う角度から考えて、新合成・非合成の食い違いは材料のせいで、ウニ卵が生長していない閉鎖系であるのに、*Tetrahymena* は生長しつつある、すなわち流れている系であることの相異によるとする見方もある。しかし、事柄はそう簡単ではない。例が分裂からはずれて再生になるが、原生動物の無核片の再生をみても、*Stentor* では再生は起りにくいが、*Dileptus cygnus* という特別の織毛虫では長く突きでた特徴的な口の再生は核がなくても latent period もなしにいきなりはじまり、その形も分裂中の後半の個体 (opisthe) に口が現われるときと全く変わらない。ただ残念なことは、*Dileptus cygnus* の無核片はアミープやラッパムシの場合と違って、9時間位しか生きないので、再生した口が餌を捕食

本論文は、昭和43年5月18日、日本発生生物学会設立記念講演会（於立教大学）で行なわれた講演の要旨である。
An abstract of a lecture made at the inauguration meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists on May 18th, 1968.

するところまで行くかどうかは分らない (GOLIŃSKA, 1966)。いい換えれば、*Dileptus cygnus* の例では生長系であるにかかわらず、形態形成の材料には予備があって新合成には必ずしも直結していないことになる。GOLIŃSKA は actinomycin D や puromycin を使っていないから、これ以上はいえないが、他の多くの実験結果から類推すれば、材料自身の予備がなくとも、少なくとも stable messenger RNA が存在してもよいであろう。

しかし、一般論に戻って、上述のラベルのとり込みのあるなしでも、transcription, translation のあるなしを論ずるときも、結論の基礎はいつも最終産物の考慮だけでやっている。やや皮肉ない方をすれば、これは形態形成という現象に微生物学の衣裳をまとわしたまでの話である。ところが、形態形成は決して one step で起きるものではなく、途中の道のりが幾段にもわたる現象であろう。そこに形態学の面白ささと面白味がある。

ウニ屋と *Tetrahymena* 屋とは最近多少の歩みよりを見せている。その立場というのは、新しく作られる蛋白に 2 種を考え、一方を "enzymic" なもの、他を "structural" なものとする。もちろんここでいう "enzymic" とは必ずしも酵素を指すのではなく、形態形成の途中に参与する蛋白の意味で、"structural" とは最後の産物ほどの意味である。そこで *Tetrahymena* の場合は初めは分裂蛋白をここでいう enzymic なものとして一筋に進んできたが、最近では段々それが口ないし口に

関係した structural なものかも知れないという具合に議論の重点が移ってきているし (ZEUTHEN, 1964), ウニ卵の方でも structural な蛋白は依然単体として既生であるにせよ、enzymic な蛋白は新生される可能性があると思われ寄ってきている (ELY *et al.*, 1967)。しかし、私はこのような表面的妥協だけではまだ足りないと思う。

仮りに練瓦に相当する monomer が初めからあるとしても、それをつなぎ合わせるセメント物質とか、または重合させるに必要な触媒が新生されねばならないということになれば、どちらの側に入るであろうか？ また接着のための物質の量が非常に少なく済むとなれば、どう考えるべきであろうか？ (GROSS and COUSINEAU, 1963)。目下のところ解答を急ぐには余りに資料が不足しているのが実情であるが、万一にもその必要な物質が隣の細胞から供給されることもあり得るとしたら、これまでの攻め方は全くお手挙げのはずである。しかも、形態形成には誘導だのホルモンだのが介入する例が沢山知られているではないか。

形態形成のように純粋に生物学的問題の解明に生化学だけを使って、他の生物学的要因の助けを借りまいと決心するなら、それは論理の前提を否定する矛盾である。さらにいえば、形態形成の研究者達ではできる限り生化学を知らねばならないことは必須の条件であるが、その条件は生化学さえあれば他は不用という暴言には続かないのである。

3. 細胞接触について

ここで私の話の最後の部分である cell contact について一言したい。細胞接触の研究のなかで最近やかましくいわれてきた点に細胞表面の荷電の問題がある (WEISS, 1965; COLLINS, 1966; BRENT and FORRESTER, 1967)。この種の仕事ではウニ卵の表面の荷電と細胞の粘着性との関係を測った私の仕事 (DAN, 1947) が最初であると思うが、仕事の最中から私はこのような攻め方の限界を感じていた。

したがって、次に行なったウニの cyto-embryology の一連の研究では、contact の別の面を主に考えていった。思えば私の苦悩は、まだ cell contact という概念が提唱される前のことであつたが、去年の L. WEISS の論文 (WEISS and BLUMENSON, 1967) をみると、私の不吉な予感が露呈されているようである。

私の悲観論は1952年に私が CARLSON の所にいってバ

ッタの神経原細胞の技術を習ったときにさらに強められた。神経原細胞はバッタの胚の中にはどこにでもあるが、とくに胸の腹面に多いので、胚の胸部を四角く切りだして、腹面をカバーガラスに向けて培養すれば、外胚葉を透して観察できる。組織内の神経原細胞は metaphase になると、真丸くなって輪郭がハッキリするが、telophase になるや否や、急に周囲の細胞と入り組んだ contact をするため、輪郭が大変とらえにくくなる。神経原細胞が中期に球形になるのは、隣接する細胞との接触が切れるためであることは、胚の片の切り口では、neuroblast が中期にさしかかると懸滴の表面張力だけでひとりで組織から押しだされて断面から顔をのぞかせる。これだけの事実からいえることは、中期に接触が失われるにとどまるが、これが大変印象的であるだけに、telophase になって神経原細胞があわてて隣の細胞にし

がみつくのは、何をやるだめだろうかという疑問も大きいのである。

私は cell contact という考えが叫ばれて以来集った知見を過小評価するつもりは毛頭ない。STEINBERG (1962) の主張するように、細胞に運動性だけを認めれば後は粘着性の差だけで aggregate 内の細胞の配置が説明できることも、また運動性自身に関しても contact inhibition (ABERCROMBIE and AMBROSE, 1958) や contact guidance (WEISS, 1960) などが形態形成の上に重要な要因であることも十分認める。しかし、"cell contact" という言葉の本質はやっぱり細胞が contact して何をやるかにあると思う。

二つの細胞が空間的に離れたままで物をやり取りするのなら、途中でこれを遮って、その物質を調べることは比較的簡単で、ホルモンの研究はその好例である。しかし、接着している細胞間の物の交換はこれを知る方法が今のところほとんどない。

そこで、せめて現在可能な程度は、交換される物質をとらえることは諦め、一步、退いて接触を許したり妨げたりして、結果の違いをみることである。実は在来誘導の研究はすべてこの category に入るわけであるが、はっきりと細胞接触の観点に立ってこの方法の適用が拡がりつつある。

たとえば、モザイク卵の古典的研究では 2 d 割球を除くと、巻貝の貝殻が形成されないという欠損の対応から、2 d 割球が殻の形成者であると一義的に割り切ったのであった。しかし、最近では CLEMENT (1967) や CATHER (1967) の研究にみられるように、2 d と 2 d 以外の割球をいろいろな組み合わせで取り去った結果の差から、2 d に組み合わせられた相手方の割球の細胞接触的役割を分析しようという努力がなされている。

生化学的には培養下の肝臓の細胞でアミラーゼの生産には、上皮細胞と結締組織細胞の共存が不可欠であることを示した KALLMAN and GROBSTEIN (1964) のきれいな報告もあるし、一方ウニでは安増と腰原 (1967) や GIUDICE *et al.* (1967) や PROHL and GIUDICE (1967) の例のように、アミラーゼやアルカリ性フォスファターゼの生産には分離割球を再集合させておくことが必要で、分離したままでは酵素が全く作られないという報告などがある。

細胞間の物質のやり取りに関して私の知る限り一番進んでいるのは LOEWENSTEIN と KANNO の研究で (KANNO and LOEWENSTEIN, 1966; LOEWENSTEIN and KANNO, 1967)。昆虫の唾腺や哺乳類の肝臓ではいくつかの細胞が群にまとめられていて、その群の内では細胞同志が互にイオンを自由に通過させている。いい換えれば、群内の一つの細胞の電位を人為的に変えたと、群の内の他の総ての細胞も同じ電位変動を示すから、いわば細胞同志が短絡されているわけである。そこで、もっと分子量の大きい色素だの蛋白を一つの細胞に注射すると、時間は多少かかるが、同一群内に拡がる。今のところ彼らはこの物質の移動は desmosomes を通して起るであろうと想像している。

これは大変面白い事実には違いないが、この所見の示すところは、一群中の細胞は拡散性物質の同じ濃度を共有していることにとどまるのは残念なことである。したがって、この知見は、昆虫の精巢内で一つの follicle の中の精母細胞や植物の小胞子などのように、同一群内の細胞が同調的に成熟し、分裂してゆく場合に、電子顕微鏡的な原形質橋で連結されているという事実 (ZAMBONI and GONDON, 1968; HASLOP-HARRISON, 1966) と同じ程度の結論であって、私が求めているように定った細胞の組み合わせで一方が主、他が副であって、一方交通的に影響がおよぶような hierarchy のことではない。

私のいいたい要点を再びくり返せば、二つの細胞が接着してからの物の交換を調べる方法は今はない。しかも、細胞接触の立場からはこれは是非なされなければならない重要なことである。けれど、このような難問は各自がその重要性を感じていても、一人一人では手がだせないことも事実である。ここで私は提言したい。在来の学会は飽きるほどいわゆる symposia を開いてきたが、それらの大部分は各自のえた成果を誇り合う展覧会のようなものであったから、ハタリは沢山あったが、将来にいどんでゆく真に予言的迫力をもったものは一つもなかった。今日ここに発生生物学会が発足したのであるから、この新しい会では新しい皮袋の酒なりビールなり、否ココロでも飲みながら未知に向かって夢を語るようなギリシャながらの symposium を時たまもちたいものである。

文 献

ABERCROMBIE, M. and AMBROSE, E. J. (1958) Exp. Cell Res., 15: 332-345.

BAJER, A. (1967) J. Cell Biol., 33: 713-720.

BRENT, T. P. and FORRESTER, J. A. (1967) Nature,

- 215 (5096) : 92-93.
 CARLSON, J. G. (1952) *Chromosoma*, 5 : 199-220.
 CATHER, J. N. (1967) *J. exp. Zool.*, 166 : 205-223.
 CLEMENT, A. C. (1967) *J. exp. Zool.*, 166 : 77-88.
 COLLINS, M. (1966) *J. exp. Zool.*, 163 : 23-37, 39-47.
 DAN, K. (1947) *Biol. Bull.*, 93 : 274-286.
 EILY, G. H., SAKAI, H. and MAZIA, D. (1967) *J. mol. Biol.*, 27 : 1-7.
 FORER, A. (1965) *J. Cell Biol.*, 25, Pt. 2 : 95-117.
 GIUDICE, G., MUTOLO, V. and MOSCONA, A. A. (1967) *Biochim. Biophys. Acta*, 138 : 607-610.
 GOLINSKA, K. (1966) *Acta Protozoologica*, 4 : 41-49.
 GROSS, P. R. and COUSINEAU, G. H. (1963) *J. Cell Biol.*, 19 : 260-265.
 HESLOP-HARRISON, J. (1966) *Endeavour*, 25 : 65-72.
 INOUÉ, S. (1952) *Exp. Cell. Res., Suppl.*, 2 : 305-314.
 INOUÉ, S. (1964) In "Primitive Motile Systems in Cell Biology" : 549-594. Academic Press, N. Y.
 KALLMAN, F. and GROBSTEIN, C. (1964) *J. Cell Biol.*, 20 : 399-413.
 KANNO, Y. and LOEWENSTEIN, W. R. (1966) *Nature*, 212 (5062) : 629-630.
 LOEWENSTEIN, W. R. and KANNO, Y. (1967) *J. Cell Biol.*, 33 : 225-234, 235-242.
 MANGAN, J., MIKI-NOUMURA, T. and GROSS, P. R. (1965) *Science*, 147 (3665) : 1575-1578.
 PROHL, P. J. and GIUDICE, G. (1967) *Biochim. Biophys. Acta*, 142 : 263-266.
 ROTH, L. E. (1967) *J. Cell Biol.*, 34 : 47-59.
 STAFFORD, D. W. and IVERSON, R. M. (1964) *Science*, 143 : 580-581.
 STEINBERG, M. S. (1962) *Proc. nat. Acad. Sci.*, 48 : 1577-1582.
 WEISS, L. (1965) *J. Cell Biol.*, 26 : 735-739.
 WEISS, L. and BLUMENSON, L. E. (1967) *J. Cell Physiol.*, 70 : 23-32.
 WEISS, P. (1960) *Science*, 131 : 1320-1321.
 安増郁夫・腰原英利 (1967) *動雑.*, 76 : 414.
 ZAMBONI, L. and GONDOS, B. (1968) *J. Cell Biol.*, 36 : 276-282.
 ZEUTHEN, E. (1964). In "Synchrony in Cell Division and Growth" : 99-158. Interscience Publ., N. Y.

細菌 べん毛の形成と分化

飯 野 徹 雄

(国立遺伝学研究所 微生物遺伝部)

Tetsuo Ino (Division of Microbial Genetics, National Institute of Genetics, Mishima, Shizuoka) :
 Formation and Differentiation of Bacterial Flagella.

序 言

細菌のべん毛は高等生物のべん毛や繊毛に比べてかなり単純な構造からなり、細胞器官の形成と分化とを分子レベルで解析するには非常に好都合な研究対象である。

本稿ではわれわれが研究しているサルモネラ菌 (*Salmonella*) のべん毛について、特にべん毛成長の問題を中心に現在までに得られている知見を綜説したいと思う。

1. サルモネラ菌べん毛の構造

サルモネラ菌のべん毛は第1図aに見られるような、太さ 120Å, 長さ最高 12μ のらせん状繊維で、細胞膜を貫いて細胞の表面から伸びている。1個の細胞当たりのべん毛数や波型は細菌の系統や環境条件によって異なるが、ネズミチフス菌の野生型では通常の broth 培地中で平均 6~8本のべん毛が細胞表面全体に分布し、各べん毛は波長 2.4μ, 振幅 0.6μ の規則的ならせん型をとっている。

べん毛繊維を超音波振盪やドデシル硫酸ソーダ処理等によって隣タングステン酸でネガティブ染色し、高拡大の電子顕微鏡で観察すると、直径約 45Å のほぼ球状をした単位粒子が規則的に配列して円筒を形造っているのがみとめられる (KERRIDGE *et al.*, 1962; Lowy and HANSON, 1965)。このような電子顕微鏡像から、縦軸に沿って単位粒子が1列に連なった素繊維 8本が、円筒状に配列している構造模型が提出された (Lowy and HANSON, 1965)。この構造模型は近似的には正しいものと思われるが、この模型によって導かれる構造は直線となり、べん毛特有のらせん曲線とはならない。この欠点を補うために、ASAKURA *et al.* (1966) は素繊維の中には、熱力学的に異なった二つの安定状態をとっている単位粒子より成るものがあり、1本のべん毛内でのそれら不等素繊維間の結合によって、単位粒子間に歪力が働き、安定ならせん形態になるという仮説を提出している。

本論文は、昭和43年5月18日、日本発生物学会設立記念講演会 (於立教大学) で行なわれた講演の要旨である。

An abstract of a lecture made at the inauguration meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists on May 18th, 1968.

る。

べん毛の構造については電子顕微鏡による観察に先立って化学的分析が進められ、かなり詳しい知見が得られて来ている。細菌の浮遊液を激しく振盪すると、べん毛は比較的容易に切断して菌体から分離する。分離されたべん毛は遠心分離および硫酸アンモニウムなどによって精製することができる。精製したべん毛繊維を pH 3.5 以下の酸性溶液に入れるか、あるいは適当な塩類の存在下で 60°C で 20~30 分間加熱すると、flagellin と呼ばれる均一な粒状蛋白質に解離する (WEIBULL, 1950; KOPFLER and KOBAYASHI, 1957; KOBAYASHI *et al.*, 1959; ENOMOTO and INO, 1966)。現在までのところべん毛繊維内に flagellin 以外の物質の存在はみとめられておらず、また1種類のべん毛からは通常1種類の flagellin のみが検出される。

1個の flagellin 粒子は蛋白質単量体1分子に相当し、*Salmonella* 属のべん毛を構成する flagellin は分子量 38,000 ないし 40,000 で約 380 個のアミノ酸から成る (AMBLER and REES, 1959; McDONOUGH, 1965)。異なった菌株のべん毛を構成する flagellin の間には含まれるアミノ酸の相対比に違いがみられるが、含硫アミノ酸としては 2~4 個のメチオニンが含まれるに過ぎないこと、トリプトファンを全く欠くこと、アラニンとアスパラギンが特に多く含まれること等はすべての種の flagellin に共通した特長といえる (McDONOUGH, 1965)。

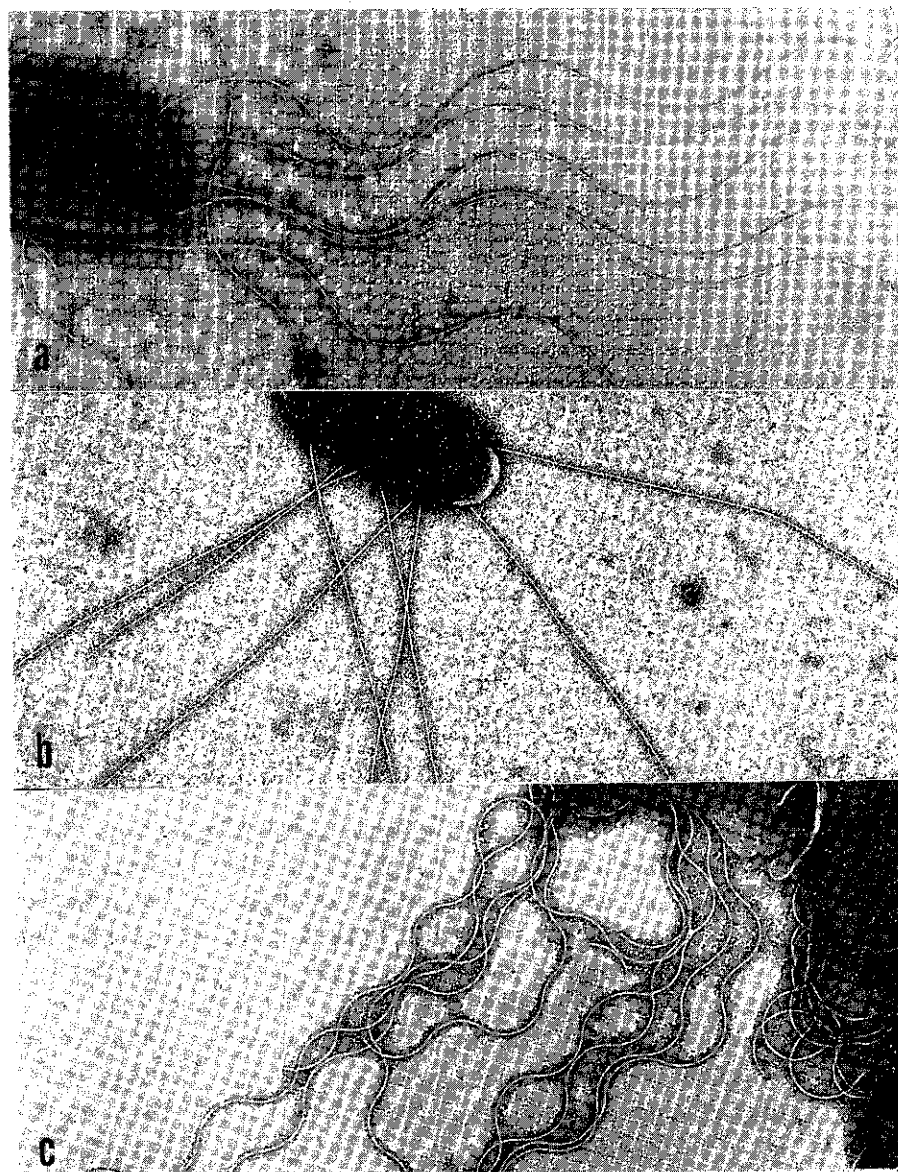
flagellin の分子量の大きさから推定すると、電子顕微鏡によって観察されるべん毛の構成単位粒子は丁度1個の flagellin 分子に相当している。つまり、サルモネラ

菌のべん毛は、flagellin と呼ばれる単一種蛋白質の非常に規則的な重合によってでき上がっているらせん状円筒繊維である。したがって、べん毛の形成はアミノ酸を素

2. flagellin の生合成

これまでに行なわれた遺伝分析の結果を総合すると、flagellin の生合成は、生体内の多くの蛋白合成系について示された場合と同様な遺伝情報の発現過程を経て行な

わると考えられる。つまり flagellin 分子の全アミノ酸配列を決める構造遺伝子の情報を受けた m-RNA をい型として、リボソーム上で flagellin polypeptide が合



第1図 サルモネラ菌のべん毛形態突然変異株の電子顕微鏡写真 リンタングステン酸ネガティブ染色
a: 正常型 b: 直線型 c: 弯曲型

成され、1個の polypeptide が三次構造をとって1個の flagellin 分子を形成する(飯野, 1964)。flagellin の構造遺伝子は *H* と呼ばれ、染色体上で、べん毛合成に関する調節遺伝子群 (*fla*) とともに遺伝子集団を形成している (INO and ENOMOTO, 1966)。flagellin の抗原特性に着目して、異なったアミノ酸組成をもつ flagellin を合成する菌の間で遺伝子導入分析を行なうと、すべてのアミノ酸組成の差がこの遺伝子内の一部の違いによって示される (LEDERBERG and EDWARDS, 1953; McDONOUGH, 1965)。サルモネラ菌では、べん毛の波型が正常型と異なる種々の突然変異株が見出されており、特に著しい型として全く波のない直線型べん毛も得られている(第1図b)、これら突然変異株の遺伝子突然変異分析の結果、形態突然変異のすべてが、構造遺伝子 *H* 内の一部の構造変化によって起こっていることが示された (INO, 1962; INO and MITANI, 1966; INO and MITANI, 1967)。それらのうち、正常型の約半分の波長をもつ curly 突然変異株(第1図c)につい

ては、構成 flagellin をトリブシン分解して得られる35種の peptides のうち、ただ1個だけが正常型と異なっていることも明らかになっている (ENOMOTO and INO, 1966)。

flagellin の生合成を、べん毛の形成の第一段階として考える時、今後の問題として浮きぼりにされてくるのは、“合成された flagellin がどのような機構によってべん毛形成体へ集積されるか”という疑問である。べん毛が形成されるためには細胞内で合成された flagellin が何らかの機構によってべん毛形成体部分に運搬集積されなければならない。これは細胞内の物質運搬機構あるいは構造分化の問題と密接に関連してくる。われわれは flagellin 合成系の調節遺伝子群の分析結果から、“べん毛形成体の一部として flagellin 合成のために特異的に分化したリボソーム系 (flagellosome) が存在している可能性がある”という仮説を提出しているが (INO and LEDERBERG, 1964)、この仮説の当否の判定には、今後さらに直接的な実験データの集積が必要であろう。

3. *in vitro* のべん毛成長

in vitro のべん毛構成については、すでにいくつかの総説で詳しくのべられているので(朝倉, 1965, 1966)、ここではべん毛の成長に関連した問題のみを要約することにする。サルモネラ菌の flagellin は過飽和状態の溶液中でも、通常の生理的塩環境では重合反応を起こさない。しかし、これに音波振盪によって短く切断したべん毛片を加えるとべん毛片を核として flagellin の重合が起りべん毛片の繊維が成長する (ASAKURA *et al.*, 1964)。重合してできた繊維は形態的には全く菌細胞より生じたべん毛繊維と区別がつかない。また、この重合反応は熱力学的に安定化する方向への過程であり、外部からエネルギー源を加える必要がない。重合によるべん毛繊維の成長速度、 $10^{-1} \sim 10^{-2} \mu/\text{min}$ はこれまで報告された *in*

vivo でのべん毛成長速度 (STOCKER and CAMPBELL, 1959) とほぼ一致している。この *in vitro* べん毛成長速度は、成長初期には重合核としてのべん毛片の種類に依存しているがその後は溶液中の flagellin 濃度および、flagellin の種類に依存する。flagellin と、核としてのべん毛片とに抗原特性が互いに全く異なるべん毛より得た試料を用いて再構成を行ない、得られた繊維を特異抗血清と反応させるとべん毛繊維の成長は一方向のみ起っていることがわかる (第2図: ASAKURA *et al.*, 1968)。しかも成長の行なわれる端は菌体から生えているべん毛の先端に相当する。このことは flagellin 分子自身が構造的異方性をもつと同時に、重合によって分子に形態変換が起っていることを示している。

4. *in vivo* のべん毛成長

これまでのべてきた *in vitro* べん毛再構成の現象からもわかるように、べん毛の成長の過程には、“成長の開始”と“伸長”との二つの段階が存在する。*in vitro* では成長の開始は、再構成系に与えられたべん毛片が重合核となることによって誘発される。ところで *in vivo* で菌細胞に新たにべん毛が形成される際には、*in vitro* 系と異なって、既存のべん毛片を重合核とすることなしに重合が開始されるはずである。例えば調節遺伝子 *fla*

の突然変異によって flagellin 合成能力を失った菌が、逆方向への突然変異あるいは野生型 *fla* 遺伝子の導入によってべん毛形成能力を回復する際には、既存のべん毛の末端が重合核となって成長が開始されることは全く考えられない (INO and ENOMOTO, 1966)。したがって、少なくとも *de novo* のべん毛形成に当っては、重合誘発に働く何らかの因子がべん毛の基部に存在していなければならない。われわれはこれを nucleation trigger と



第2図 ベン毛繊維の *in vitro* 再構成の方向性を示す電子顕微鏡写真 1.2 抗原型のベン毛片に i 抗原型の flagellin を加え再構成させた後、抗-1.2 血清で処理したもの

呼んでいる。nucleation trigger は常に flagellin 重合の誘発作用をもつだけでなく、ベン毛の基本構造である規則的な円筒らせん状重合体を形成させるための一種の鋳型としても働いているものと思われる。nucleation trigger は恐らく、ベン毛基部を構成しているホック状体あるいは基部顆粒の一部に相当するものと予想されるがその実体を明らかにするためには、これらベン毛基部構造体を生物学的に活性化状態で分離することが最も必要であろう。

サルモネラ菌では、細胞内に flagellin を合成するにもかかわらず、ベン毛形成の行なわれない突然変異株が見出されている (INO and ENOMOTO, 1966)。ところでこの突然変異株より flagellin を分画し *in vitro* 再構成系に加えると、*in vitro* ではこの flagellin は重合能力をもっている (SUZUKI and INO, 1966)。つまりこの突然変異株は正常な flagellin を合成することはできるが、それを *in vivo* で重合させてベン毛を形成する機構を欠いている。このような突然変異株と野生株との比較分析から、*in vivo* におけるベン毛の成長開始の機構がときほぐされていくことを期待している。

ベン毛の伸長の段階では *in vitro* 系での成長を *in*

vivo でのモデルとみなして矛盾する点は現在までのところ見出されていない。恐らく *in vitro* でと同様な機構によって flagellin の self-assembly がベン毛の端で起っていると考えるとよいであろう。前章でのべたように *in vitro* でのベン毛成長は一方方向的であり、ベン毛の先端に近い切断点でのみ行なわれる。もし *in vitro* での成長機構がそのまま *in vivo* 系に当てはまるものなら、ベン毛の成長は菌体内に埋没したベン毛基部で行なわれるのではなくて、ベン毛の先端で行なわれることになる。事実、われわれはそれを裏書きする実験結果を得ている。フェニールアラニン (Ph) の類似物質であるパラフロ・フェニールアラニン (PFPh) をサルモネラ菌の生育培地に与えると、Ph の代りに flagellin 中にとり込まれる。ところで、正常型 flagellin に PFPh がとり込まれると、flagellin の立体構造が変わり、重合して curly 型ベン毛を生ずることが知られている (KERRIDGE, 1959, 1960)。この現象を利用して、正常型ベン毛を形成しつつある菌を PFPh を含む培地に移し短時間培養した後、直ちに固定染色し観察すると、curly 型の波型のベン毛繊維上の分布から、ベン毛の伸長がどの部分で起っているかを判定することができる。実験の結果

curly 型はすべてベン毛の先端側のみあらわれることが確かめられた。この場合、*in vitro* 系と異なって特長的なのは curly 波数から推定される成長速度が、ベン毛の基部から離れるに従って減速し、ほぼ平均 12μ の長さに達すると 0 となる点である。*in vivo* のベン毛の伸長がこうにしてベン毛の先端で行なわれるとすると、ベン毛が成長するためには、まず flagellin 分子が細胞内からベン毛先端にまで運搬されなければならない。重合に必要な flagellin の濃度から推定すると、細胞内で合成された flagellin が一旦培養液中に放出された後にベン毛先端に重合する可能性は除外して良いだろう。

文 献

- AMBLER, R. P. and REES, M. W. (1959) *Nature*, 184 : 56-57.
 朝倉 昌 (1965) 科学, 35 : 531-536.
 朝倉 昌 (1966) 生化学, 38 : 797-807.
 ASAKURA, S., EGUCHI, G. and INO, T. (1964) *J. Mol. Biol.*, 10 : 42-56.
 ASAKURA, S., EGUCHI, G. and INO, T. (1966) *J. Mol. Biol.*, 16 : 302-316.
 ASAKURA, S., EGUCHI, G. and INO, T. (1968) *J. Mol. Biol.*, 35 : 227-236.
 ENOMOTO, M. and INO, T. (1966) *Jap. J. Genetics*, 41 : 131-139.
 INO, T. (1962) *J. Gen. Microbiol.*, 21 : 167-175.
 飯野徹雄 (1964) 遺殖, 39 : 313-335.
 INO, T. and MITANI, M. (1966) *J. Gen. Microbiol.*, 44 : 27-40.
 INO, T. and MITANI, M. (1967) *J. Gen. Microbiol.*, 49 : 81-88.
 KERRIDGE, D. (1959) *Biochim. Biophys. Acta*, 31 : 579-581.
 KERRIDGE, D. (1960) *J. Gen. Microbiol.*, 33 : 519-538.
 KERRIDGE, D., HORNE, R. W. and GLAUERT, A. M. (1962) *J. Gen. Microbiol.*, 4 : 227-238.
 KOBAYASGI, T., RINKER, T. N. and KOFFLER, H. (1959) *Arch. Biochem. Biophys.*, 84 : 342-361.
 KOFFLER, H. and KOBAYASHI, T. (1957) *Arch. Biochem. Biophys.*, 67 : 246-248.
 LEDERBERG, J. and EDWARDS, P. R. (1953) *J. Immunol.*, 71 : 232-240.
 LOWY, J. and HANSON, J. (1965) *J. Mol. Biol.*, 11 : 293-313.
 McDONOUGH, M. W. (1965) *J. Mol. Biol.*, 12 : 342-355.
 STOCKER, B. A. D. and CAMPBELL, J. C. (1959) *J. Gen. Microbiol.*, 20 : 670.
 SUZUKI, H. and INO, T. (1966) *Biochim. Biophys. Acta*, 124 : 212-215.
 WEIBULL, C. (1950) *Acta Chemica. Scand.*, 4 : 268-276.

植物の発生

古 谷 雅 樹

(東京大学 理学部 植物学教室)

Masaki FURUYA (Botany Department, Faculty of Science, University of Tokyo, Tokyo):
Plant Morphogenesis.

1. はじめに

私の世代が大学で専攻分野をえらんだのは第二次世界大戦の終ってしばらくした頃であったが、当時「植物発生学」を看板にした講座は全国に一つもなかった。また、その後、日本には新しい大学が沢山誕生し、生物学を志す者の人口は桁違いに増大したにもかかわらず、「植物発生学」を看板にした研究室の数は相変わらずきわめて少ない。つぎの世代を背おう人々を教育するはずの大学が、この有様であるから、当然「私は植物発生学者です。」と称する人間もこの国では限られてくる。したがって、発生生物学の設立記念講演というような晴れがましい席で、他の領域の方々に前にして「植物の発生」を堂々と論ずる資格は私にはないように思う。

2. 植物の個体発生にみられる特徴

たしかに動物の場合、その初期発生の過程において人をトリコにして離さないほど神秘的な現象が見られる(遠藤ら, 1966)のに対して、植物の発生過程は変化に乏しく、退屈でさえある。一方、近代の生化学と遺伝学は、細胞の分化や生理的令などにあまりわずらわされずに均一な材料が大量に得られる微生物の特徴を最大に生かして、すばらしい発展をとげた。それならば植物にも発生学の研究において何か他の生物にないようなすぐれた特性がないものであろうか。

すでに SINNOTT (1960) や太田 (1966) が指摘した点を含めて、われわれは植物がもつ発生の研究材料として他にない有利な特性をすぐに幾つかあげることができる。その第1は発生・分化という動的な過程を生長点の

しかし、植物自体はこのような人間側の事情とは全く関係なく『発生』を行なっており、太古以来その生命を維持し栄えてきた訳であるし、一方、表看板にはあげないにせよ、実際には多くの植物生理学者や形態学者が『発生』を一つの基盤にして研究を進めてきたのは事実であって、その成果はむしろ近年めざましいものがある。この意味から、このたび発生生物学が日本にも新しく誕生し、動・植・微生物という研究材料のちがいを越えて、発生生物学に関心をもつ人たちが一堂に会することができるようになったことは私ども植物における発生機構を追求しようとする者にとっても大きな喜びであり、今後の発展を心から期待するものである。

つくりだす軸性体制上に空間的に一見静止したかたちでとらえられること、第2は近代生物学では遺伝的に均一な研究試料を用いることが強く要請されるが、植物では一つの個体のうえに生長点が同時に多数胚発生をくりかえすので、同一な遺伝的構成をもつ細胞からなる試料を大量にいつでも得られること、第3は植物の発生・分化が遺伝子から発せられる命令のみによって制御されるのではなく、環境の物理的・化学的变化を信号として利用して発生・分化の道すじの運命づけを行なっていることなどがまず指摘される。もちろん、このほかにも沢山の特性をあげることができるが、本文では上記の3点にきざって、もう少し詳しく考えてみることにしたい。

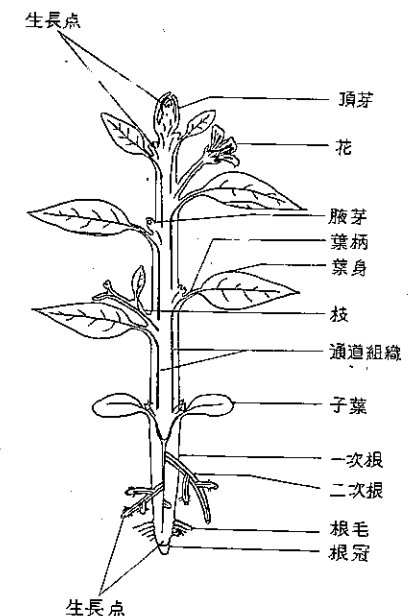
3. 生 長 点

上に述べた植物の発生における第1と第2の特性は生長点の存在に由来するので、まず生長点について述べよう。植物の生活環では、単相世代の個体発生が胞子、複相世代の個体発生が精子と卵細胞の合体した接合子から始まる。胞子や接合子は発生学的には全能 (totipotent) であって、細胞を増殖してすべての組織や器官をつくり出して発生の過程を進める能力をそなえている。下等な藻類や菌類では生活環に現れる全細胞が全能な胚的能力を示す場合も知られているが、発生様式の進んだ植物になると胚発生のごく初期にかぎって個体の全構成細胞が分裂可能であるが、やがて胚に分化がおこり、一部の細胞(群)を除き細胞分裂は行なわれなくなる。種子植物では、いつまでも細胞増殖の能力を維持する胚的細胞(群)はふつう発生軸の両端、つまり茎と根の先端付近に現われる。茎端に存在する分裂組織(茎の生長点)は葉と茎さらに花を創り出し、根端に存在する分裂組織(根の生長点)は根と根冠をつくりだす。生長が進むと、葉腋から新しい芽の生長点を外生的に分化し、根の内輪から新しい根の生長点を内生的に分化する。新しく二次的に生れた生長点は胚の生長点と全く同じ様式で発生を行ない、個体の生長がつづく限り無数の生長点が誕生し発生をくりかえす(第1図)。

生長点自身は光合成を行なってエネルギーを獲得することはしない。新しい細胞を増殖するために必要なエネルギーと素材物質は、外界または既在の相対的に老いた細胞から生長点に送りこまれる。物質代謝の立場からいえば、周囲から生合成に必要な物質とエネルギーをとり

こむ力が強い細胞(群)が生長点といえよう。何故、生長点の細胞はそうにも物質を集約的に引きよせることができるのか、また相対的に老いた細胞がその供給を行なうのか、その機構については現在全く明かでない。

植物の生長点は、したがって栄養生長をつづける限り原理的に無限生長が可能である。しかし、ひとたび花芽に分化した生長点はそこで生長を終えて、次の世代に胚的能力を伝達する。



第1図 双子葉植物の典型的体制 (FULLER and TIFFO, 1949)

4. 軸性生長と細胞壁の存在

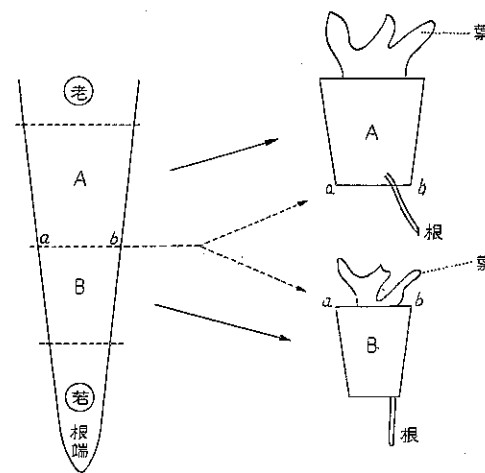
上述の生長点の分化とその機能にもとづく植物の基本的発生様式は、植物細胞に細胞壁が存在することに負うところが大きい。植物細胞は動物細胞とちがってつねに炭水化物の微結晶を主成分とした細胞壁という堅固な構造にとりかこまれている。したがって植物細胞のかたちはアメーバのように自由に変えられるし、細胞が集まって組織をつくる時相互の空間的配置は動物のように変わることができないし、ひとたび生じた細胞壁はその細胞の生死にかかわらず永遠に残存する。この故に植物の体制は細胞のレベルでも個体のレベルでも、細胞壁の形態によって決定される。厚い細胞壁に囲まれた植物細胞はもちろん初期発生において動物のような形態形成運動を行なわない。生長点で生産される新しい細胞は、あ

たかもレンガを積み上げた建築とおなじ仕組みで、つぎつぎに積み重ねられて形態形成が進む。このさい、新しく細胞を増殖する若い細胞はつねに一つの方向に向かって既存の相対的に老いた細胞群の上に積み重ねられてゆくため、植物体は一つの軸をもつ体制になる(第1図)。もし胞子や接合子から由来する細胞がすべての方向に等しく一様に生長したばあい当然その植物体は球状になるはずであるが、実際にはそのような体制の植物は知られておらず、つねに軸性生長がみとめられる。阿寒湖のマリモは外形が球状を呈するので有名であるが、実は軸性生長に由来する糸状体とその構成ユニットとして形成されており、何ら他の植物と基本的に変るところはない。

発生や分化の過程はしばしば細胞間における相互作用

によって制御されている。それでは植物のように厚い細胞壁でそれぞれの細胞が仕切られているばあい、どうなっているのだろうか。植物細胞が分裂を行なって2細胞に分かれるとき、多くの原形質連絡を残して隔壁が形成されるので、機能的には動物細胞とそれほど変わらない原形質連絡を通した相関が存在する。たとえば、モエジマンダの胞子は発芽したのち先端の細胞のみが同一方向へ分裂と伸長生長をくりかえす結果、細胞が1列にならんだ線型の体制を生ずるが、もしこの原系体を高い浸透圧の溶液につけるか、超遠心分離機にかけるか、機械的に各細胞を切って分断するかして頂端細胞からの原形質連絡を断つと、生長を止めていた基部の各細胞はいずれも細胞分裂を行なって生長を始め、分岐したそれぞれが再び先端生長をみせるので、原系体の頂端優性 (Apical dominance) は明かに原形質連絡を通じてなり立っている (OTAKI and FURUYA, 1968)。

軸性生長を行なったばあい、発生軸の両端では当然いもちろしい相違が構造的にも機能的にも生ずる。ある生理的な性質や活性が頂端から基部に向って、あるいはその逆の方向に、「方向性をもったがい」を軸にそってみせるとき、極性が存在するという。植物にみられる極性は、たとえば磁石の存在のもとに生ずる磁場の両極のように外部から与えられた要因によって生じたものなのか、それとも遺伝的に内部から定まったものなのか、現在のところ全く明かでない。第2図はタンポポの根を切片



第2図 タンポポの根切片にみられる葉と根の再生 (WARMKE and WARMKE, 1950)

にしたばあいの再生をしめすが、切断前には全く差のなかったab面の細胞は基部側の切片Aのab面からはつねに根を再生するのに対して、根端寄りの切片Bのab面からはつねに葉を再生する。このさい切片Aと切片Bは横むきに寝かせておいても、逆立ちさせておいても再生のパターンは全くその影響をうけないで、つねに発生軸の方向によって定まった相対的な位置のみが決定的な役割をしているようにみえる。

5. 複雑な生活環

多くの動物、ことに高等な動物、では個体発生は全数世代 (複相世代) でもっぱら認められ、半数世代 (単相世代) は減数分裂の結果生じた精子と卵細胞としてのみ存在する。つまり生活環の重心が極端に全数世代に傾いているといえる。これに対して植物界では、特に藻類や菌類で顕らかなとおり、個体発生は単相・複相両世代でおこなわれる。そして、単相の胞子に由来する半数の個体と複相の接合子に由来する全数の個体がほとんど同じような形態に発達するアオノリやアオサのような例もあれば、外見全く異なる形のため胞子体と配偶子体が長いあいだ別な種と見做されていた *Cutleria-Aglaozonia* のようなばあいもある。つまり、形態形成の発現機構と染色体数の倍加による遺伝子作用の問題を研究するのに恰好な材料となる。従来、このような見地から単相と複相の発生・分化を比較研究した例はごく少いが、遺伝学と発生生物学の合流点として注目すべきである。

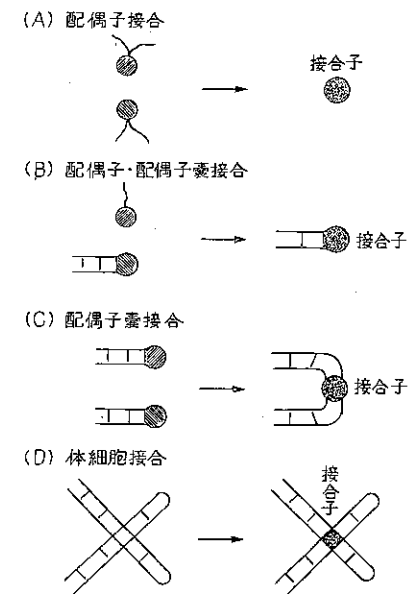
植物は前節で述べたとおり、生活環に現われるほとん

どすべての細胞が厚い堅固な細胞壁にとりかこまれた生活相にある。しかし、生活環を詳しく調べてみると多くの植物が細胞壁に包まれない細胞を生成していることがわかる。本来、微生物の生活環では厚い細胞壁で囲まれた細胞は不適当な環境をしのぐさいに形成される休眠型であって、その物質代謝は最少限にとどめられている。しかし、植物における進化の主流は細胞が厚い細胞壁を原形質の周囲に分化したのちも高い代謝活性を維持し、さらに細胞壁をもつ細胞どうしが有機的な連絡を保ちながら生長や生殖を続ける方式の確立にあったようにみえる (前川, 1949)。そして、胞子体も配偶子体も細胞壁をもつ細胞からなるが、この半数・全数両世代のあいだの橋わたしは必ず単一の細胞によって行なわれ、この細胞は植物界でもしばしば細胞壁をもたない他の生活相をしめす。すなわち動物や微生物でよくふつうな「外界との境界面が流動性に富み自由に變形し移動しうるアメーバ状細胞」や「鞭毛や纖毛を分化して游泳する細胞」が

そこに現われる。現在のところ、細菌類と藍藻類では全生活史を通じて細胞壁をもつ細胞のみが見出されるが、二毛菌類・ミドリムシ類・真菌類・褐藻類・緑藻類では鞭毛をもって水中を游泳する細胞が知られているし、紅藻類や變形菌類ではアメーバ状の細胞が見出される。

また、二つの単相細胞が合一して複相の接合子をつくるばあい、その接合の様式は植物の種によって実にさまざまであって、接合にあずかる単相の生殖細胞つまり配偶子が二つとも水中を自由に游泳して来て合一するばあい (第3図, A), その一方のみが游泳して、それが運動性をもたない細胞と接合するばあい (第3図, B), 両者とも游泳しない細胞どうしのばあい (第3図, C) などが知られている。このようにふつうは接合が生殖細胞に分化した特別な細胞のあいだで行なわれるが、接合藻類や担子菌類では栄養生活をしている二つの体細胞のあいだで原形質と核の合一が行なわれる (第3図, D)。また、これらの各接合様式において、それぞれホモタリズムとヘテロタリズムが知られている。

このように性の機構は植物界においては、生殖細胞の分化の過程、生殖器官の発達の数合い、接合様式などについて、いずれも一律に扱うことができないほど複雑であるが、これはむしろ進化のあいだに現われたさまざまな現象が現在まで生活環の中に伝えられたものと考えられるので、この解析が進化の道すじをたぐるとぐちになると思われる。また、性の分化は生活環のなかで、将



第3図 植物における接合の様式
□, 栄養細胞; ●, 生殖細胞

来発現する性が遺伝的にあらかじめ決定されているだけでなく、その分化がその個体を実現するためには正常な発育に必要な代謝のうらづけと、それを支持する環境条件によって制御されていることは、発生生理学的にもきわめて興味深い事柄である。

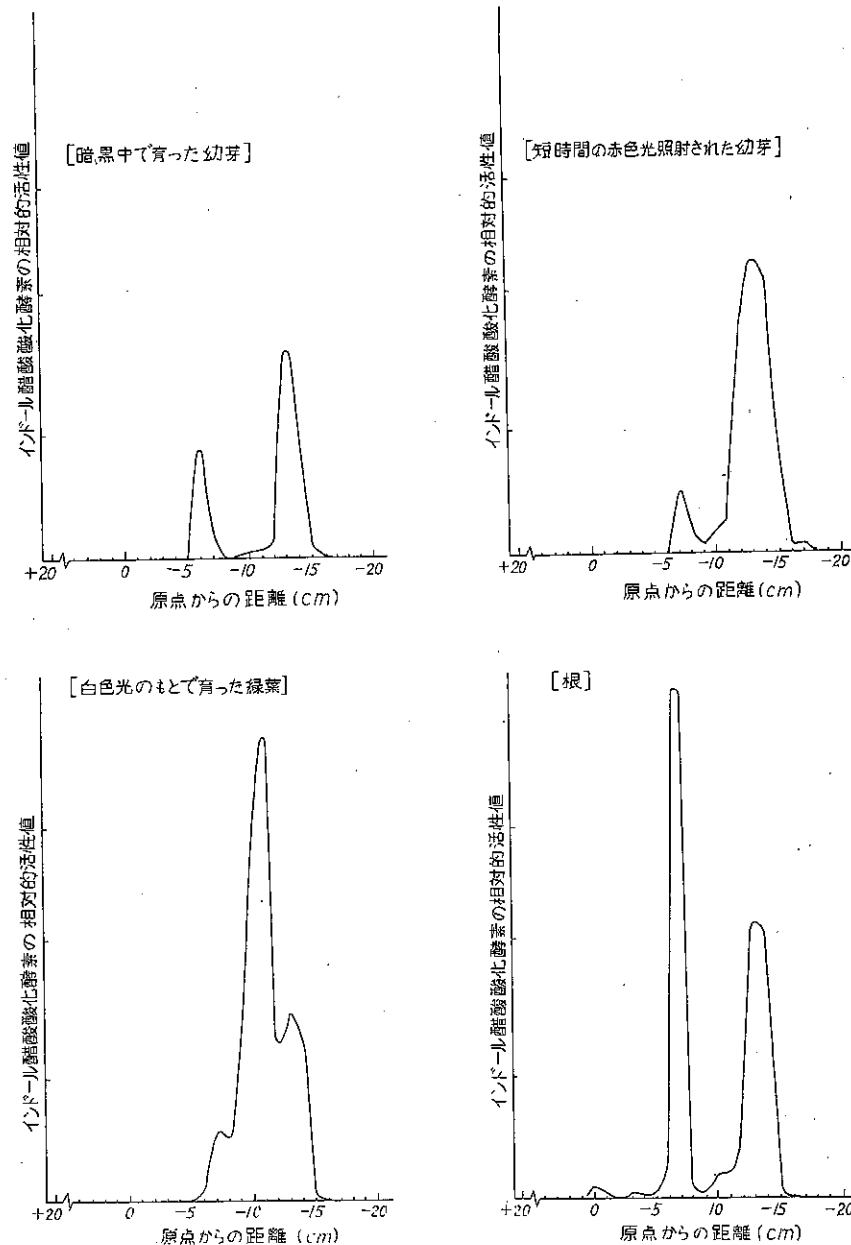
6. 個体発生における環境制御の重要性

生物が表わすそれぞれの形質は遺伝子から発せられる命令によって制御される。その仕組みは最近の分子遺伝学の発達によって、かなりよく判ってきた。発生や分化の過程はもちろん遺伝子による制御に負うところが大きい。動物の初期発生たとえばイモリやウエの発生は明所でも暗所でも差が認められないとされているので、環境因子としての光はその発生の過程に影響をもたないといえる。しかし、植物では菌類・藻類から高等植物にいたるまで、発生・分化の過程が光、温度、pH、その他の環境の物理的要因、あるいは外界からの物質供給のような化学的要因によって、いちじるしい影響をうける。つまり植物の発生過程は遺伝子 (DNA) から発せられる命令のみによって制御せられるのではないということは非常に興味深い事柄である。

植物の発生の基本過程である「休眠に入る機構と休眠が解除される機構」、「細胞の分裂・増殖」、「生長 (容積増大)」、「分化」がおこるか否かという決定は、いずれ

も光と温度の条件に依存するところがきわめて大きい (古谷ら, 1967)。光と発生・分化の関係についてはすでに綜説を私自身書いた (FURUYA, 1968) ので、ここには述べないが、このことは植物を用いて研究するばあい、その試料の選択によほどの慎重さを要求する。たとえば、植物生長ホルモンであるインドール酢酸の酸化酵素のアイソザイムをしらべてみると、根・茎・葉という器官によって明かな相違がみられるが、葉にかぎってみても完全暗黒中で育ったばあい、数分間の弱い赤色光を受けたばあい、強い白色連続光のもとで育ったばあいと顕著な差が生ずるので (第4図)、つねに植物が置かれていた環境条件を考慮しないかぎり再現性は失われる。また、植物における形態形成の遺伝的制御をしらべようとするには、まず植物を人工的に制御された条件のもとで育て、環境にもとづく変異をできるだけ少なくしなければならぬ。

一方、おなじじ外的刺激をうけても植物の反応はつねに



第4図 アラスカエンドウの葉と根の組織から抽出したインドール酢酸酸化酵素の活性を電気泳動で分離した区画についての測定 (FURUYA, 1962)

おなじではない。よく知られているとおり、多くの植物は一定の発育をとげたあとでないと、つまりある令に達した後でないと、いくら環境条件が良くても花芽は分化しない。また、光周処理による花芽分化の誘導にさいして、暗期の光中断を行なう時期によって全く植物の反応がちがうことから、植物は体内に時計を備えて自らの時刻によって生活を律していることが判る (遠藤ら, 1966)。これらの例からも示されるように、植物は動物

におとらず自らを内的に制御する機構を遺伝的にそなえている。そして、実際に発生や分化の実現には、令や生体時計のような自らに内在する機構から発せられる信号と、環境に由来するごく僅かな物理的・化学的エネルギーを「引き金」に利用して、生体内でそれを増幅して信号とし、自らの運命を決めてゆくような機構とが、互に織りなして生命を維持してゆく精巧なしくみは驚くほどである。

7. 要 約

日本発生生物学会設立総会の記念講演として、植物の発生にみられる次の特徴について論議した。1. 生長点の存在, 2. 細胞壁のもつ形態形成に対する意義と軸性

生長との関係, 3. 生活環の多様性, 4. 個体発生の過程に対する環境による制御機構の重要性。

文 献

- 遠藤・岡田・太田・古谷 (1966) : 「発生と分化」, 現代の生物学, 4. 岩波書店.
 FURUYA, M. (1962) Ph. D. Thesis, Yale University.
 FURUYA, M. (1968) Progress in phytochemistry, 1; 347-405. John Wiley & Sons, London.
 古谷雅樹・伊藤道夫・菅井道三 (1967) 実形誌, 21: 398-408.
 前川文夫 (1953) 植物研究雑誌, 28: 105-112.

- 太田行人 (1966) 発生学の発展方向をめぐって. 蛋白質核酸酵素, 11 (11): 1113-1138.
 OTAKI, T. and FURUYA, M. (1968) Embryologia, 10 (3) in press.
 SINNOTT, E. W. (1960) Plant Morphogenesis, McGraw-Hill, New York.

動・植物学会合同シンポジウム「細胞分化の基礎過程」講演要旨

(P.19~34)

発生物学会の母体の一つであった実験形態学会は、毎年動物学会大会開催時に、実験形態学シンポジウムを開くことをならわしとしてきた。たまたま、昭和42年度動物学会大会は京都で、植物学会大会は神戸で、ほとんど時を同じくして開催されることになった。この機会に、動・植合同の発生物学関係のシンポジウムをもつ機運が生まれた。そして、シンポジウム「細胞分化の基礎過程」が企画され、昭和42年10月15日、京都大学工学部において、下記四題の講演が行なわれた。山名清隆・

塩川光一郎・和田薫：カエル胚リボソーム RNA 合成の調節因子、安増郁夫・腰原英利：ウニ初期胚の蛋白核酸合成、柳島直彦：植物ホルモンの作用と細胞分化、伊藤道夫：体細胞分裂と減数分裂の制御。

安増・腰原氏、伊藤氏には、それぞれの御都合により、原稿を頂くことができなかったが、山名、柳島両氏の論文と、あわせて開会の辞を述べられた岡田節人氏の一言をかかげて記録とする。

は じ め に

岡 田 節 人

(京都大学 理学部 動物学教室)

「発生」という現象を考える場合、観念的には動物、植物に共通な一般性を追求する必要が存在するとしても、実際の研究、解析にあたって、一般性を強く念頭におく必要性はあまり認められないのではないだろうか？むしろ、動物、植物、あるいは単一の生物種を取扱った個別的な研究が、かえて発生学の解析に、より積極的な意義をもつことが、過去の発生物学の歴史のなかにみられるところである。ところが発生の現象の一側面である「分化」という点についていうと、情勢は著しく異なっているといえる。分化というのは、いわば細胞の、いろいろな様式での、またいろいろな属性においての特異化の問題である。特異化がどのような様式で起ころうともこれは細胞における特定の分子の新しい合成の開始、合成量の調節、維持、あるいは数種以上の分子の相互作用を基礎としていることは自明である。細胞の特徴、形質というものが、DNA によってコントロールされている、という結論が、動物、植物をとわず共通していることを当然として受けとっているとするれば、上述のような分化の基礎過程を論ずる場合に動物、植物の差は克服さ

れるべきものでなければならない。

アメリカ発生（生物）学会の主幹する Growth Symposium においては20年以上も前の発足の当初から動物学者、植物学者双方の参加をならわしとしてきた。このようなならわしが、最近に至って、発生（あるいは分化）の研究の近代化を推進し、あるいは近代化の要求に即応できるためのよき体制であったといえよう。わが国における情勢は現在まで、これとは非常に異なったものであった。動物学の発生学者は、植物学における「発生の」研究に積極的に興味を抱く必然もなかったし、そのような気運もなかった（逆もある程度真であろう）。しかし、現在の発生物学の大きな課題の一つが、分化の基礎機構の追求にあることはいうまでもなく、このような課題においては動物、植物をこえた生物における分化の一般原理の解明こそ指向するところである。多少おくれればながらせめてこのような情勢にこたえるべく、動物学、植物学合同で、本シンポジウムは企画された。この試みが、今回限りで終ることなく、なんらかの形で今後の体制を確立する緒となることこそ期待される。

カエル胚リボソーム RNA 合成の調節因子

山 名 清 隆・塩 川 光 一 郎・和 田 薫

(九州大学 理学部 生物学教室)

Kiyotaka YAMANA, Kōichirō SHIOKAWA and Kaoru WADA (Department of Biology, Faculty of Science, Kyushu University, Fukuoka): A Factor Involved in the Regulation of Ribosomal RNA Synthesis in Frog Embryos.

Abstract.....In has been well established that in *Xenopus laevis* embryos the synthesis of RNA species occurs in a sequential way during the early development: soluble and messenger RNA are synthesized throughout early developmental periods, while ribosomal RNA synthesis begins only after gastrulation. Furthermore, involvement of cytoplasm in such a regulation of ribosomal RNA synthesis has already been suggested by the nuclear transplantation experiments.

In our investigations using isolated cells derived from blastulae and tailbud embryos of *Xenopus laevis* or their culture medium, it has been shown that blastulae contain a cytoplasmic factor that specifically inhibits the synthesis of ribosomal RNA. This inhibitor is released in an active form in the culture medium.

The inhibitor has been characterized to some extent: it is heat-stable and dialyzable, and it contains nucleic acid bases and phosphorus. Further characterization is now in progress.

A discussion has been given of the possibility that this factor plays a role in the regulation of ribosomal RNA synthesis during early development and the possible mechanism by which ribosomal RNA synthesis is regulated by this factor (Received 7 July 1968).

分化の機構を解明するにあたって、最も重要な課題の一つは、疑いもなく、遺伝子活性の調節機構の理解である。すなわち、分化は無数にちかひ遺伝子の、厳密にプログラムされた repression と derepression の連続の産物である。そして、実験発生学者は古く核と細胞質の関係という形でこの課題に関心をもち、ますます多くの研究者が最近この問題に取り組んでいる。

現在、この遺伝子活性の調節を研究している学者の多数は、バクテリアやファージに感染したバクテリアを材料として、メッセンジャー RNA (mRNA) あるいはタンパクの合成をとおしてこの問題を解析している。実際、これまで高等動物の細胞を対象として遺伝子活性の調節を研究することは、その材料のもつ複雑さから、非常に困難であるか、すくなくとも不可能に近いといわれてきた。しかし最近、主として BROWN とその共同研究者たち (BROWN and LITINA, 1964a, b) による *Xenopus laevis* におけるリボソーム RNA (rRNA) 合成の調

しい研究成果のおかげで、高等動物の細胞における遺伝子活性の調節機構が豊かなみりの期待できる研究対象として取り上げられるようになった。しかも、それは mRNA やタンパク合成の調節をとおしての解析ではなく、rRNA 合成の調節をとおしてのそれである点に特徴がある。

遺伝子活性の調節を研究する際、一般に、その対象となりうるものにタンパク、mRNA および rRNA がある。タンパクは mRNA のほん訳の産物で、したがって、その合成は転写のときの調節の他に、ほん訳の段階でも調節を受ける。このことから、タンパクは遺伝子活性の直接の指標としては最適であるとはいえない。mRNA は、rRNA とおなじく、遺伝子の直接の産物であるが、すくなくとも現状では、ある特定の遺伝子に由来する mRNA を分離抽出することは困難である。ところで、rRNA はそれ自身が遺伝子の直接の、しかも最終の産物であって、その上かなり容易に、純粋に抽出す

ることができる。これらの点からみて、遺伝子の活性調節の研究において、rRNA をその指標とすることは賢明なやり方であるといえよう。

ところで、BROWN and LITINA (1964a, b) によって明らかにされた事実は rRNA (あるいはリボソーム) は卵形成期に多量に合成され蓄積されて、受精にひきついておこる活発な細胞分裂 (ただし胚の成長はともなわない) の時期にはその合成は認められず、のう胚期に入ってはじめて合成がおこり、その後の胚の成長とともに急速に活発になっていくということである。その後、このような rRNA 合成の発生過程における調節は、*X. laevis* に限ってみられる特殊な現象ではなく、かなり普遍的な現象であることが知られた。

それでは、この rRNA 遺伝子の活性はどのようにして調節されているのであろうか (ここでは受精以降の調節だけを問題にする)。すなわち、のう胚期以前でその活性が抑制され、その後で抑制が除かれる機構は一体どのようなになっているのであろうか。

ところで *X. laevis* 胚の発生過程にみられる rRNA 合成の調節に、細胞質因子が関与している可能性が、GURDON and BROWN (1965) によって指摘された。かれ

らは rRNA 合成をおこなっているオタマジャクシの小腸上皮の細胞から核を取り出し、あらかじめ X 線を照射しておいた成熟未受精卵に移植した。この核移植を受けた卵は正常に卵割をおこない発生していく。しかし、rRNA 合成についてみると、未受精卵に移植される前は活発な rRNA 合成に従事していた核が、移植後その合成を停止し、卵割期の間合成はおこなわない。そして、正常胚が合成を開始する時期になってはじめて核移植胚の rRNA 合成がおこる。このような観察は rRNA 合成の調節が、明らかに、細胞質によっておこなわれている可能性を示唆している。

この GURDON and BROWN (1965) の研究は、もちろん、画期的なものではあるが、そこで推測される細胞質要因の本体および作用機作の研究にとっては、核移植胚は決して適当な実験系であるとはいえない。ところで、われわれは胚の単離細胞の RNA 合成を研究していたが、(YAMANA and SHIOKAWA, 1966a; SHIOKAWA and YAMANA, 1967a) この単離細胞系が細胞質因子の研究に適していることを見出した。以下に述べる実験結果はすべてこの単離細胞系を使ってえられたものである。

1. リボソーム RNA 合成阻害因子の存在

上に述べたことから明かなように、胞胚では主として sRNA 合成がおこなわれており、認められるほどの量の rRNA は合成されていない。尾芽胚では、しかしながら、sRNA 合成のほか、盛んな rRNA 合成がみられ、合成される RNA の 70~80% を占めるようになる。

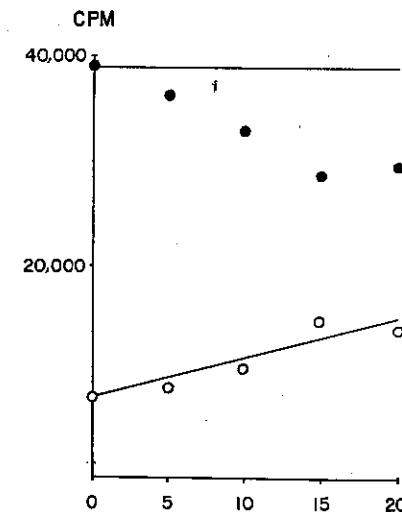
ところで、胞胚および尾芽胚 (それぞれ stage 8 および 23~24) (NIEUWKOOP and FABER, 1956) のゼリー層をチオグリコール酸ソーダで溶かし、 Mg^{2+} と Ca^{2+} をふくまない STEARNS 溶液 (STEARNS and KOSTELLOW, 1958) の中で単離細胞に解離する。えられた単離細胞は Mg^{2+} と Ca^{2+} 、およびアルブミンをふくむ STEARNS 溶液の中で培養する。このような培養条件で、単離細胞は aggregate を形成しながら、正常な細胞内の構造変化 (例えば核仁の出現) をたどっていく (SAMESHIMA *et al.*, 1968)。合成される RNA 量を測定するために、例えば H^3 -ウリジンを加えておく。この研究では rRNA を目的としているので、ラベルは 5 時間という比較的長い時間おこなった。その後、単離細胞を洗い、酢酸緩衝液 (pH 5) に懸濁してフェノール (ドデシル硫酸ソーダ

およびベントナイトをふくむ) で処理して RNA を抽出する。これらの条件は rRNA のラベルと抽出に適したものである。抽出した RNA はメチル化アルブミン (MAK) カラム、あるいは蔗糖密度勾配遠心法を採用して分画する。各 RNA 分画の UV 吸収および放射能を測定し、rRNA の全放射能量を求めて合成量を示す値とする。

こうして胞胚からえられた単離細胞 (胞胚細胞) と尾芽胚からのそれ (尾芽胚細胞) における RNA 合成をみると、前者では sRNA 合成が、後者では rRNA はもとより、非常に活発な rRNA 合成がおこなっていることが確かめられる (YAMANA and SHIOKAWA, 1966a; SHIOKAWA and YAMANA, 1967a)。したがって、RNA 合成のパターンは胞胚と胞胚細胞、および尾芽胚と尾芽胚細胞の間では同一であって、単離細胞に解離しても変わらないという結論がえられる。

ところで、rRNA 合成を特異的に阻害する因子の存在がこの系で示された最初の実験は、胞胚細胞と尾芽胚細胞とを混合培養して、RNA 合成パターンの変化の有無をしらべることを目的としたものであった (YAMANA

and SHIOKAWA, 1966b; SHIOKAWA and YAMANA, 1967b)。一定数の胞胚から単離細胞を調整し、それに尾芽胚細胞の量を次第に多くしながら加えていき、それらの sRNA と rRNA 合成を測定した。また逆に、一定量の尾芽胚細胞の培養に、胞胚細胞の量を次第に多くして加えていく実験をおこなった。結果は、もちろん、本質的に全く同一であった。第 1 図は後者のタイプの実験結果であっ

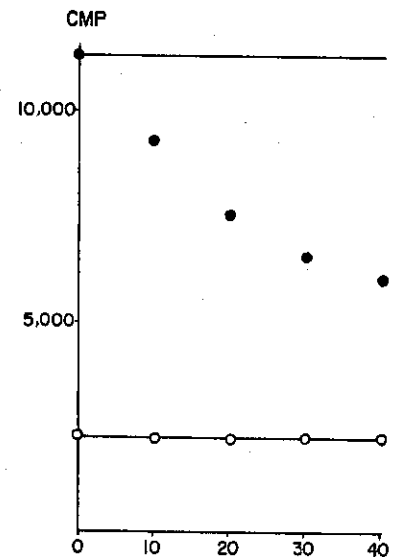


第 1 図 尾芽胚細胞の rRNA 合成に対する胞胚細胞の影響 25 匹ずつの尾芽胚 (NIEUWKOOP and FABER's stage 22~23) を dissociate してえられた単離細胞の培養に、横軸に示す数の胞胚 (stage 8) の単離細胞を加えた。培養液の最終量は 5ml で、 $2\mu\text{Ci/ml}$ の H^3 -ウリジンをふくむ。5 時間ラベルした後、RNA を抽出し、MAK カラムで分画して、rRNA (●) および sRNA (○) へのとりこみを測定した。

て、すでに述べたように、rRNA 合成に貢献するのは尾芽胚細胞であるから、その合成量は胞胚細胞の増加には無関係に一定であるが、sRNA 合成量は胞胚細胞量の増加にともなって増加することが期待される。実際、sRNA 合成量は尾芽胚細胞の合成量と胞胚細胞のそれとの和に一致する。このことから、sRNA 合成は尾芽胚細胞と胞胚細胞においては独立しておこなわれるものであるとおもわれる。しかしながら、混合培養での rRNA 合成量は、同量の尾芽胚細胞を単独で培養したばあいに合成される量よりもはるかに低く、しかも培養中の胞胚細胞の量が増加するにしたがって rRNA 合成量の低下は著しくなる。この結果は胞胚細胞が尾芽胚細胞の rRNA 合成を何らかの方法で阻害していることを示すものである。しかも、sRNA 合成量には変化がみられないことから、尾芽胚細胞と胞胚細胞の混合培養でみられたこの rRNA 合成低下が非特異的な影響によるものではないと

考えられる (なおこの点に関しては後でふれる)。

この胞胚細胞の示す rRNA 合成阻害の活性は、胞胚細胞をあらかじめ数時間培養しておいた培養液 (いわゆる conditioned medium: 以後 CM と略する) に移る。すなわち、胞胚細胞を室温で 5 時間培養して調整した CM を加えた培養液の中で尾芽胚細胞を培養すると、混合培養のばあいと全く同様な実験結果がえられる。第 2 図に示すのはその一例であって、このばあいには rRNA



第 2 図 尾芽胚細胞の rRNA 合成に対する胞胚細胞の conditioned medium の影響 胞胚 (stage 8) 100 個から得た単離細胞を 5ml の培養液中で 5 時間培養し、細胞を除く。その 0.5, 1.0, 1.5, 2.0ml (横軸には、これらの量がそれぞれ 10, 20, 30, 40 個分の培養液に相当するものとして表示した) を加え、最終量を 6ml とした培養液の中で、各 25 個の尾芽胚に由来する細胞を 5 時間ラベルした。 $1\mu\text{Ci/ml}$ の H^3 -ウリジンをふくむ。RNA の分画には MAK カラムを用いた。rRNA (●), sRNA (○)

および sRNA の合成量は常に一定の値を示すはずで、事実 sRNA 合成量はこの期待値と非常によく一致する。しかし、rRNA 合成の測定値は期待値より著しく低く、しかも胞胚 CM の濃度 (一定量の培養液に加えられた胞胚 CM の量) の上昇にともなって、ほぼ直線的に低下する。しかし、胞胚 CM の濃度をさらに高くしてみると、実際には、第 2 図に示す範囲が胞胚 CM の濃度と rRNA 合成量の低下の間に直線関係の成立する限度であって、それ以上に胞胚 CM の濃度を高くしても、rRNA 合成量はさらに低くなることはない。多くの場合、阻害の最大は対照の合成量のおよそ 50% に相当する。これらの結果から、胞胚 CM の適当な濃度範囲を

えらば、ある程度、その阻害活性の定量が可能であることが示された。また、以下に述べる実験の多くは第2図に示されている最高濃度に相当する条件でおこなわれている。

このような阻害活性は、あらかじめ期待されるように、胞胚細胞の酸可溶性分画にも回収される。酸可溶性分画は、CMに比較して、阻害因子の純度がやや低い欠点はあるが、多量の阻害因子標品を調整するときにはこの方が便利である。

このような特異的 rRNA 合成阻害は H^3 -ウリジンだけでなく、 P^{32} -オルトリン酸、あるいは H^3 -アデノシンをトレーサとして用いた場合にも全く同様に観察された。

胞胚 CM の存在下で尾芽胚細胞を P^{32} -オルトリン酸でラベルし、rRNA および sRNA のヌクレオチド組成をしらべた。その結果、sRNA はもとより、rRNA の

2. 阻 害 の 特 異 性

この胞胚 CM のもつ rRNA 合成阻害効果の特異性をさらに確かめるために、尾芽胚細胞の sRNA、DNA タンパク合成に対する胞胚 CM の阻害効果を、時間を追って測定した。rRNA 合成は、最初の1時間は正常に進行する。しかし、3時間目には阻害は明瞭になり、5時間目にかけて40~45%の合成阻害が認められた。1時間後に rRNA 合成の阻害が観察されなかったが、この実験においては rRNA の分画に MAK カラムを使用したため、rRNA 以外の、急速にトレーサをとりこむ高分子 RNA が rRNA 分画に混入したためであると考えられる。RNA の分画がさらに十分におこなわれた場合には、阻害因伝をあたえてから20分後にすでに rRNA 合成の阻害がみられる。

他方、sRNA 合成は5時間の培養期間を通じて全く影響は認められず、終始正常な速度で合成されたことを示した。

尾芽胚細胞の酸不溶性物質への H^3 -チミジン、あるいは C^{14} -タンパク加水分解物のとりこみをしらべた。その結果は、いずれの場合も、胞胚 CM はそのとりこみに対して何らの影響も示さなかった（ただし、リボソームタンパクの合成に阻害作用をもつ可能性を排除したものではない）。

また、この阻害因子が尾芽胚細胞の mRNA 合成に対して阻害効果をあらわさないことも観察された (Shiohara and Yamana, 1968)。尾芽胚細胞を短時間（例え

場合にもヌクレオチド組成には全く異常は認められなかった。このことから、合成される rRNA そのものは、ヌクレオチド組成の点では正常であることが明らかになった。他方、sRNA については、この結果は胞胚 CM 存在下でのトレーサのとりこみが CCA 末端へのそれではないことを示すものである。したがって、はじめに予測したとおり、sRNA 合成は胞胚 CM によって影響を受けず、量的にも質的にも正常に進行しているものと考えられる。

上に述べたような、特異的に rRNA 合成を阻害するような活性は、胞胚細胞あるいはその CM に特有なものであって、尾芽胚あるいはその CM には認められない（胚の発生過程のちがいと rRNA 合成阻害の活性の強さとの関係は後でふれる）。ここで前者が rRNA 合成をおこなわないのに、後者がそれをおこなうものであるという事実は、非常に暗示的である。

ば30分）ラベルすると、MAK カラムでは rRNA よりも高い濃度の MaCl で溶出され、蔗糖密度勾配では 28S RNA よりも速やかに沈降する RNA が観察されるが、この RNA は、1) 急速にラベルされること、2) ヌクレオチド組成が DNA のそれと一致すること、さらに 3) アクチノマイシン D の存在下でこの RNA を "chase" すると、その約 50% が急速に失われていき、決して rRNA へ移っていかないことなどから、一応、いわゆる mRNA であると考えられる。そこで、胞胚 CM の存在下でのこの mRNA 合成は5時間の間には、全く阻害を受けないことが明らかにされた。

これらの結果から、胞胚 CM にふくまれている rRNA 合成阻害要因はきわめて特異性の高いもので、sRNA 合成、mRNA 合成、DNA 合成、タンパク合成のいずれにも作用しないことが明らかになった。この高い特異性は、胞胚 CM による rRNA 合成阻害が可逆的である事実からも確かめられる。

このような非常に特異性の高い rRNA 合成阻害因子が、rRNA 合成をおこなっていない胞胚および胞胚細胞に存在し、rRNA を合成している尾芽胚およびその単離細胞に存在しないという観察は、当然のことながら、次のような推測をひき出す。すなわち、ここでわれわれが取り上げている阻害因子は、GURDON and BROWN (1965) が核移植でその存在を示唆していた細胞質因子と同一のものではないか——したがって、この阻害因子は正常な

胚発生の過程で rRNA 合成の調節に関与しているので はないだろうか。

3. 胚発生過程における阻害因子の消長

阻害因子の量の変化を、さらに細かく発生段階を追ってしらべた (WADA *et al.*, 1968)。すなわち、未受精卵、中期胞胚 (stage 8)、初期のう胚 (stage 10)、中期のう胚 (stage 12)、および尾芽胚 (stage 22~23) からそれぞれ CM を調製し、尾芽胚細胞の rRNA 合成に対する阻害の大きさを測定した。この実験の結果は次の通りであった。rRNA 合成の阻害は、未受精卵の CM で 45%、中期胞胚の CM で 35%、初期のう胚になると急激に低下して 15%、中期のう胚 CM で 5%、尾芽胚 CM では 2% であった。このことから、未受精卵から中期胞胚までの間は阻害因子の量にほとんど変化がなく、のう胚期に入ると急速に失われることがわかる。また、rRNA 合成は、上述のように、のう胚期に開始されるが、胚の部域によってそれぞれ異なる速度で合成される。すなわち、中期のう胚を dorsal, ventral および vegetal の部域に切り分けて、それぞれの部域での RNA

合成をしらべた。その結果、sRNA はすべての部域で合成されているが、rRNA は dorsal および ventral 部域で合成され、vegetal 部域では合成が認められなかった。なお、dorsal 部域と ventral 部域とでは、前者の方が rRNA 合成が盛んである。ところで、この3部域ごとに CM を調整し、尾芽胚細胞の rRNA 合成阻害の度合を比較したところ、阻害は vegetal 部域で最も強く 50%、dorsal 部域では 7%、ventral 部域ではその中間の値の 20% を示した。これは各部域での rRNA 合成速度とまさに逆の関係である。これらの実験結果から一致した結論としてえられたことは、阻害因子の濃度が低い胚および胚域では rRNA 合成が盛んであり、阻害因子濃度の高いところでは rRNA 合成速度は小さいということである。これらのことは、この阻害因子が正常発生において、rRNA 合成の調節に実際に関与しているという仮説を支持するものである。

4. 阻害因子による調節の普遍性

もし *Xenopus laevis* 胚で、胚発生の過程にみられる rRNA 合成調節にこの阻害因子が関与していることが正しければ、1) 他のカエル胚でも同様な形式の調節がおこなわれているであろうか——もしそうだとすれば、2) その阻害因子の化学構造は *X. laevis* 胚のものと似ているのであろうか。これらの点をしらべるために、*Rana japonica* (アカガエル) 胚をもちいた。まずこの *R. japonica* 胚でも、*X. laevis* 胚の場合と同じ rRNA 合成パターンを示すことが確かめられた。ついで *R. japonica* 胞胚の CM を調整し、同種の尾芽胚細胞にあたえ、後者の rRNA 合成が特異的に阻害されることから推測される。このばあいにも尾芽胚細胞 CM は無効であり、sRNA 合成はなんらの影響も受けない。次に *X. laevis* の胞胚 CM を *R. japonica* 尾芽胚細胞にあたえると、その rRNA 合成が、同種の胞胚 CM をあたえたときと同じ程度に、特異的に阻害される。そして、この阻害が *X. laevis* 尾芽胚 CM によってはひきおこされないこと、および sRNA 合成が全く影響をう

けないことから、*X. laevis* 胞胚 CM 中にふくまれている異質の水溶性タンパクなどによる、非特異的な阻害作用の結果であるとは考えられない。

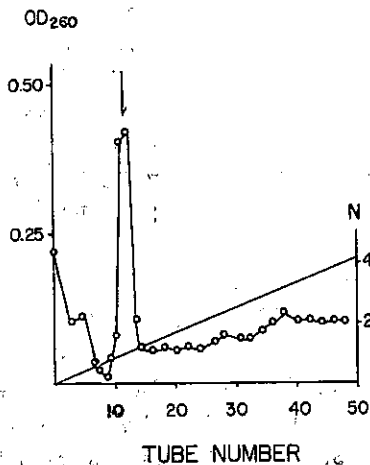
これらの実験結果から、1) 阻害因子を介して発生過程における rRNA 合成の調節をおこなう形式は、*X. laevis* に限らず、*R. japonica* をはじめ、おそらく、同様な rRNA 合成パターンを示す他のすべての動物胚においても普遍的にみられるものではないであろうか。そしてさらに、2) *X. laevis* 胚の阻害因子と *R. japonica* 胚のそれとの間には、そしておそらく、その他の動物胚に存在すると期待されるすべての阻害因子の間には、かなりの程度に化学構造上の類似性が存在するであろうと期待される（もっとも、阻害因子の分子全体ではなく、その作用部位だけに類似性が認められる可能性もあるし、またここで問題にしている阻害因子はさらに大きい分子からなる、真の阻害因子の作用部位である可能性もある。この点については後で述べる）。

5. 阻 害 因 子 の 性 質

このような阻害因子の本体を明らかにすることは非常に興味深いことであり、その努力が現在おこなわれて

いる。今までに明らかになったところでは、*X. laevis* の阻害因子は次のような性質をもっている。1) 熱抵抗性をもつ。沸とう水浴中で胞胚 CM を10分間加熱した後でも、その活性には変化がみられない。2) 透析膜を通過する。3) 活性炭に吸着され、アンモニア-アルコールで溶離する。このような操作の過程で、阻害活性の減少はみとめられない。4) Dowex-1 カラムに吸着され、ギ酸の濃度勾配で溶離すると、ほぼ同程度の活性をもつ二つの有効成分が、シチル酸およびウリル酸の溶離されるギ酸濃度に近いところにあらわれる。いずれも紫外吸収を示す。5) ただし、阻害活性が2カ所にみられるのは、阻害因子を Dowex-1 カラムにかけるまえに活性炭からアンモニア-アルコールで溶離し、溶媒を蒸発させるために、80°C に加熱するためであって、胞胚 CM を凍結乾燥して、Dowex-1 カラムにかけた場合には、阻害活性は単一の鋭いピークとして、シチル酸が溶出される位置の近く〔ただし、4) の場合のそれとはやや異なる〕にあらわれる(第3図)。この分画をアンモニア-アルコール中で 80°C に加熱すると、4) の場合と同様に二つのピークになる。これはシチル酸のウリル酸への転換をおもわせるもので、阻害因子の化学構造を考える際のてがかりになる。

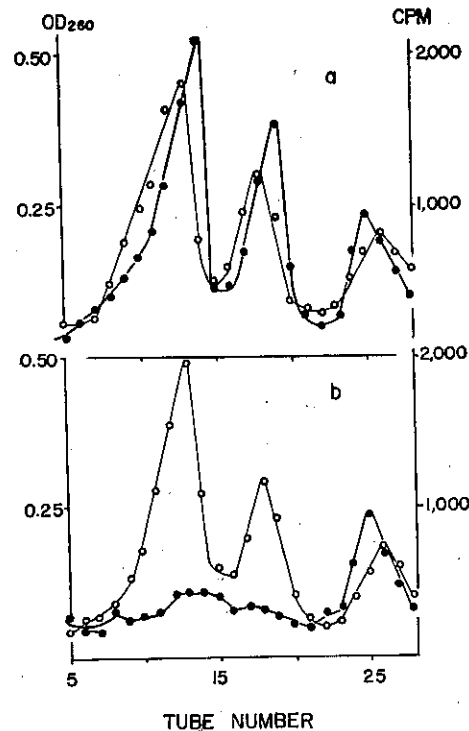
以上の結果は、すべて、阻害因子がかなり低分子の物質であることを示唆するものである。しかし、この阻害



第3図 阻害因子の Dowex-1 カラムクロマトグラフィー。1,200個の胞胚 (stage 8) の酸可溶性分画を凍結乾燥して、Dowex-1 (×8) ギ酸型カラムにかけ、蒸留水でカラムを洗った後、ギ酸の濃度を直線的に上昇させた (図の中の、右上りの直線はギ酸の濃度を示す)。図に示すような、かなり単純な紫外吸収パターンがえられるが、rRNA 合成阻害の活性は矢印で示すピークの分画に局在している。

因子の作用がきわめて高い特異性をもつことから考えて、阻害因子の本体は大きな分子であり、われわれが扱っているのはその“活性中心”のような部分である可能性が考えられる。

というよりはむしろ、この阻害因子が実際に胚の中で働いている阻害因子そのものであると考えることには無理がある。なぜなら、胚の異なる部域では、すでに示したように (WADA *et al.*, 1968), かなり異なる時期に rRNA 合成が開始するのであるから、阻害因子が非常に低分子物質であって、自由に拡散し、他の細胞に浸透していくものであるはずがない。この点に関しては、GURDON and WOODLAND (1968) が示唆しているように、われわれの方法で単離細胞を調製する過程で、細胞の透



第4図 尾芽胚細胞の rRNA 合成に対する阻害因子粗標品の影響。100個の胞胚 (stage 8) 単離細胞を5時間培養して conditioned medium を調製する。それを活性炭カラムで精製してえた阻害因子の粗標品、10個の尾芽胚の単離細胞に加え、5μg/ml の H³-ウリジンの存在下で5時間ラベルした。RNA を抽出し、5-20%蔗糖密度勾配にのせて遠心した。a) 対照 b) rRNA 合成は、28 S および 18 S のいずれも、ほとんど完全に阻害されている。しかし、4S RNA はほぼ正常に合成されている。なお、この実験においては、RNA 抽出時にラット肝ホモゼネートを加えているので、紫外吸収パターンはラット肝の RNA のそれを示す。放射能 (●), 紫外吸収 (○)

過性が増大し、阻害因子がきわめて透過しやすくなるという可能性もあるが、われわれは、むしろ、生体内で実際に機能している阻害因子は例えばタンパクのような高分子物質と結合して、自由には拡散できない性質のものであると考えたい。そのような阻害因子が調製の過程で分解し、細胞の外に出てきた低分子の部分だけをわれわれはとらえているのであって、それを培養液に加えると尾芽胚細胞の中に浸透し、細胞内のタンパク部分と再結合して rRNA 合成を阻害する活性を獲得する。もしこの可能性が正しければ、われわれが研究しているものは真の阻害因子の小さな部分であるということになるが、すくなくとも現在までのところ、これが阻害因子の実体に関しては唯一のてがかりであるし、またタンパク部分は尾芽胚細胞にも残っていることになるから、実際に胚から失われていくか、あるいはその活性が打ち消され、rRNA 合成の開始を可能にしているものは、やはり、この低分子の部分であるにちがいない。

とにかく、このようにしてある程度純粋にした阻害因子標品がどのような構成成分をふくむかについて、予備

6. 阻害因子の作用機作

現在、一般にみとめられているところでは、動物細胞における rRNA 合成は、遺伝子の上で28 S および 18 S RNA を 1 : 1 にふくむ、40S (BROWN, 私信) の“polycistronic”な前駆体が形成される転写の段階と、その前駆体から28 S および 18 S の二つのサブユニットが、異なる経路を経て完成される“成熟”の段階とからなると考えられている。ところで、この阻害因子はどちらの段階で rRNA 合成を阻害しているのだろうか。この作用機作の解明は非常に興味ある課題でありながら、現在

7. 結 語

rRNA 合成を阻害する細胞質因子に関するわれわれの研究の現状は、簡単に上に述べたとおりである。われわれは現在ようやく研究の糸口に到達したところであって、今後この阻害因子の実体を明らかにし、その作用機作を解明していかなければならない。そして、現在われわれが扱っている阻害因子はかなり低分子のものであることが明らかになっているが、果して、これが実際に細胞内で機能している阻害因子そのものであるのか。また、このような阻害因子をもってする調節形式は動物胚の特徴であって、成体の細胞にはみられないものである

的な実験をおこなった。上に述べたように、この阻害因子が紫外吸収を示すことから、塩基をふくむことが期待されるが、確かに、数種の塩基 (ないしは塩基様物質) の存在がみとめられた。現在までのところ、そのすべてを同定するにはいたっていないが、シトシンおよびウリシルがふくまれているらしい。なお、リンなども検出されている。これらの知見は阻害因子の作用が培養液中のウリジンあるいはシチジン濃度が 30μmoles/ml 以上で打ち消されるという観察 (SHIOKAWA and YAMANA, 1967c) とあわせ考えると興味深い。

このように活性炭および Dowex-1 カラムを使用することによって阻害因子はかなりの程度に精製される。例えば、胞胚 CM の場合はその濃度がある程度以上に高くしても、rRNA 合成は対照のその約 50% よりも低くなることはなかった。しかし、このようにして精製された阻害因子標品では、阻害の度合と阻害因子の濃度の間には直線関係が成立し、ほとんど完全に rRNA 合成を阻止することができる (第4図)。これは、おそらく、胞胚 CM 中の不純物が除かれるためであろう。

までのところ、ほとんど何もわかっていない。ただ、阻害因子の濃度を徐々に高くしていくと、28 S および 18 S の両方のサブユニットが、たえず同じ程度に阻害されることが観察された。この結果は、仮りに阻害因子が転写の過程で rRNA 合成を阻害しているのだと考えると、大変簡単に説明することができる。もちろん、成熟過程が阻害される可能性が否定されたわけではなく、この点に関しては、現在研究をすすめている。

という可能性もある。すでに、ネズミの成体の肝組織に、似たような活性をもつ物質の存在をみとめているが、(YAMANA and SHIOKAWA, 1966b), さらに十分に検討する必要がある。もし、この調節形式が成体の細胞をふくめて、普遍的に動物細胞にみとめられるものであるなら、例えば癌化した細胞に対してこの阻害因子の効果をしらべることは興味深いことであろう。また、実際に、この阻害因子が胚発生の初期、rRNA 合成調節に関与しているとして、のう胚形成と同時に rRNA 合成が開始する機構はどのようにになっているのだろうか。す

なわち、すでに確かめた阻害因子の活性の、発生にともなう胚全体および胚の部域からの減少 (WADA *et al.*, 1968) の原因は何であろうか。現在、考えられる可能性として、1) この阻害因子が容易に培養液の中に溶け出していくことから、阻害因子が胚から失われていくのかもしれないし、2) この阻害因子の活性がウリジンやシチジンによって打ち消されることから、このような拮抗作用をもつ物質の濃度の上昇がおこるためかもしれない。

8. 要 約

Xenopus laevis 胚の初期発生において、RNA 合成はきわめて特徴のあるパターンを示す。すなわち、sRNA やメッセンジャー RNA (mRNA) は初期発生のほとんどすべての期間で合成されつづけるが、リボソーム RNA (rRNA) はのう胚期以後になって合成されはじめ、急速に合成量は上昇していく。

このような rRNA 合成の調節に細胞質因子が関与している可能性は、すでに核移植の実験によって示されていた。

われわれはこのような細胞質因子の本体やその作用機作などをさらに研究していくために、*Xenopus laevis* 胚

いし、あるいは 3) この阻害因子の合成停止、あるいは分解の開始が原因であるかもしれない。

ともあれ、この阻害因子は動物細胞ではじめて明らかにされた "repressor" 分子 (の一部) であるかもしれないし、すくなくとも、発生学者が長い間追究してきた、核と細胞質の相互作用を物質のレベルで論議する最初のできがかりを提供するものであろう。

の単離細胞を使う方法を確立した。そして、核移植の実験から推測される細胞質因子は、rRNA 合成に対して特異的な阻害活性をもつものであることを明らかにし、なお、この阻害因子のいくつかの性質、およびその作用機作などについてえられた結果を論議した。

この研究の遂行にあたって、たえず励ましの言葉と助言をおあたえ下さった川上 泉教授に対して、心より感謝します。また、いろいろと討論に加わって下さった宮原審子さんと、実験の手伝いをして下さった山本康恵さんにお礼を申し上げます。

文 献

- BROWN D. D. and LITTON, E. (1964a) J. Mol. Biol., 8 : 669-687.
 BROWN, D. D. and LITTON, E. (1964b) J. Mol. Biol., 8 : 688-695.
 GURDON, J. B. and BROWN, D. D. (1965) J. Mol. Biol., 12 : 27-35.
 GURDON, J. B. and WOODLAND, H. R. (1968) Biol. Rev., 43 : 233-267.
 NIEUWKOOP, P. D. and FABER, J. (1956) Normal table of *Xenopus laevis* (Daudin). North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
 SAMEISHIMA, M., SHIOKAWA, K. and YAMANA, K. (1968) Proc. Japan Acad., 44 : 385-390.
 SHIOKAWA, K. and YAMANA, K. (1967a) Develop. Biol., 16 : 368-388.
 SHIOKAWA, K. and YAMANA, K. (1967b) Develop.

- Biol., 16 : 389-406.
 SHIOKAWA, K. and YAMANA, K. (1967c) Proc. Japan Acad., 43 : 148-151.
 SHIOKAWA, K. and YAMANA, K. (1968) Proc. Japan Acad., 44 : 379-384.
 STEARNS, R. N. and KOSTELLOW, A. B. (1958) In "The Chemical Basis of Development" (eds W. D. McElroy and B. Glass). 448-458. Johns Hopkins Press, Baltimore.
 YAMANA, K. and SHIOKAWA, K. (1966a) Proc. Japan Acad., 42 : 806-810.
 YAMANA, K. and SHIOKAWA, K. (1966b) Proc. Japan Acad., 42 : 811-815.
 WADA, K., SHIOKAWA, K. and YAMANA, K. (1968) Exptl. Cell Res., 52 : 252-260.

植物ホルモンの作用と細胞分化

柳 島 直 彦

(大阪市立大学 理学部 生物学教室)

Naohiko YANAGISHIMA (Department of Biology, Faculty of Science, Osaka City University, Osaka) : Plant Hormone and Cell Differentiation.

Abstract.....The action of auxin to induce heritable variations in *Saccharomyces* yeasts was studied to gain an insight into the relation between microbial genetic variations and cell differentiation in higher plants.

High concentrations of auxin (100~600 mg/l) induced heritable changes in cytochrome system, cell-form and -size, chromosome assortment, and the ability to respond to the cell-elongating action of auxin. Auxin-responsive variants were shown to contain RNA fractions functional in auxin action. Auxin-responsive yeast variants responded to auxin in the same manner as observed in auxin-responsive higher plant cells.

The action of auxin to induce heritable variation in yeast and to control cell differentiation in higher plants seems to correlate each other (Received 15 July 1968).

植物ホルモンと植物の細胞分化の関係には大きくわけて、二つの問題がある。第1の問題は、細胞の植物ホルモンに対する反応性が、細胞の分化の程度によってことなることである。第2の問題は、細胞の分化そのものがホルモンによって誘導され、調節されていることである。この二つの問題は、決して別々のものではない。私たちが細胞機能調節機構の中でホルモンがどのような役割を演じているかを明らかにするためには、この二つの問題を統一して理解しなければならない。私たちはオーキシンの酵母細胞に対する作用を中心として、この二つの問題をあきらかにするための、何らかのいとぐちを得ようと試みている。

Saccharomyces 属の酵母菌は単細胞生物でありながら、真核的である。したがって、バクテリア等を材料として得られた知見を無批判に高等生物に導入する危険をさけるためには、酵母菌のような中間的な性質をもった生物が重要な意義をもっていると考えられる。その上酵母菌は古くから、生化学的にも、細胞学、遺伝学にもよく知られているので、酵母菌に関する基礎的な知識は豊かである。私たちは、もっとも基本的な植物ホル

モンであるオーキシンをとりあげ、その基本的な作用である細胞容積増大生長誘導作用に注目した。酵母菌がオーキシンを生産することは古くからよく知られているが、オーキシンの酵母菌に対する作用は明らかにされていなかった。この原因の一つとして細胞のオーキシンの反応性の問題が考えられる。高等植物においても、すべての細胞が同じようにオーキシンの反応するのではない。細胞の分化、または老化等の程度によって、同じ植物の細胞でも、オーキシンの反応性がことなっている。単細胞生物である酵母菌において、高等植物で見られるような細胞分化があるとは考えにくい。したがって、酵母菌の場合には、細胞の遺伝学的、あるいは、生理学的な状態の変化によって、オーキシンの反応性がことなる可能性が考えられる。もしこの可能性が事実であるなら、高等植物の細胞分化と、微生物の遺伝学的変化を関係づけることができるだろう。そして、微生物のもっている研究材料としての利点を利用して、細胞分化の問題をしらべる可能性が与えられるだろう。

1. 材料および方法

酵母菌としては *Saccharomyces ellipsoideus* の diploid 株の K V2, および *Saccharomyces cerevisiae* で、種々

本論文は、シンポジウム「細胞分の基礎過程」(昭和42年10月15日、京都大学工学造)で化なわれた講演の要旨である。

の遺伝的な栄養要求性を相補的に入れてある heterothallic な diploid 株 A2-0 を用いた。KV2, A2-0 ともにオーキシンの細胞容積増大生長誘導作用には反応しない。以下オーキシン作用というのは、オーキシンが細胞の容積増大生長または伸長生長を誘導する作用をいい、

2. 実験結果

a. オーキシンによる酵母菌の遺伝的変異の誘導

高等植物に比較的高い濃度のオーキシンを作用させると、一度分化した細胞に脱分化が起こり、カルス細胞があらわれてくる。カルス細胞をオーキシンやサイトカイニン等の植物ホルモンのバランスがとれた適当な培地で培養すると、再び分化した植物体が形成される (STEWART *et al.*, 1967)。このようにオーキシンは植物細胞の分化に大きな働きをしている。

私たちは、まず、100~600mg/l という高い濃度の IAA・NAA・2,4-D 等をふくんでいる培地で、KV2・A2-0 を培養して、遺伝的な変異菌の出現をしらべた。第1表および第1図にその結果の一部を示してある。オーキシンを入れた培地では高い頻度で、細胞の形、大きさ等がことなっている変異菌が出現することがわかった (YANAGISHIMA and SHIMODA, 1967; YANAGISHIMA *et al.*,

オーキシン反応性とは、このオーキシン作用に反応することをいう。また次の省略を行なう。IAA, indole-3-acetic acid; NAA, α -naphthaleneacetic acid; 2,4-D, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid; GA, gibberellic acid.

第1表 NAA 処理によりあらわれる変異菌の種類および出現頻度

変異菌の細胞型	NAA 処理		対 照	
	コロニー数	RDコロニー数	コロニー数	RDコロニー数
正 常	15	7	30	0
短	4	2	0	0
丸	4	2	0	0
長	2	0	0	0
伸 長	5	0	0	0
計	30	11	30	0
RD の%	37		0	

A2-0 を 400mg/l の NAA を含む培地に10日間培養後、正常培地上に細胞を分散接種してコロニーを形成させた。



第1図 オーキシン NAA による変異の誘導

A: 正常培地上のコロニー
B: NAA (100mg/l) 培地上のコロニー
C: NAA 培地上のコロニーを正常培地上にレプリカにしたもの。いずれも変異を見わけやすくするために、2,3,5-triphenyltetrazolium chloride で染色してある。白い部分は RD 変異をおこした部分。

1968)。使用した3種のオーキシンはすべて、この変異菌生産作用を示したが、酢酸にはこの作用はなかった。これらの変異菌の多くは、母株菌よりオーキシンに対する耐性が低いか、少なくとも高くはないから、オーキシ

ンによって誘導的に生産されたものであると考えられる。これらの変異菌の主な性質は、オーキシン無添加培地上でうえついても、持続すると、くに注目すべき事実、形態的な変異菌の出現と同時に、細胞質の変異によ

る、呼吸欠損 (RD) 変異菌が高頻度であらわれてくることである。この際、RD 変異もオーキシンの誘導されたことが証明されている。RD 変異はミトコンドリアの DNA の変化によってひきおこされるチトクローム系の欠損変異である (SHERMAN, 1963)。オーキシンが細胞質の因子を変化させる事実、ホルモンの作用または細胞分化と、細胞質の因子との関係を考察する上で重要である。

次に、オーキシンによって誘導された形態的な変異菌の代表的なものを分離して、これらの生理学的、遺伝学的性質をしらべた。もしこれらの変異菌が高等植物の分化した細胞と同じ性質をもっているなら、この変異と細胞分化を関連づけるいとぐちがみつかる可能性がある。

i) チトクローム系 オーキシンが RD 変異を誘導する事実から、オーキシンによって誘導された形態的な変異菌にもチトクローム系の変化がみとめられる可能性が考えられる。そこで、私たちは各変異菌について細胞の懸濁液のチトクロームの吸収のパターンをしらべた。私たちがしらべた限りでは、すべてのオーキシンによる変異菌はチトクローム系の吸収のパターンの変化を示した。しかし、すべてグリセリン培地上で生育することが出来るから、これらの変異菌は RD 変異菌ではない。酵母菌のチトクローム系は、核の遺伝子と、細胞質因子の両方によって調節されていることがわかっている (SHERMAN, 1963)。これらの形態的な変異菌のチトクローム系の変化が、そのいずれによってもたらされたのかは、わかっていない。しかし、細胞の形態的な変化とチトクローム系の変化が相もなあって、オーキシンによって誘導される事実は、細胞分化とミトコンドリアの活性の間に何らかの関係があることを暗示している。

ii) オーキシン反応性 もし、このオーキシンによる変異が細胞分化と何らかの関係があるなら、これらの変異菌がオーキシン反応性においても変化している可能性がある。なぜなら、高等植物細胞のオーキシン反応性は細胞の分化の程度によってことなるからである。KV2・A2-0 両株の場合、いずれも、オーキシンによる変異菌の中に、オーキシン反応性が高いものが高頻度で発見された。母株菌である KV2・A2-0 自身は、ともにオーキシンには反応しない。これらの事実は、オーキシンによる変異と細胞分化との関係をしらべる手がかりを与えてくれるものと思われる。この点については後で詳しくのべる。

iii) 遺伝形質の分離 オーキシンによる形態的な変異の遺伝学的性質を知るために、胞子を作らせて接合

型、栄養要求性の分離をしらべた。私たちがしらべたすべての変異菌において、接合能力および、栄養要求性の異常な分離がみとめられた。とくに、オーキシン反応性のある変異菌においては、接合能力における異常が著しく、一方の接合型が消失していた事実は注目される。これらの結果は、オーキシンによる変異が染色体レベルでの変異をともなっている可能性を示している。そこで、細胞当りの DNA 量を測定した。

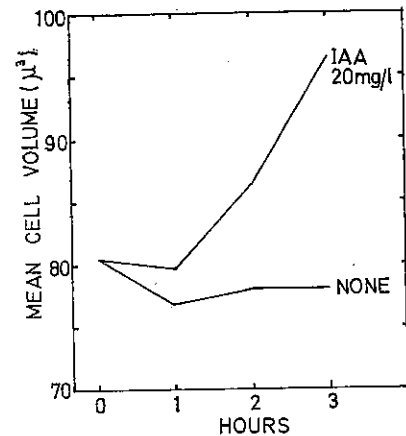
iv) DNA 量

DNA 量を測定した結果、大型の変異細胞の中には細胞当りの DNA 量が triploid に近いものも見出された。この変異菌は胞子形成能も低く、また、栄養要求性の分離の異常も著しい。したがって、triploid またはそれに近いものと思われる。また、オーキシンによる変異菌の中にはたえず DNA 含量のことな細胞を作っているものも見出された。これらの事実は、高等植物の脱分化したカルス細胞において、染色体数の乱れが起こりやすい事実を思い出させる。

以上述べて来た事実は、酵母菌における、オーキシンによる変異誘導現象が、高等植物における細胞分化と無関係なものではないことを暗示している。この関係をもっとくわしく手がかりを得るために、私たちは、オーキシン反応性のある変異菌に注目した。もし、この変異菌のオーキシン反応性が高等植物細胞のオーキシン反応性と同じ性質のものであるなら、高等植物の細胞分化と、酵母菌のオーキシンによる変異の関係をもっと深く考察することが出来る。なぜなら、高等植物が、細胞分化の結果もたらす性質を、酵母菌が、遺伝的な変化によってもたらすことになるからである。

b. オーキシン反応性変異菌

オーキシン反応性変異菌では、NAA や IAA 等のオーキシン (10~20mg/l) によって、単純な緩衝液の中で、3時間以内に細胞の expansion が誘導される (第2図)。この場合細胞壁の不可逆的なゆるみがおこっていることもわかった。もちろん培養液にオーキシンを混入して、生長させても、細胞の expansion がみとめられる。しかし、カタツムリの消化酵素を用いてプロトプラットにすると、オーキシン反応性変異菌のオーキシン反応性がみとめられない (YANAGISHIMA and SHIMODA, 1968)。これらの事実から、オーキシンによって細胞壁のゆるみが生じ、その結果、細胞の expansion がおこると考えられる。この考えは高等植物におけるオーキシン作用の機作として確立しているものである (増田, 1966)。次に、オーキシン作用を特異的に阻害をする抗オーキ



第2図 オーキシンによる A2-N102 (オーキシンに対して反応する変異菌) 細胞の expansion の誘導

シン剤である, 2, 4, 6-trichloropheoxyacetic acid や *trans*-cinnamic acid が IAA や NAA のこの変異菌に対する作用をおさえることがわかった。さらに actinomycin D・clothramphenicol・cycloheximide などがこの変異菌に対するオーキシン作用をおさえることもわかった。これらの結果は, 変異酵母菌に対する作用はオーキ

シンの特異的な作用であり, このオーキシン作用には, 核酸や蛋白質の合成が関与していることを示している。高等植物におけるオーキシン作用には核酸代謝および蛋白質の合成が必要であることは多くの人びとによって実験的に示されている (MASUDA and WADA, 1966; NOODÉN and THIMANN, 1963)。

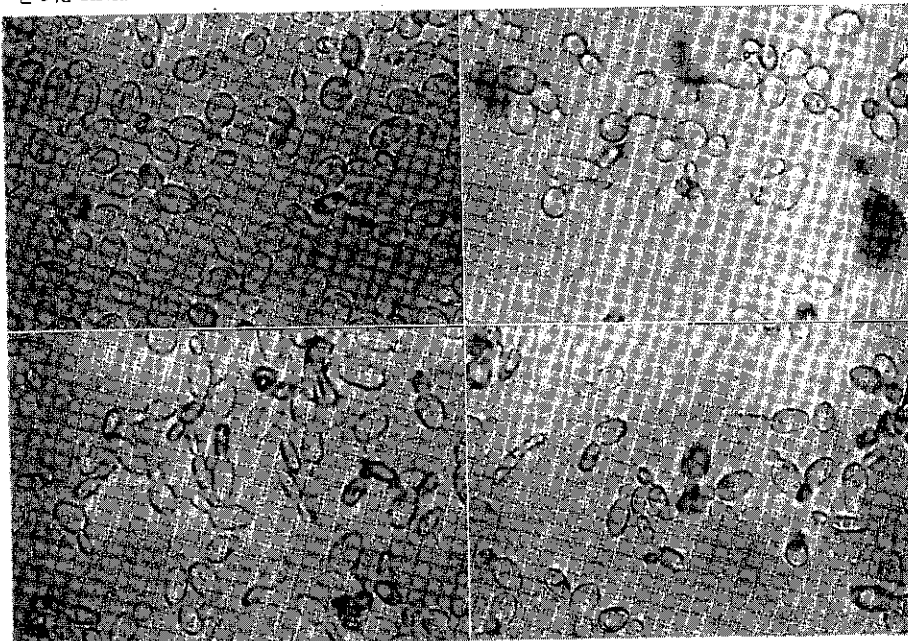
以上のべて来たように, オーキシン反応性酵母変異菌においても, 高等植物のオーキシン反応性細胞と同じオーキシン反応機構が働いている可能性が大きい。この点をもっとくわしくしらべるために, 酵母菌のオーキシン反応性がどのような物質によって決定されているかを知ろうと試みた。同時に, 高等植物細胞のオーキシン反応性の物質的基礎をしらべ, 両者の関係をしようとした。

c. オーキシン作用における機能的 RNA

高等植物のオーキシン反応性には RNA が重要な役割を演じていることが 1959 年に 増田によって示された。そこで, 私たちはオーキシン反応性のある変異酵母, あるいは高等植物細胞と, オーキシン反応性をもたない母株菌や植物細胞との間には, RNA レベルで何らかの差があると考えた。フェノール法の変法で抽出した RNA 分画を取り出し, これをオーキシン反応性のない酵母菌 (母株, KV2) や植物細胞 (若いキクイモの塊茎)

加えた RNA の種類

オーキシンに対する反応性のある変異菌より抽出した RNA オーキシンに反応しない母株 (KV2) より抽出した RNA



第3図 KV2 株に対するオーキシンの作用と低分子特殊 RNA

に与えた。もし, オーキシン反応性の基礎になっている RNA があるなら, この RNA によって, これらのオーキシン反応性のない細胞にオーキシン反応性が与えられるかもしれないと考えた。第3図に示してあるように, オーキシン反応性のある変異菌より抽出した RNA 分画を与えると, KV2 細胞がオーキシンに反応するようになった。しかもオーキシン反応性のない KV2 から抽出した RNA には, この生物学的活性はない, また, オーキシン反応性の変異菌から抽出した RNA の中でもフェノール層にふくまれるものだけに活性がみとめられた。このことは, この RNA が比較的抽出されにくい形で細胞内に存在していることを暗示している。さらに注目すべきことには, オーキシン反応性のある植物組織, すなわち, 老化したキクイモの塊茎 (若いキクイモはオーキシン反応性が低く, 老化したものは高い反応性を示す) や, マカラスムギの幼葉鞘から抽出したフェノール層の RNA も KV2 酵母のオーキシン反応性を高める作用があった (第2表) 逆に, オーキシン反応性の高

第2表 マカラスムギの幼葉鞘から抽出した RNA 分画と KV2 のオーキシン反応性

RNAの分画	オーキシン(20mg/l)	細胞の長さ, μ (比較値, %)
フェノール層	なし	$6.38 \pm 0.13^*$ (100)
	NAA	8.03 ± 0.81 (126)
	IAA	8.41 ± 0.19 (132)
水層	なし	6.67 ± 0.13 (100)
	NAA	6.96 ± 0.16 (104)
	IAA	6.39 ± 0.14 (96)

* Standard error

RNA 分画およびオーキシンを入れて20時間培養後測定

い変異酵母から抽出したフェノール層 RNA は, 若いキクイモの塊茎のオーキシン反応性を高める作用を示した (MASUDA and YANAGISHIMA, 1965; YANAGISHIMA and MASUDA, 1965)。

次に, 私たちはこの活性 RNA の本体をしるために, 活性のある RNA 分画をメチル化アルブミンのカラムにかけて分画した。そして分画された各 RNA の生物学的活性をしらべたところ, 低分子 RNA の分画にのみ生物学的活性があることがわかった (MASUDA *et al.*, 1967)。

以上の事実, オーキシン反応性のある酵母の変異菌は, オーキシン反応性のある高等植物細胞と同じ物質的な基礎をもっていることを示している。私たちはこの生物学的活性のある RNA の働きをしらべることにより,

酵母菌と, 高等植物に共通している基本的なオーキシン作用の機構をしるいうことが与えられると思っている。

次に, 私達は重要な植物ホルモンである, GA がこの生物学的活性のある RNA の細胞内の蓄積をもたらすことを見出した。すなわち, GA を与えると, KV2 酵母や, 若いキクイモ塊茎などのオーキシンに対する反応性が高められるが, この際, GA が細胞内に生物学的活性のある RNA の蓄積をもたらしていることがわかった (YANAGISHIMA, 1965; YANAGISHIMA and MASUDA, 1964)。GA の作用に関しても酵母菌とキクイモの間に共通性があることは注目し得る。

以上のべて来た諸事実は, 酵母菌におけるオーキシンによる変異誘導現象は高等植物の細胞分化と関係が深いことを暗示している。すくなくとも, 細胞分化の機構をあきらかにする上に重要な多くの知見が, 酵母菌のオーキシンによる変異誘導の現象を通してえられる可能性があると考えられる。

私たちは, さらに, KV2 や A2-0 およびそれらからオーキシンによって誘導された変異菌のオーキシン反応性にはどのような型があるかをしらべた。

d. 酵母菌のオーキシンに対する反応性の型

種々の菌株のオーキシン反応性をしらべたところ, 酵母菌のオーキシン反応性には次の三つの型があることがわかった。すなわち, 1) GA の有無にかかわらずオーキシンに反応しないもの。例, A2-0 2) GA があればオーキシンに反応するが, なければ反応しないもの。例, KV2 3) GA の有無にかかわらずオーキシンに反応するもの。例, A2-0 より出たオーキシン反応性変異菌, A2-N102 や KV2 より出た N55。高等植物においてもこれと似たオーキシン反応性の型がみとめられる。

1) の型に相当する高等植物細胞は多い。2) の型に相当するものには, 若いキクイモの塊茎がある。3) の型にはマカラスムギの幼葉鞘が相当する。

さて, すでにのべたように, 2) と 3) の間の差は生物学的活性のある RNA にあることがわかっている。すなわち, 3) には生物学的活性のある低分子 RNA が見出されるが 2) には見出されない。2) においても GA を与えると, この RNA が見出されるのである。では 1) と 3) あるいは 1) と 2) の差はどこにあるのであろう。GA を与えても 1) のオーキシン反応性があらわれないから, 生物学的活性 RNA に根拠を求めることは無理と考えられる。事実, 1) に相当する A2-0 酵母はオーキシンに反応しないにもかかわらず, この RNA をふくんでいることがわかっている。前にすでにのべた

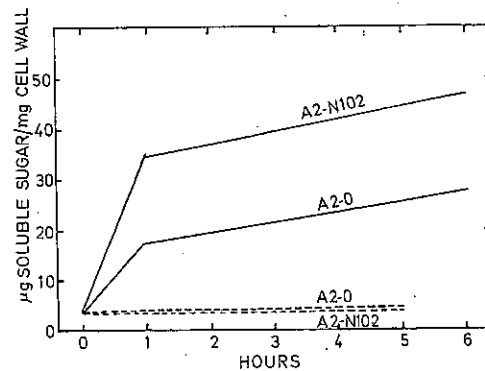
ように、高等植物・酵母菌を通して、細胞壁がオーキシン反応に重要な役割を演じていることはあきらかである。また、A2-N102 はとくに接合能力の分離が著しく変化していることがわかっている。酵母菌の接合には細胞壁の変化がともなっている。これらの事実から、私たちは、1) の型である A2-0 と、3) の型の A2-N102、あるいは 2) の型の KV2 との間には細胞壁の性質に差があるのではないかと考えた。

高等植物において、キンカク菌からとった β -1,3-グルカナーゼを与えると、細胞の伸長生長が誘導されることがみつまっている (MASUDA and WADA, 1967)。グルカンは酵母菌と高等植物に共通している細胞壁成分であることに注意しよう。したがって、両者に共通なオーキシン反応の機構があるとすれば、グルカンの変化がこの中にふくまれている可能性が高い。酵母菌に β -1,3-グルカナーゼを与えたところ、1) の型の A2-0 は expand しないが、2) の型の KV2 や 3) の型の N55、A2-N102 は expand することがわかった (SHIMODA and YANAGISHIMA, 1968)。このことは A2-0 がオーキシンに反応しない理由として、細胞壁の性質がことなっていることを示している。私たちは、分離した細胞壁の β -1,3-グルカナーゼに対する反応にも A2-0 と A2-N102 の間に差があることを見出した (第4図)。また、化学的組成においても、この反応の差をうらづける差異があることを見出した。

3. 考 察

私たちは酵母菌におけるオーキシンによる変異誘導現象が、高等植物における細胞分化と関係がふかいことを示した。とくにオーキシンにより誘導されたオーキシン反応性変異菌は、オーキシン反応性のある高等植物細胞と生理学的性質が非常によく似ている。しかし、生理学的には、両者の性質が同じであっても、その背後にある遺伝学的な調節においても同じであるとはいえない。酵母菌は単細胞生物であり、高等植物と同じような細胞分化をおこす可能性はすくない。すなわち、高等植物の細胞分化が、細胞質因子の遺伝学的変化や、また、染色体レベルでの遺伝学的変異をともなっているとは考えにくい。酵母菌の場合には、オーキシンによる変異誘導の際には、染色体レベルでの変異が常におこっており、さらに細胞質因子の変化も高い頻度でおこっている可能性が高い。しかし、酵母菌の変異誘導においても、高等植物の細胞分化においても、永続的な遺伝情報の発現のし方

私達は最近酵母菌のホルモン反応性を決定している遺伝子を見出した。これらの遺伝子は接合能力にも関係しており、細胞壁の性質を調節しているものと考えられる。一方、生物学的活性のある RNA の生産が細胞質因



第4図 分離した細胞壁に対するキンカク菌 β -1,3-グルカナーゼの作用
A2-N102: オーキシン反応性変異菌
A2-0: オーキシンに反応しない母株
実線は酵素を加えた場合、破線は加えない場合

子に、すくなくとも一部分は、関連していることもあきらかになった。

以上の事実、私たちが酵母菌のオーキシンに対する反応を一定の遺伝子の活性の変化としてとらえることが出来る可能性をつよく示している。

察

の変化がみとめられる点では共通性がある。酵母菌の場合には、DNA の増加のし方のパタンの変化によって遺伝情報が変化し、高等植物では、遺伝子の活性の変化を通して遺伝情報の発現が変化している可能性が高い (BONNER, 1965)。DNA の増加のパタンと遺伝子の活性化の変化は分子のレベルでは関係が深い現象と考えられる (FRENSTER, 1966)。結局、植物ホルモンの酵母細胞に対する作用と高等植物細胞に対する作用は本質的には同じで、その表現のし方として、酵母菌では、DNA (遺伝子) 増加のパタンの変化としてあらわれ、高等植物では、DNA (遺伝子) の活性の変化としてあらわれにすぎないのかもしれない。そして、その結果その細胞機能の調節としては、両者とも同じような生理学的活性の変化をもたらすのではなかろうか。したがって、私たちは、ホルモンの DNA 分子のあり方に対する作用として、酵母菌の遺伝的変異誘導と、高等植物の細胞分化調

節を同じ次元でとりあげたいという希望をもっている。

4. 要 約

オーキシンの *Saccharomyces* 属酵母菌に対する遺伝学的生理学的作用を調べ、微生物の遺伝的変異と高等植物の細胞分化の関係を論じた。

高濃度オーキシン (100~600mg/l) は高頻度で細胞質突然変異、形態の変異を誘導する。この形態的変異菌は染色体レベルでの変異をとめない、遺伝形質の不規則分離、DNA 含量の増加、オーキシン反応性の変化、チトクローム系の変化を示した。

オーキシンに対する反応性をもっている変異菌はオーキシン作用において重要な低分子特殊 RNA をふくんで

いる。また、この変異菌は生物学的なオーキシンに対する反応のし方においても、オーキシン反応性の高い高等植物組織と多くの共通した性質をもっている。

酵母菌のオーキシン反応性は低分子特殊 RNA、細胞壁の性質などの変化と関係がふかい。低分子特殊 RNA は細胞質因子と関係がふかい、細胞壁の性質は核の遺伝子によって調節されていると考えられる。

オーキシンの酵母菌における遺伝的変異誘導作用と、高等植物の細胞分化を調節する作用は、基本的な機構においては、互に関連していると考えられる。

文 献

- BONNER, J. (1965) The Molecular Biology of Development. Clarendon Press, Oxford.
FRENSTER, J. H. (1966) In "Proc. Intern. Symp. Cell Nucleus—Metabolism and Radiosensitivity" 27-46.
増田芳雄 (1966): 植物の化学調節, 1: 135-144.
MASUDA, Y. (1959) Physiol. Plant., 12: 324-335.
MASUDA, Y. and YANAGISHIMA, N. (1965) Plant. and Cell Physiol., 6: 17-23.
MASUDA, Y. and WADA, S. (1966) Physiol. Plant., 19: 1055-1063.
MASUDA, Y., TANIMOTO, E., SHIMODA, C., KAMISAKA, S. and YANAGISHIMA, N. (1967) Plant. and Cell Physiol., 8: 221-225.
MASUDA, Y. and WADA, S. (1967) Bot. Mag. Tokyo, 80: 100-102.
NOODÉN, L. D. and THIMANN, K. V. (1963) Proc. Natl. Acad. Sci., 50: 194-200.
SHERMAN, F. (1963) In "Mécanismes de Régulation des Activités Cellulaires chez les Microorganismes". 465-479.
SHIMODA, C. and YANAGISHIMA, N. (1968) Physiol. Plant., 21: 1163-1169.
STEWART, F. C., KENT, A. E. and MAPES, M. O. (1967) In "Current Topics in Developmental Biology", 1: 113-154.
YANAGISHIMA, N. (1965) Physiol. Plant., 18: 306-312.
YANAGISHIMA, N. and MASUDA, Y. (1964) Plant. and Cell Physiol., 5: 369-372.
YANAGISHIMA, N. and MASUDA, Y. (1965) Physiol. Plant., 18: 586-591.
YANAGISHIMA, N. and SHIMODA, C. (1967) Plant. and Cell Physiol., 8: 109-119.
YANAGISHIMA, N., SHIMODA, C., KAMISAKA, S. and TAKAHASHI, T. (1968) Plant. and Cell Physiol., 9: 323-331.
YANAGISHIMA, N. and SHIMODA, C. (1968) Physiol. Plant., 21: 1122-1128.

日本発生生物学会第1回大会

The 1st Meeting of the Japanese Society of
Developmental Biologists

(Tokyo, May 18 and 19, 1968)

大会記事

会記(巻末)に詳しく述べられているような次第で、わが国の発生生物学研究者の新しい研究交流の場としての本学会の設立総会および最初の大会が立教大学を会場として開かれることになった。新学会設立準備が行なわれつつあるなかで、いっぽうでは定められた大会日程に間に合うよう諸準備をととのえなければならなかった。多くの困難があったが、ともあれ1967年12月28日、10数名よりなる最初の大会準備世話人会が林雄次郎教授(東京教育大学)によって招集され、翌年2月13日に第2回の世話人会が持たれて、大会日程を決定することが出来た。第1日(5月18日)には、新学会が広く関連各分野の研究者よりなることの意義を考慮して、設立総会後に、動物、植物および微生物を材料とした3題の発生生物学的研究に関する話題が記念講演として行なわれた。第2日(5月19日)は全員の研究発表のためにあてられた。講演募集に際して、ある程度選択してはという意向もあったが、選択より応募されたすべての講演が発表され討論されることが望ましく、時間的にも多少の延長で処理可能だという立場から、申し込み全講演(47題)が2会場にわけて行なわれた。より実のある大会とするため講演・討論の時間は可能な限り長く採りたかったが、時間の関係で15分講演・5分討論とした。この一般講演では下記の方々が座長として関連した研究3~4題を司会された。

第I会場: 林 雄次郎・古谷 雅樹・太田 行人・竹内 郁夫・増田 芳雄・柳島 直彦・天野 宏・山名 清隆

第II会場: 梶山 正雄・花岡謹一郎・毛利 秀雄・加藤 憲一・岡田 節人・黒田 行昭・日高 敏隆

以上のような大会プログラムに加えて、第1日目の夕刻に大会会場と同じ館の地階食堂で懇親ビール・パーティが、120名の出席者を得て開かれた。米田満樹博士(お茶の水大)の司会により、まず林雄次郎大会委員長の「くつろいでセル・コンタクトならぬヒューマン・コンタクトの場としたい」との挨拶があり、主催地立教大学の犬須賀潔総長の歓迎の挨拶と、これに対して学会側から市川衛博士の謝辞が述べられた。つづく丘英通博士の音頭による乾杯後、参加者はバロックのバックミュージックとともになごやかな雰囲気交互に語り合い飲みほし、午後8時閉会となった。パーティ出席者には学会設立を記念して立教大学マーク入りのアメ入りケースが進呈された。

いっぽう、第2日目一般講演終了後午後6時30分から、同じ館2階の大学院演習室で若手グループの会がもたれた。27名の参加者にとどまったので、各研究機関の代表者会議のようになったが、夏の勉強会のことや若い層の研究者の意向を学会運営にも充分反映させたいなどのことが話し合われた。この日夕刻から雨足がはげしくなり、午後8時30分過ぎには若手グループの会を終り、すべての会員の足音が雨の中に消え去って行った。

この最初の大会には、当日参加者が60名を含め280名にも達し予想以上の盛況であった。大会開催までの準備には東京教育大学の若手研究者が積極的に協力され、大会当日には東京地区の他の研究機関の方々にも助力していただいた。また、立教大学当局からも種々援助を受け、事務の方々が全面的に協力して下さった。開催地の立教大学では筆者が唯一の会員であったので、一人で会場の舞台裏方演出に当らねばならなかったが、多くの方々の御協力があって大切な設立最初の大会を盛会に終えることが出来た。これらの方々へ深く感謝の意を表したい。

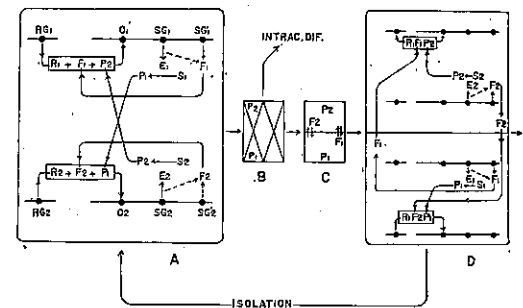
(織田秀実 記)

JACOB-MONOD モデルから導かれる一つの系

中沢 信午(山形大学 理学部 生物学教室)

細胞分化に関する JACOB-MONOD モデル¹⁾にしたがって、多細胞体の分化を説明するには、細胞によって異なる遺伝子の差異活動によらねばならない。そのためには、遺伝子活動を誘導または抑制する酵素、基質、反応生成物などの濃度が細胞によって特異的であればよい。そして、これを生ずる原因としては、外因に対する細胞同士の差異接触、あるいは内的な物質の差異配分のメカニズム(おそらく極性にもとづく)があればよい。第1図はこのありさまを示している。構造遺伝子 SG_1 の生産した酵素 E_1 が、基質 S_1 に作用して、反応生成物 P_1 をつくり、それが、他の構造遺伝子 SG_2 の作動遺伝子 O_2 の作動を抑制する調節遺伝子 RG_2 から生じたリプレッサー R_2 の補リプレッサーとなる。すなわち、 SG_1 が活動すると SG_2 が不活化する。同様に SG_2 が活動すると SG_1 が不活化する。ここで、たとえば P_1, P_2 が遺伝子の場合から引きはなされて、細胞内の特定部域へ濃

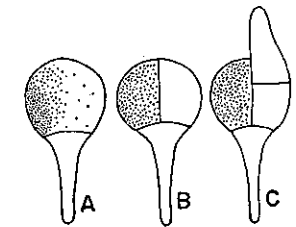
その結果 E_1 は生じない(第1図D)。こうして両細胞は互いに分化したのである。実例として、シダの配偶体で、仮根細胞はコルヒチンに感受性が低く SH に感受性の高い原形質からなり、原糸体細胞は反対に SH に感受性が低くコルヒチンに感受性の高い原形質からなり、おのおの独自の分化をとげるなどがある。 E_1, E_2 または P_1, P_2 の生産にあたって、第二生成物としてそれぞれ F_1 および F_2 が生じ、これらは細胞から細胞へ拡散し、 F_1 は R_1 の、 F_2 は R_2 のイフェクターとなるならば、もし細胞または組織が隣接部域から分離されると、脱分化して出発点へもどり、第1図Aとおなじ性質をおびてくる。これは再生である。 F_1, F_2 は遺伝子の直接の産物か、あるいは二次の生成物か、またはタンパク合成にとり残されたアミノ酸などが、現段階ではまだこれを指摘できない。この調節の例として、シダの前葉体細胞1個を単離すると分化の再出発をし²⁾、また原形質分離するとそこにもう一つ前葉体が生ずる³⁾ など、および一般に再生の現象がある。



第1図 JACOB-MONOD モデル濃度勾配と隣接細胞からのイフェクターをいれた分化の説明(本文参照)

度勾配をなして集まると(第1図B)、細胞分化が起こり、 SG_1, SG_2 は活性化して E_1, E_2 の生産はつづけられる。カサノリの形態形成物質が頂端部に集まって、キャップの分化がはじまり^{2,3)}、フークスの卵に仮根分化がおこるときに RNA が集まる⁴⁾ のはこの例である。

つぎにこの濃度勾配と垂直な面で細胞分裂すると、第1図Cのように、姉妹細胞はそれぞれ別の物質について高濃度にこれを含むことになる。そこで、一方の細胞では P_1 の濃度が高いから SG_2 が不活化し、 E_2 は生じない。しかし E_1 は生ずる。他方の細胞では E_2 が生じ、



第2図 スギナの胞子発芽における gossypitrin (点々)の差異分布。

以上の仮説を一般的につぎのように表現できる。遺伝子型の均一な生体の二つの領域AとBの素領域を、それぞれ dA, dB とし、これら領域に分布して二つの相異なる遺伝子活動を制御する補リプレッサーを、それぞれ x, y とし、おのおののイフェクターを f_x, f_y とするとき

$$(dA - dB) \cdot xyf_xf_y = 0 \text{ すなわち} \\ dAxyf_xf_y - dBxyf_xf_y = 0$$

の関係があるときは、 x と y の分布が均一で分化はおこらない。しかし

$$\left(\frac{dA}{y} - \frac{dB}{x}\right) \cdot xyf_xf_y \quad (\text{ただし } a \neq 0)$$

Singo NAKAZAWA: A corollary from JACOB-MONOD's model of cytodifferentiation.

の関係があれば、AとBの間に補リプレッサーの分布が不均一で、AとBは分化する。すなわち分化の条件として、A領域は y を、B領域は x を排除する性質が必要である。上の関係は一般に細胞分化の原因と状態とをあらわすに便利な方程式である。またこの式は2重勾配説に有利であるが、 $y=1$ とおけば単一勾配説がみちびかれる。

スギナ *Equisetum arvense* の胞子は内部に均一に分布するフラボノイドの1種 gossypitrin をもっている。この物質は1MのKOHを加えるとオレンジ色に発色し、その分布を知ることができる。胞子発芽後に原糸体細胞が1個のときに、この物質は濃度勾配をつくり(第2図A)、やがて2細胞に分裂すると、一方の細胞だけが高濃度にこれを含み(第2図B)、この物質の少ない方だけが生長して前葉体の起原となる(第2図C)。一方

において、この物質は各種の植物細胞に生長阻害効果をもっている。たとえば120~50 μ g/ml濃度でスギナ胞子、モエジマンダ胞子などは生長を阻害される。

精製 gossypitrin の試料を提供いただいた静岡大学農学部の中林敏郎博士に感謝します。

文 献

- (1) JACOB, F. and MONOD, J. 1963: Cytodifferentiation and Macromolecular Synthesis. ed. by M. LOCKE, Academic Press, N. Y. pp. 30-64.
- (2) HÄMMERLING, J. 1953: Intern. Rev. Cytol., 2: 475-498.
- (3) WERZ, G. 1959: Planta, 53: 502-521.
- (4) NAKAZAWA, S. 1966: Naturwiss., 53: 138.
- (5) ITO, M. 1960: Bot. Mag. Tokyo, 73: 276.
- (6) NAGAI, I. 1914: Flora, 106: 281-330.
- (7) NAKAZAWA, S. 1963: Sci. Rep. Tohoku Univ. 4th Ser., 29: 247-255.

先に、イトメ卵で細胞の分裂と分化が卵割前の卵細胞質の分極と分布に依存していることを報告した(OSANAI, 1966, 1967a, b)が、その作用機構はまだ不明である。ウニ卵で強い遠心力によって細胞質の分布状態を変えたとき胚軸に変更が起り、同時に求心側と遠心側の割球で分裂活性が異なることが知られている(PLEASE, 1939; MOTOMURA, 1946, 1949; HARVEY, 1956; KOJIMA, 1959)。そこで、細胞の分裂と分化を規制する細胞質要因の解析を進めるための材料としてウニの遠心処理胚が利用できるであろうと考え、バフソウニ *Hemicentrotus pulcherrimus* を使って遠心処理実験を試みた。遠心にはマルサン高速遠心機30-1型を使用した。1M蔗糖溶液を遠心管の底に入れ、その上に海水を重ねたものに未受精卵を入れ、12,000gで20~25分間遠心した。また、卵を切断することを目的としたときは未受精卵を1M蔗糖溶液6容と海水4容の混合液内で同様に遠心した。これによって2~4個の卵片に分かれ、卵核は求心側の卵片に含まれる。これらの遠心処理または卵片を正常海水にもどして媒精し、その発生を観察した。

遠心処理胚の発生 核の機能および分裂能力が細胞質依存性であれば、細胞質構成の異なる卵片間で卵割速度に差のみられることが期待される。一般に、遠心側の卵片では卵割を進行するものが少なく、第一卵割の開始が遅れる。これは受精が抑制されたためではなく(受精膜形成は大部分のものでみられる)、第一卵割に至るまでの発生変化、特に精核の膨潤と分裂装置の発達が抑制されるためである(第1表)。求心側の卵片では第一卵

第1表 遠心力によって切断された卵片の分裂能力

	遠心卵片	求心卵片
受精膜形成率(%)	92	98
卵割率(%)	38	93
第一卵割までの時間*(分)	116	104

* 卵割したもののうち50%が分裂を始めるまでの媒精後の時間

割はほぼ正常に進行するが、求心端の割球ではその後の卵割が遅れるか停止する。一方、遠心側の割球は分裂を続けるため、大型の細胞は求心端に残ることになる。切

Kenzi OSANAI: On the giant nucleus in the centrifuged embryo of the sea urchin.

長内 健治(東北大学 理学部 生物学教室)

断を起こさない遠心処理卵も求心卵片とほぼ同様の発生経過をとり、求心端に大型細胞を生じる。大型細胞は胚期には植物極側に位置し、囊胚期には外胚葉の植物極側に留まるか、割腔内に落込んで大型の間充細胞となる。

大型細胞における核の巨大化 大型細胞の核は他の細胞の核に比べて著しく大きくなる。受精48時間後に固定した遠心処理胚の切片について核の容積を測定した結果は次のようであった(単位 μ^3)。

巨大核(大型間充細胞)	59.5~143.7
正常な外胚葉細胞の核	9.2~19.9

しかも、これらの巨大核はHEIDENHAINのヘマトキシリンに強い親和性を示した。従って、この核の巨大化は核が単に膨潤したためではなく、核内物質の増加を伴っているものと考えられる。そこで、核物質を組織化学的に検出するために、DNAのためのFEULGEN染色および塩基性蛋白質のためのアルカリ性ブロムフェノール青染色を行なった。

未受精卵を遠心処理後正常海水に移して媒精し、20~44時間後にCARNOY液またはBOUIN液で固定、パラフィン切片とし、FEULGEN法によって染色した。巨大核は正常な核と同様明瞭なFEULGEN陽性反応を示した。顕微鏡写真装置に光度計を設置した簡単な装置(OSANAI 1966)で顕微測光をおこない、FEULGEN反応陽性物質の相対含量を推定した。その結果、巨大核の核1箇あたりのDNA含量は他の正常な大きさの核に比べて著しく高いことが明らかとなった(第2表)。従って、巨大核はDNAの増殖が進行するにもかかわらず、その分離分配が妨げられることによって生じたものと考えられる。

核内塩基性蛋白質を検出するため、BOUIN液固定材料

第2表 遠心処理胚の核のFEULGEN反応陽性物質の相対含量

	吸光度 (d/μ)	核の容積 (μ^3)	相対含量
巨大細胞核	.020	310	6.20
	.014	176	2.46
外胚葉細胞核	.013	34	0.44
	.013	40	0.52
	.011	45	0.49
間充細胞核	.021	26	0.53
	.033	11	0.36

の切片を5%三塩素酢酸溶液で前処理(95°C, 15分間)後0.01%ブロムフェノール青の0.035M硼酸緩衝液(pH 8.3)で染色した(RINGERTZ and ZETTERBERG, 1966 による)。正常な細胞核では明瞭な陽性反応を示すが、巨大核は陰性が極く弱い反応しか示さなかった。すなわち、DNAは増加するにもかかわらず、塩基性蛋白質はこれに平行して増加していない。細胞質はすべて一様に弱く呈色し、大型細胞と他の細胞との間で分布状態に差がみられない。この結果はこの場合にも核の機能の調節に核内塩基性蛋白質が関与している可能性を示唆するものである。

核の巨大化をもたらす細胞質要因 KOJIMA (1959) はウニ遠心処理胚における大型細胞の成因はある種の生体染色顆粒が求心細胞に欠けているためにおこる分裂活性の低下にあるとしたが、核の巨大化にはあてはまらない。核の巨大化に關与する細胞質要因を探るため遠心処理胚の切片について染色分析を試みた。過沃素酸SCHIFF法によって、細胞質の大形顆粒(卵黄顆粒)が強く呈色するが、大型細胞と正常細胞との間でこの顆粒の分布に明瞭な差は認められない。トルイジン青で染めたとき、これに陽性な比較的大型の顆粒が大型細胞内に密に分布しているのがみられた。

遠心処理胚において、求心端の割球が大型細胞として残り、その核が倍數化して巨大核となることおよびこれらの大型細胞が陥入した場合に中胚葉細胞になることは、昆虫類の内胚葉細胞で染色体の多系化がおこるこ

と、軟体動物や環形動物の中胚葉が大割球(D細胞)に由来することなどと考え合えると興味深い。大型化した核が特別な機能をもつものかどうかは今後の課題である。MOTOMURA (1946, 1949) はウニの卵軸の決定因子は皮部細胞質にあるとしたが、分化における皮部細胞質の役割も今後さらに研究さるべき問題であろう。従って、ウニの遠心処理胚は細胞の分裂と分化に關連する皮部細胞質、内部細胞質および核の間の相互關係を追求するために適した系の一つであると考えられる。

以上の結果から、遠心処理によるある種の細胞質要因(例えばトルイジン青陽性顆粒のようなもの)の不等分布の結果、核物質の分離分配が抑制され、核の倍數化がおこるものと推定され、これに核内塩基性蛋白質が何等かの關係をもつ可能性が予想される。

文 献

- HARVEY, E. B. (1956) The American Arbacia and Other Sea Urchin. Princeton Univ. Press.
 KOJIMA, M. K. (1959) Embryologia, 4: 191-209.
 LINDAHL, P. E. (1932) Roux' Arch., 127: 323-339.
 元村 勲 (1946) 生物, 1: 193-200.
 MOTOMURA, I. (1949) Sci. Rep. Tôhoku Univ. Ser. IV (Biol.) 18: 117-125.
 OSANAI, K. (1966) *ibid.*, 32: 219-228.
 OSANAI, K. (1967a) *ibid.*, 33: 121-128.
 OSANAI, K. (1967b) *ibid.*, 33: 163-174.
 PEASE, D. C. (1939) J. exp. Zool., 80: 225-274.
 RINGERTZ, N. R. and A. ZETTERBERG (1966) Exp. Cell. Res., 42: 243-259.

哺乳類卵の初期発生に関する研究

1. 猿 (*Macaca mulata*) 卵胞卵の *in vitro* における培養と培養卵胞卵の受精能について

飯塚 理八・鈴木 秋悦・近藤 慶明 (慶応義塾大学 医学部 産婦人科学教室)

最近、われわれは、哺乳類の卵巣内における卵子の成熟分裂から、排卵、受精、さらに、受精卵の分割から着床に至る、哺乳類卵の初期発生に関する研究を行ってきたが¹⁻⁵⁾、本学会では、これらの研究の中から、特に、*in vitro* における猿卵胞卵の培養と、培養成熟卵の受精能についての検討に関する知見を報告する。

哺乳類の oögonia は、数回にわたる mitotic divisions を胎仔(児)卵巣内で行ない、出生時、germ cells はすでに first meiotic prophase の時期に入っている。生後、oocyte の核は late prophase のまま、排卵前まで休止期にとどまる。受精への準備態勢に入った卵胞卵は成熟を続け、第1極体の分離で first meiotic division を終る。Second meiotic division は、metaphase にとどまり、排卵および精子貫入後において、初めて、さらに分裂過程をすすめる。性腺刺激ホルモンと、卵胞卵の成熟分裂過程との相関については多くの報告がなされている。しかし、卵を卵胞外に取り出して、組織培養液等の medium 中で培養しても、*in vivo* におけると同様の成熟過程が認められることも報告されている。

われわれは、*Macaca mulata* 種12匹の猿の卵巣を両側、手術的に摘出し、卵巣組織中より143の卵胞卵を得た。これらの卵を、主として Waymouth 培養液 (Baltimore Biological Laboratory) および同種猿血清 (5~10%) 中で培養、24, 46-48, 68, 72時間後の形態学的変化について分析した。培養卵は acetic lacmoid にて染色、位相差顕微鏡を用いた。

その結果、採卵直後に形態をしらべた52の卵子の核は、すべて休止期、すなわち、vesicular 期にあって、偏心性の比較的大きい核は、明瞭な核膜によって囲まれていた。24時間培養後の27卵では、15卵は休止期にとどまったが、10卵は diakinesis、2卵は metaphase II にあり、成熟過程に入っていた。46-48時間培養後では、8卵は依然として休止期にあったが、5卵は diakinesis、

他の34卵は第1および第2の metaphase 期まで進んでいた。68時間後では、2卵が休止期、8卵が第1および第2の metaphase 期にあった。さらに、72時間後では、7卵中3卵は diakinesis 期、残りの4卵は metaphase 期であった。

これらの卵胞卵は、月経周期の種々の時期に採卵されたもので、採卵の時期と *in vitro* における培養成熟過程の間には相関は認められなかった。

猿卵胞卵についての報告としては、CORRER⁶⁾, ALLEN⁷⁾等の古い報告以来、ほとんどないが、最近、EDWARDS⁸⁾が Rhesus monkey を含む各種哺乳類卵胞卵を *in vitro* で培養した結果、猿卵胞卵を培養して第1極体が分離するまでには、約30時間を要すると報じている。

われわれの実験では、極体分離までの所要時間は、まちまちであったが、培養後46-48時間では、47卵中26卵に極体の分離を認めている。すなわち、46時間培養後では卵胞卵の79.7%が meiosis の postdictyate 期まで成熟していることを知った。

卵子は排卵直前に受精への準備態勢を完了するのが一般であるので、体外培養法によって受精への準備に入った卵の受精能の検討は、本実験の目的からも重要であり、引きつづき、主として *in vivo* において、その可能性を検討した。

受精現象について報告されている最近の研究では、そのほとんどが卵管内より採卵された排卵後の卵であり、卵胞卵の受精能についての報告は少ない。

正常月経周期を有する *Macaca mulata* 種の猿を用いた。月経周期第12日目に、phencyclidine 麻酔下で開腹、1側の卵巣の部分的切除術楔状を行なった。摘出卵巣組織中の比較的大卵胞を dissect out し、卵をとり出す。顆粒膜細胞の裸出した卵は、atretic follicle からの採卵として培養実験より除外した。培養液は、最初の実験と同様に、Waymouth 培養液と、猿血清を用いた。培養器は Falcon の plastic tissue culture dish (35×10mm) を使い、5% CO₂ in air 下で、48時間培養した。48時間培養卵を、月経周期第14日目の同一猿の卵管内にポリエチレン管を用いて移植した。この猿に対しては、月経周期第13日、14日の両日にわたり、同種の雄猿

Rihachi IZUKA, Shuetsu SUZUKI and Yoshiaki KONDOH: Early embryonic development of mammalian ova. 1. Maturation of monkey ovarian follicular oocytes *in vitro* and the fertilizability of cultured oocytes.

Table I. Duration of culture and maturation stages of oocytes *in vitro*

	Experiment No.											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Cycle day	9	9	8	10	15	11	21	10	15	17	6	12
No. of oocytes studied	5	8	7	18	4	12	28	16	15	11	14	5
Duration of culture (hr.)*	0	5/V	5/V	2/V	6/V	2/V	4/V	8/V	4/V	6/V	5/V	4/V
24			1/D	2/V	1/D	2/M ₂	1/V	4/V	3/V	2/V	1/V	2/V
46-48			2/M ₂	1/V	1/V	1/D	2/V	1/V	1/V	1/V	1/V	1/M ₂
68				1/D	3/D	4/M ₂	3/M ₂	1/M ₂	2/M ₂	3/M ₂	5/M ₂	3/M ₂
72				2/V	1/M ₂		3/M ₂	2/M ₂				
				1/M ₂	3/D					1/M ₂		2/M ₂

*No. of oocytes examined/maturation stage: V, Germinal Vesicle; D, Diakinesis; M₁, Metaphase I; M₂, Metaphase II.

Table II. Developmental stages of maturation among 143 oocytes recovered at timed intervals in culture in 12 separate experiments

	Duration of culture (hr.)				
	0	24	46-48	68	72
No. of oocytes studied	52	27	47	10	7
No. of oocytes/stage of development*	52/V	15/V 10/D 2/M ₂	8/V 5/D 3/M ₁ 26/M ₂	2/V 3/M ₁ 5/M ₂	3/D 1/M ₁ 3/M ₂

*V, Germinal Vesicle; D, Diakinesis; M₁, Metaphase I; M₂, Metaphase II.

より電氣的刺激法によって受精された精子の人工授精を施行した。移植1～2日後に再開腹し、卵管内より培養移植卵を取り出して、その受精完了の有無について検討した。卵の染色は acetic lacmoid を用いた。

その結果、14匹の猿卵巣組織から採卵した74の卵胞卵を48時間培養、内57卵を卵管内に移植した。移植24時間後では、16卵中11卵(68.9%)を回収、48時間後では41卵中20卵(48.7%)を回収した。24時間後に回収された11卵中6卵は、明らかに未受精卵で、2卵は退化変性を行っており、2卵は二つの極体を有し、1卵は二つの前核を有していた。48時間後に回収された20卵中では、9卵は明らかに未受精卵、6卵は退化変性卵、3卵は二つの前核を有し、2卵は2分割卵であった。

以上の結果、培養卵の受精能は必ずしも良くなく、受精率は低い、その理由として幾つかが考慮される。すなわち、*in vitro* で培養した卵の移植の時期が適当であるかどうかという問題、cytoplasmic maturation が充

分であるか否か、培養卵移植時の卵管環境が受精に最良の条件を具備しているか等の問題が残されており、今後の研究によって受精率は上るものと思う。

謝辞 野嶺幸雄教授の御指導に深謝致します。

文 献

- 1) SUZUKI, S. and MASTROIANNI, L. (1965) Am. J. Obst. Gynec., 66 : 235.
- 2) SUZUKI, S. and MASTROIANNI, L. (1966) Am. J. Obst. Gynec. 96 : 723.
- 3) SUZUKI, S. (1966) Cytologia, 31 : 416.
- 4) 鈴木秋悦 (1967) 第7回 日本先天異常学会総会シンポジウム“初期発生における諸問題”体外培養法による哺乳類卵の発生.
- 5) SUZUKI, S. and MASTROIANNI, L. (1967) : Ann. Meeting of the American Fertility Society, Washington, D. C.
- 6) CORNER, G. W. (1923) Contrib. Embryol. 15 : 73.
- 7) ALLEN, E. (1928) Anat. Rec., 37 : 351.
- 8) EDWARDS, R. G. (1965) LANCET, 2 : 926.

ウキクサ *Spirodela polyrrhiza* の分芽体形成について

高村 毅一(北海道大学 理学部 植物学教室)

平田 政由(東奥保育専)

ウキクサについての生理学的¹⁻³⁾あるいは生態学的⁴⁾

研究は多いが、形態学的な知見としては ENGLER の分類学的意味での記録を除けば報告をみない。この種類の栄養繁殖である分芽体の形成様式と発生について調査観察を行なった。

材料の *Spirodela polyrrhiza* (L.) SCHLEID は、弘前で採集し、YOSHIMURA の液²⁾を用い、25°C、10時間照明(約2,000ルクス)で培養した。観察には培養によって新しく形成されたものを初発材料とした。検鏡に当っては一般的なパラフィンセクション法により、染色には HEIDENHAIN の haematoxylin および fast green を用いた。

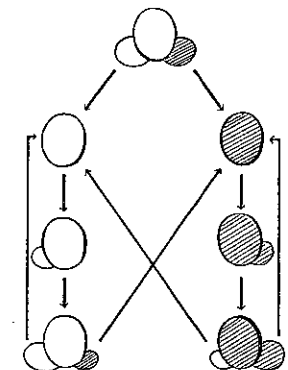
1) colony の形成

この種では、母体の成長帯の左右にもうけられた pockets の中にそれぞれ1個ずつの分芽体が形成され、いわゆる colony を形成する。やがて娘体は母体より離れて新しい colony を形成するが、その母体の pocket 内では次の娘体の形成が進められ、改めて colony を作る。上記の条件では、同一 pocket 内において少なくとも4個の娘体が再生的に作られる。母体から離れた娘体は、分離直前にすでに新しい分芽体とその pockets の中で成長している。しかし、1成長帯の両側に形成される2個の分芽体の成長は一致しておらず、その形成は片方において常に遅れる。その順序は、Fig. 1に示すように、母体の右側に形成された個体は右側より、左側に形成された個体は左側より、次の分芽体形成を始める type であることが知られた。

2) 分芽体の発生

分芽体は母体の成長帯の皮層部の細胞より分化するが、やがてその新分芽体の基部近くの細胞が特に分裂をくり返し、その分芽体が先に娘体を形成すべき側の娘体の原基となる。同様に、上記の培養条件では、分芽体が母体から離れる直前にはすでに5代目までの若い分芽体およびその原基の形成が竹の子式に進められていることが観察された(Fig. 2)先の項で述べた再生的に形成される分芽体の発生および増殖の様式についても同様であることが認められた。

Kiichi TAKAMURA and Masayoshi HIRATA : On the frond formation in *Spirodela polyrrhiza*.

Fig. 1 Scheme of frond formation of *Spirodela polyrrhiza*.

The shaded portions are right-handed fronds, the white portions are left-handed fronds.

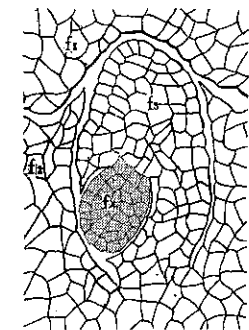


Fig. 2 Outline of longitudinal section of young frond.

3) 水根および根のうの形成

この種では、各分芽体の裏面に、その成長帯より数本の水根を形成する。水根の原基はその分芽体が母体の pocket 内にとどまる間にすでに分化し、分芽体が母体から離れる頃には急速に伸長し、分離後も完成する。

最初原基を被っていた表皮は、水根の伸長と共に押し延ばされ80μ前後まで伸長したところでちぎれるように分かれ、一部分は根しようとしてその基部に残り、一方は水根の完成後もその先端部を被い、いわゆる根のうの形態をとる(Fig. 3)。

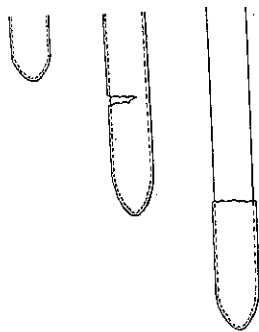


Fig. 3 External features of developing root of *Spirodela polyrrhiza*.

謝 辞

本研究に対し、御指導頂いた弘前大学理学部生物学教室の皆様にお礼を申し上げますと共に、観察結果の検討に際し、特に御教示を賜った北大理学部植物学教室の原田

市太郎教授に深謝します。

文 献

- 1) SAEGER, A., (1937) Amer. J. Bot., 24 : 640.
- 2) YOSHIMURA, F., (1941) Bot. Mag. Tokyo, 55 : 163.
- 3) YOSHIMURA, F., (1943) ibid., 57 : 156.
- 4) YOSHIMURA, F., (1943) ibid. 57 : 319.
- 5) GORHAM, P. R., (1943) Amer. J. Bot., 32 : 496.
- 6) YOSHIMURA, F., (1946) Bot. Mag. Tokyo, 59 : 1.
- 7) YOSHIMURA, F., (1950) ibid., 63 : 63.
- 8) BITCOVER, E. H. and SIELING D. H. 1951 : Plant Physiol., 26 : 290.
- 9) MIYAWAKI, A., (1960) Sonderdruck aus Mitteilungen der Floristischsoziologischen Arbeitsgemeinschaft N. F. Heft 8 : 127.
- 10) IKUSHIMA, I., (1962) Physiol. Ecol. Kyoto, 10 : 130.
- 11) ENGLER, A., (1877) Nova Acta Ksl. Lop. Carol., Deut. Akad. Naturf., 39 : 159.

Coleus blumei の茎の wound vessel member の形成に対する糖類並びに植物生長調整物質の効果

馬場 三吾(京都大学 理学部 植物学教室)

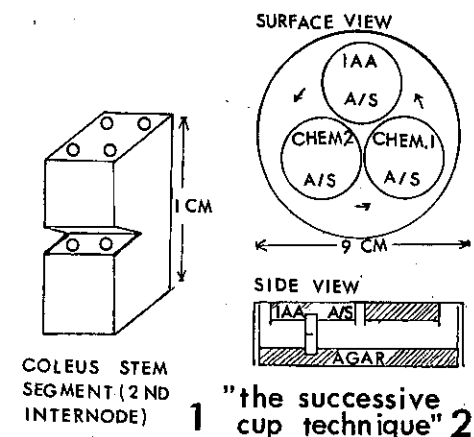
Coleus blumei の若い茎の節間は維管束の配列が簡単なので形態形成や組織培養などの研究に用いられている(HEPLER and NEWCOMB, 1963; ROBERTS and FOSKET, 1962, 1964) これに傷をつけると、柔組織の細胞の一部に脱分化、再分化が起こり、独特の cell wall striation があり、かつ単一の穿孔で隣りあう同種細胞と連絡する木化細胞、すなわち wound vessel member (WVM) が生じる。この WVM の形成に糖や生長調整物質がどのように関与するかを検討した。

材料および方法

Coleus blumei の茎の第2節間を用いた。まず植物自体による生長調整物質の生成を防止するため、生育中の植物のすべての葉、頂芽およびえき芽を除去した。それより48時間後に供試すべき茎の部分を切り取り、つぎの方法で無菌的に培養した: 1% sodium hypochlorite の水溶液で滅菌した茎を長さ1cmに切り、その segments の中央で、茎の四すみに一つずつある維管束のうち二つを切るに必要な深さの transverse wound を与えた(第1図)。segments は特殊なベトリ皿(第2図)に移し、segments の上端は 1% agar または、つぎに述べるような物質を含む 1% agar で包埋され、segments の基部は 1% agar に包埋された("The Successive Cup Technique" ROBERTS and BABA, 1968a, b)。agar に加えて segments の上端に与えられた物質およびその組合せはつぎのようである。

(1) 1% agar のみ。(2) 2% sucrose, 2% glucose, 2% galactose のいずれか一つ。(3) 2% sucrose, 2% glucose, 2% galactose のいずれか一つに 3-indoleacetic acid (IAA) を 5 ppm 加えたもの。(4) 2% sucrose と IAA (0.05 ppm~100 ppm)。(5) 2% sucrose と gibberellin (GA) (0.01 ppm~100 ppm)。(6) 2% sucrose と kinetin (K) (0.01 ppm~10 ppm)。(7) 2% sucrose と 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (24D) (0.01 ppm~5 ppm)。

Sango BABA : Effects of sugars and plant growth regulating substances on wound vessel member formation in the vegetative shoots of *Coleus blumei*.



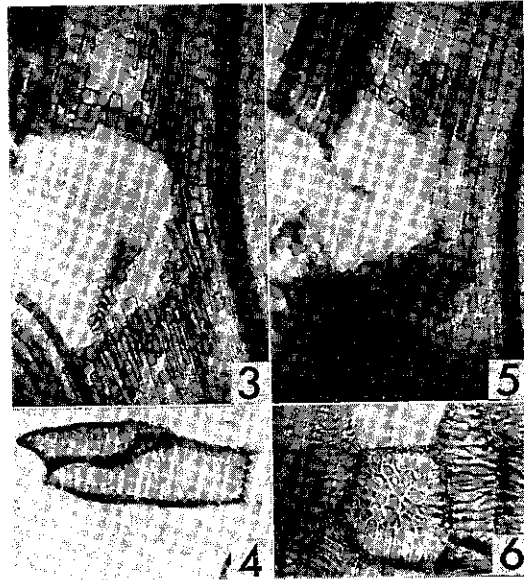
第1図 *Coleus* の第2節間の transverse wound
第2図 The Successive Cup Technique の容器
AGAR は 1% agar ; A/S は 2% sucrose を含んだ 1% Agar ; IAA, CHEM. 1, CHEM. 2 は A/S に含まれている物質名を仮に示す。

このようにした segments を、23°C 暗黒下で一定期間培養し組織を sodium hydroxide-chloral hydrate method (ROBERTS and FOSKET, 1962) で透明にし、safranin O の水溶液で染色して、解剖顕微鏡下で longitudinal section を作り WVM の形成状態を観察した。

結果と考察

segments の上端に与えた物質が (1) 1% agar のみの場合は、14日間培養しても WVM は全く形成されなかった。(2) 2% sucrose, 2% glucose, 2% galactose のいずれか一つの場合は、14日間培養すると少ないが WVM が形成された。(3) これらの糖類の一つと 5ppm IAA の場合は、6日間培養するとすべての場合に非常に多くの WVM が形成された。これら事実から WVM の形成には sucrose, glucose, galactose などの糖類の添加が重要条件の一つであることがわかる。また、使用した糖類では WVM の形成に対する効果に著しい差がない。(4) IAA の場合は、6日間培養すると、その濃度が 0.05 ppm, 0.1 ppm, 1 ppm, 5 ppm と順次増加するにつれて形成された WVM 数は増加したが、5ppm と 10 ppm では WVM の数に著しい差が見出されな

った。それ故 WVM を形成する IAA の最適の濃度はほぼ 5 ppm~10 ppm にあると考えられる。5 ppm IAA の場合に形成された WVM を(第3図)に示す。これ



第3図 5ppm IAAを与えた segment の transverse wound の longitudinal section 左側に培養直前に傷つけた維管束の一部がみえる (X94)
第4図 普通にみられる WVM の側膜模様 (X500)
第5図 0.2ppm 24Dを与えた場合 第3図と同じ部位 (X94)
第6図 異常な形態を示す WVM の側膜模様 (X500)

らの結果は木部の分化と auxin との間に関連があるという報告 (JACOBS, 1952 etc.) と矛盾しない。100 ppm では WVM の形成は著しく阻害された。IAA により形成された大部分の WVM の cell wall striation の形態は、第4図に示すように側壁に正常な肥厚を有するが、これは正常に生育している *Coleus* の茎を傷つけたときに出来るものとほぼ同様であった。

(5) GA の場合は 0.01 ppm, 0.2 ppm, 1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 100 ppm のいずれの場合においても WVM はほとんど形成されなかった。

(6) kinetine の場合は、10 ppm, 5 ppm, 1 ppm では

全く WVM は形成されなかった。0.1 ppm, 0.01 ppm と順次濃度がうすくなるにつれて形成される WVM の数は多くなったが、0.01 ppm でも IAA 0.05 ppm ほどは形成されなかった。

(7) 24D の場合は 5 ppm では WVM は形成されなかったが 1 ppm, 0.2 ppm と順次濃度がうすくなるにつれて形成される WVM の数は多くなった。0.2 ppm の 24D による WVM 形成を第5図に示す。この濃度では、上に述べた IAA 5 ppm とほぼ等しい数の WVM が形成された。0.01 ppm の場合は著しく少ない数の WVM が形成された。それ故 WVM の形成を促進する 24D の最適の濃度は 0.2 ppm の辺りにある。0.2 ppm の 24D により形成される多数の WVM の中には形態上細胞の側膜の肥厚が第6図に示すように異常になるものが IAA の場合よりも若干多く見出された。24D は植物体内では IAA と異った代謝をするにもかかわらず、WVM の形成に対する効果が IAA に似ているという事実は非常に興味がある。

謝 辞

本研究の一部分は1967—1968年度の FULBRIGHT professor として来日した Prof. Dr. LORIN W. ROBERTS (Univ. of Idaho, U. S. A.) との共同研究として行なわれたものであり、The U. S. Educational Commission in Japan の援助、ならびに文部省科学研究費の援助を得たものである。

文 献

- HEPLER, P. K. and NEWCOMB, E. H. (1963) J. Exp. Bot., 14 : 496-503.
JACOBS, W. P. (1952) Amer. J. Bot., 39 : 301-309.
ROBERTS, L. W. and FOSKET, D. E. (1962) Bot. Gaz., 123 : 247-254.
ROBERTS, L. W. and FOSKET, D. E. (1964) Amer. J. Bot., 51 : 19-15.
ROBERTS, L. W. and BABA, S. (1968a) Plant and Cell Physiol., 9 (In press.)
ROBERTS, L. W. and BABA, S. (1968b) Plant and Cell Physiol. 9 (In press.)

シャジクモ卵胞子の発芽におけるファイトクローム系の関与

鷹取 晟二 (岡山大学 教育学部 生物学教室)

今堀 宏三 (大阪大学 教養部 生物学教室)

シャジクモ植物は非常に巨大な細胞を有する点で藻類の中でも甚だ特異な存在であるが、このような巨大な細胞を形成し、その機能を円滑に維持していくためには、細胞内部ばかりでなく外部環境とも特別に密接な関連をもちつづけているものと思われる。それ故、その発生物育過程に対する環境要因の影響を調べることは形態形成機構を知るのに重要な手がかりとなるが、これに関する研究は少ない。初期発生とくに卵胞子発芽に関しては PROCTOR^{6,7)} や FORSBERG¹⁾ らが種々の環境要因の影響を調べているが、光の効果については明条件下で卵胞子の発芽率が高いという簡単な報告があるに過ぎない^{1,7)}。

本研究はシャジクモ卵胞子の発芽に対する光の影響を明らかにする目的で行なわれた。

材料および方法

自然乾燥したヒメカタシャジクモ *Chara delicatula* の卵胞子を用いた。あらかじめ付き培養ガラス器の底部に加圧滅菌した1.2%の寒天床をつくっておき、その

上に滅菌蒸留水を加えてから、寒天上に1%次亜塩素酸ナトリウム液で15分間浸し滅菌水でよく洗った卵胞子を選び、種々の光条件下においた。

光源には赤色光—近赤外光照射実験の場合のみ白熱灯を用い、その他の場合はすべて昼光色蛍光灯を用いた。単色光照射実験のためには赤・青・緑の各プラスチックフィルターと近赤外光用の色ガラスフィルターを用いた。

実験はすべて 20°C の恒温室で行なった。

結 果

卵胞子を水に浸してからすぐ白色光の連続照射下 (約 500 lux) におくと、卵胞子の発芽に要する日数にはかなりの差異があるが、早いものでは10日頃より発芽を開始し、日数の経過とともに徐々に発芽率が上昇し、ほぼ35日で定常状態に達した (第1表)。しかし、暗条件下ではあまり発芽がみられなかった (第1表)。

はじめ暗条件下においたのち明条件に切り換えた場合

第1表 卵胞子の浸漬日数と発芽率 (%)

浸漬日数	7	11	14	18	21	25	28	32	35	42
光 条 件										
白色光連続照射	0	0.2	0.7	2.5	4.6	7.7	10.2	11.6	12.0	12.0
暗 黒	0	0	0	0.5	0.6	0.8	1.3	—	1.5	1.5

には、暗条件期間が長いほど発芽開始は遅延した。しかし、露光してからの日数と発芽率の関係を調べてみると、暗条件期間が10日以上経過した卵胞子では、暗条件

期間の長さとは無関係に明条件に切り換えてはば4日後より発芽の開始がみられ、徐々に発芽率の上昇を示した (第2表)。

単色光を連続照射する実験で赤色光は発芽率に対し

第2表 卵胞子の露光後の日数と発芽率 (%)

露光後の日数	0	4	7	11	14	18
露光までの暗期間の日数						
0	0	0	0	0.2	0.7	2.5
7	0	0	0	1.2	2.6	6.4
14	0	0.4	0.7	2.1	4.0	6.0
21	0	0.1	0.4	1.8	3.8	5.6

Seiji TAKATORI and Kozo IMAHORI : The participation of phytochrome system in the germination of *Chara* oospores.

第3表 単色光連続照射下での35日後の卵胞子の発芽率

光 の 色	光の強さ (erg cm ⁻² sec ⁻¹)	発芽率 (%)
赤	2.5×10 ⁴	12.7
〃	4.0×10 ³	5.4
青	2.2×10 ⁴	3.6
〃	3.5×10 ³	0.8
緑	3.0×10 ³	3.0
白	7.0×10 ⁴	13.0
〃	9.0×10 ³	7.0
暗黒	0	1.5

て白色光と同じくらい効果があったが、青色光・緑色光はあまり効果がなかった(第3表)。また、強い白色光や赤色光はより有効であった(第3表)。

しかし、ごく短期間照射の場合でも赤色光は発芽率に光対して充分有効であった(第4表)。もちろん、白色

光も同様であった。

赤色光と青色光を交互に照射すると、最終照射光の効果がみられた(第5表)。

近赤外光も赤色光の効果を打ち消し、赤色光と近赤外光とは発芽に対して可逆的效果を与えた(第6表)。

第4表 赤色光の短期間照射と卵胞子の発芽率

光の強さ (erg cm ⁻² sec ⁻¹)	照射時間 (時間)	発芽率 (%)
2.5×10 ⁴	24 (暗期16日後)	11.9 (照射開始26日後)
2.1×10 ⁵	1/2 (暗期14日後)	8.8 (照射開始30日後)
	24×42 (暗期なし、連続照射)	12.7 (照射開始42日後)

第5表 赤色光—青色光交互照射と卵胞子の発芽率

照射手順	発芽率 (%)
暗(6日)+(赤(1日)+暗(2日))×5回+暗(21日)	13.5
暗(6日)+(赤(1日)+青(2日))×5回+暗(21日)	4.2
暗(16日)+赤(1日)+暗(25日)	11.9
暗(16日)+赤(1日)+青(2日)+暗(23日)	5.6
暗(16日)+赤(1日)+青(2日)+赤(1日)+暗(22日)	10.3
暗(42日)	1.5

赤色光, 2.5×10⁴ erg cm⁻²sec⁻¹
青色光, 2.2×10⁴ erg cm⁻²sec⁻¹

第6表 赤色光—近赤外光交互照射と卵胞子の発芽率
(照射前暗期14日間, 照射後30日目に発芽率測定)

照射 (時間)	発芽率 (%)
赤(1/2)	8.8
近赤外(2)	5.0
赤(1/2)+近赤外(2)	4.8
赤(1/2)+近赤外(2)+赤(1/2)	9.5
赤(1/2)+暗(2)+赤(1/2)	8.9
近赤外(2)+暗(1/2)+近赤外(2)	3.5
赤(1/2)+近赤外(2)+赤(1/2)+近赤外(2)	4.8
暗	1.5

赤色光, 2.1×10⁵ erg cm⁻²sec⁻¹
近赤外光, 2.0×10⁵ erg cm⁻²sec⁻¹

考察および結論

これらの結果を総合して判断すると、ヒメカタシヤジクモの卵胞子の発芽は光とくに赤色光によって誘導されることが明白になった。しかもその発芽誘導はごく短期間照射による低エネルギー量の光で充分であることや青色光で効果がないという事実から、その誘導機構には光合成系によるエネルギー供与機構の直接関与は考えにく

い。赤色光の効果を近赤外光が打ち消し、また近赤外光の効果を赤色光が打ち消し、両者の光が発芽に対して可逆的效果を与える点は、高等植物の種子の発芽や花芽形成・開花などですでに確認されているファイトクローム系^{3,4)}がこの種のシャジクモ卵胞子の発芽誘導機構にも関与していることを強く示唆するものである。

さらに、青色光が近赤外光と類似の効果を与えることは、ファイトクローム系を介しているか⁵⁾、またはその系と協同的な役割を演じる別の色素系の関与⁶⁾が推測される。

藻類においてはファイトクロームの存在がわずかに接合藻類 *Mesotaenium* で単離され確認されている⁷⁾。本研究によってヒメカタシヤジクモにおけるファイトクローム系の存在を推測し得たことは、ファイトクローム系がシャジクモ植物ばかりでなく多くの藻類に存在し、その形態形成を制御する機構に重要なはたらきを演じているであろうと類推されて大へん興味深い。

本研究は文部省科学研究費(総合研究) No. 4084 の支持を仰いだ。

文 献

1. FORSBERG, C. (1965) *Physiol. Plant.* 18: 128-137.
2. 古谷雅樹 (1966) 自然, 21 (2): 17-25.
3. HENDRICKS, S. B. (1964): In "Photophysiology", (A. C. GIESE, ed.), Vol. 1, pp. 305-331, Academic Press, New York and London.
4. HILLMAN, W. S. (1967a) *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 18: 301-324.
5. HILLMAN, W. S. (1967b): *Plant and Cell Physiol.* 8: 467-473.
6. PROCTOR, V. W. (1960) *Phycol. News Bull.* 13: 64.
7. PROCTOR, V. W. (1967) *J. Phycol.* 3: 90-92.
8. SUGAI, M. and FURUYA, M. (1967): *Plant and Cell Physiol.*, 8: 737-748.
9. TAYLOR, A. O. and BONNER, B. A. (1967) *Plant Physiol.* 42: 762-766.

細胞性粘菌の細胞集団の呼吸と形態形成

美福 弘子(大阪大学 理学部 生物学教室)

竹内 郁夫(京都大学 理学部 植物学教室)

細胞性粘菌の形態形成や細胞分化に関する研究は、いろいろな方面から進められているが、われわれは、呼吸がこの生物の形態形成の種々の過程と密接な関係をもつことを見出したので、これについてくわしく調べた。

細胞性粘菌, *Dictyostelium discoideum* の子実体は胞子群とこれを支持する細胞性の柄からなりたっている。胞子の発芽によって生じた粘菌アメーバは、生長期には単細胞として存在するが、周囲にえさがなくなると、集合して多細胞体制をとる。このようにして形成された細胞集団は、やがてナメクジ型となり、培地上を移動する。これを移動体と呼ぶ。子実体の形成に際して、移動体を構成する前部約1/3の細胞群は柄細胞に分化し、後部約2/3は胞子に分化する。

このような生活史のなかで、生長期アメーバはかなり低い酸素圧のもとでも十分に増殖できるが、集合およびこれに続く形態形成の進行には、より高い酸素圧を必要とする。この事実、生長期から形態形成期にかけて、アメーバの呼吸系に何らかの変化がおこることを示唆している。また、移動体におけるコハク酸脱水素酵素の活性をテトラゾリウム塩を用いて組織化学的に調べたところ、移動体の前部と後部の間に明らかな染色の差がみられた。

形態形成と呼吸の関係を調べるために、まず Q_{O_2} が形態形成の過程でどのように変化するかを調べた。この結果、 Q_{O_2} は生長期において高く、集合期には低下し、その後、移動期から子実体形成期にかけてほぼ等しい値を示し、ついで子実体の完成に際して再び減少することがわかった。しかし、集合期以降の細胞集団を、人為的にバラバラの細胞に分散し、この分散された細胞について Q_{O_2} を測定したところ、それらの Q_{O_2} は、細胞集団について測定された Q_{O_2} よりも高く、生長期アメーバの Q_{O_2} とほぼ等しいことがわかった。すなわち、個々の細胞の Q_{O_2} は、生長期から子実体形成期にいたるまで変わらない。したがって、集合期以降に細胞集団としての Q_{O_2} が減少するという現象は、細胞が集団を形成することによって、内部酸素圧が低下することに基づく

Hiroko MINE and Ikuo TAKEUCHI: Respiration of cellular slime molds, and its implication on their morphogenesis.

のではないと思われる。事実、生長期アメーバと移動体より分散された細胞について、チトクロームの酸化型と還元型の差スペクトルを調べたところ、それらの細胞において差がみられなかった。また、両時期の細胞について、各種の呼吸阻害剤の効果を調べたが、やはり両者の差を見出すことはできなかった。これに反して、細胞の呼吸がどの程度酸素圧に依存するかを調べた結果、生長期アメーバの呼吸の酸素圧に対する依存度はかなり低い、集合期以降の細胞においては酸素圧に対する依存度が高くなり酸素圧の低下にとまって Q_{O_2} が減少していくことが明らかになった。この事実、細胞集団としての Q_{O_2} が集団内部の酸素圧によって規制されているという、先に述べた可能性を支持している。

このような可能性が正しいとすれば、集団内部の酸素圧は、その集団の体積に対する表面積の比によって規制されるはずである。すなわち、大きな移動体は、小さな移動体にくらべて小さい Q_{O_2} を示すことが予想される。これを調べるために、移動体1個の呼吸量の測定を、微量検容測定装置を用いておこなった。この結果、第1表に示されるように、一定細胞数あたりの Q_{O_2} は、

第1表

移動体の大きさ (細胞数 × 10 ⁻³)	Q_{O_2} (μ l O_2 /分/10 ⁶ 細胞)
0.5 - 1.5	1.82 (8)
1.6 - 2.5	1.68 (11)
2.6 - 3.5	1.36 (5)

右の欄の()内はそれぞれの例数を示す

移動体の構成細胞数の増加にともなって減少することがわかった。すなわち、細胞集団の体積に対する表面積の比が、集団内部の酸素圧を規定し、さらにその Q_{O_2} を規定することが示された。

このような事実から考えて、1個の移動体においても、その各領域によって形に差異があれば、それによって Q_{O_2} の局所的な差異が生じることが予想される。事実、移動体を観察すると、前の方は細く、後は太くなっている。そこで移動体の前部と後部との間に、このような形の差異に基づく Q_{O_2} のちがいがあのかどうかを調べるために、移動体を切断してその前部断片と後部断片

第2表

QO ₂ (μl O ₂ /分/10 ⁶ 細胞)		
	断片	分散された細胞
前部断片	2.21 (4)	2.51 (3)
後部断片	1.33 (4)	2.63 (3)

() 内はそれぞれの実験例数を示す

の QO₂ を比較した。この結果、第2表に示されるように、前部断片の QO₂ は後部断片の1.66倍であることがわかった。

ここにみられる両断片の QO₂ の差は、それぞれの断片を構成する細胞の QO₂ の差によるものではない。すなわち、両断片をバラバラの細胞に分散し、その構成細胞について QO₂ を比較したところ、両者においてほとんど差がみられなかった(第2表の右の欄)。このように、移動体の形がどのようにして決められるかはわからないが、移動体が形成されるとその形態に基づいて QO₂ の一定の勾配がつけられることが明らかになった。

移動体につくられたこのような QO₂ の勾配が、移動体の前後軸にそって極性を与え、それに基づいて、移動体の前後における異なった方向への細胞分化が進行するのではないと思われる。もしもこのようなことが事

実であるとすれば、移動体における QO₂ の勾配を人為的に変化させることによって、形成される子実体の胞子と柄の細胞数の割合(プロポーション)が変化するはずである。そこでわれわれは、異なった酸素圧のもとで得られる子実体の胞子と柄のプロポーションの比較をおこなった。現在、予備実験の段階ではあるが、酸素圧の高いところで得られた子実体は、柄に対する胞子の割合がより小さいという結果が得られている。すなわち、移動体における QO₂ の勾配が、両細胞への分化の割合を規制していることが示された。

さらに、細胞集団の QO₂ が集団内部の酸素圧によって規制されるという事実は、形成される細胞集団の大きさが、QO₂ の酸素圧に対する依存度によって規制されるという可能性を示している。RAPER によれば、細胞集団の大きさには一定の上限があり、それが種とか株によってきまれていることが実験的に示された。しかしこのような細胞集団の大きさの調節機構については全く知られていない。われわれは、上記の可能性を確かめるため、異なった酸素圧のもとで得られる細胞集団の大きさを比較した。この結果、予備実験の段階ではあるが、酸素圧の高い条件下では、より大きな細胞集団が得られることが判明した。現在、これらの問題について、さらに検討を重ねている。

細胞性粘菌における細胞選別の機構の解析

1. 細胞履歴の効果

山田 卓三・柳沢嘉一郎・鈴木 治

(東京都立アイソトープ研究所 遺伝研究室)

細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* はアメーバ状の単細胞生物で細菌 *Aerobacter aerogenes* をたべて分裂増殖し、細菌がなくなると細胞は凝集し移動体をつくり特有な形態形成をへて子実体をつくる。子実体は胞子と茎とからなっており、同じアメーバ状の細胞が2種類の細胞に分化することになる。凝集期から移動体形成期までの間には細胞に何らかの分化がおこり予定茎の細胞と予定胞子の細胞とにふるいわけられ、いわゆる「細胞選別」がおこるものと考えられている。

筆者らは突然変異株をつかってこの細胞選別の機構および分化との関係を明らかにしようとして意図した。突然変異誘発物質N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン処理によって胞子形成をおこさない突然変異株 Ks 17 を分離した(柳沢ら, 1968)。この変異株では子実体は形成するが胞子囊中に胞子はなく代りに形態的に未分化の細胞を含んでいる。KS 17 は凝集時における細胞の密度によって胞子囊中の細胞が正常な胞子になるか細胞のままでいるかがきまる。凝集時における単位面積当たりの細胞数が少ないとき ($2.8 \times 10^5 \sim 4.2 \times 10^5/\text{cm}^2$) には形成された胞子囊中に胞子がみられるが細胞数が多くなると ($7.0 \times 10^5 \sim 1.4 \times 10^6/\text{cm}^2$) しいに胞子に混って細胞の数がまし、やがて100%細胞だけとなる ($2.8 \times 10^6 \sim 1.4 \times 10^7/\text{cm}^2$)。さらにこれより密度が高くなると移動体の時期でとまり子実体形成がおこらなくなる。寒天培地の上で細菌とともに培養した場合、細胞の密度は大体 $1.4 \times 10^6/\text{cm}^2$ となり、したがって胞子囊中に細胞だけがみられる。

この胞子囊中の細胞を集めて、胞子形成をおこす密度 ($4.2 \times 10^5/\text{cm}^2$) で栄養分を含まない寒天培地の上におくと細胞は凝集し、移動体をへて再び子実体を形成する。この場合には凝集時の細胞密度が低いので胞子囊中には完全に胞子が形成される。すなわちこの胞子囊中の細胞はもう一度形態形成をおこなわれば茎にも胞子にも分化できる。

Ks 17 と野生株の増殖期にある細胞をとって形態形成に関して混合試験をおこなった。すなわち Ks 17 と野生株を寒天培地上で培養し増殖期にある細胞をとって洗い細菌をのぞいてから蒸留水に浮遊させ細胞数を数え、両者の細胞を50:50の比で混合してから栄養分を含まない培地の上に適当な密度でまいて子実体を形成させる。この子実体の胞子囊中の細胞を集めて適当に希釈しシャーレ当りに10-20個の細胞をクローナルにまいてこれらの中における変異株と野生型との分離比を調べた。この結果、増殖期にある Ks 17 と野生型の細胞を混合した場合には野生型が胞子囊中に96-98% あがり Ks 17 の細胞は2-4%しかあがらないことがわかった。

次に Ks 17 の胞子囊中の細胞をとって増殖期にある野生型の細胞と混合試験をおこなった。しかし集めたときの Ks 17 の細胞の状態によって胞子囊中にあがる2種類の細胞の比率に変動があって一定した結果がえられなかった。一方、胞子囊中の細胞を集めたあとしばらくの間細菌とともに寒天培地の上で培養してから混合試験をおこなうとつねに一定した結果がえられることがわかった。そこでまず Ks 17 の胞子囊中の細胞をとって細菌とともに寒天培地の上で2-3時間培養(22°C)してから細菌をとりのぞき増殖期の野生型の細胞と混合試験をおこなった。その結果、この場合には胞子囊中にあがる Ks 17 の細胞の比率が逆に多く75-85%にもおよび野生型の細胞の比率は15-25%であることがわかった。しかし、Ks 17 の細胞を寒天培地の上で培養する時間が長くなるとそれにつれて混合試験で胞子囊中にあがる Ks 17 の細胞の比率がしだいに減少する。たとえば24時間培養するときの75-85%から6-10%にまで減少する。そしてやがて増殖期同士の細胞の混合試験と同じ比率の2-3%にまで減少することが明らかとなった。液体培地(22°C)で培養した場合、アメーバ細胞の分裂周期はおよそ3.5-4.0時間である。しかし寒天培地におかれた Ks 17 の胞子囊中の細胞が分裂を開始するまでに要する時間および分裂開始後の周期の時間はこれよりもかなり長く、寒天培地上で3時間培養した場合、この間に分裂がおこなわれることはない。増殖期にある変異株と野生株の細胞を50:50の比率で混ぜて子実体形成をおこな

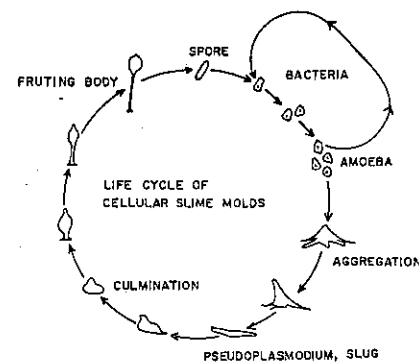
Takuzo YAMADA, Kaichiro YANADA and Osamu SUZUKI: Studies on the mechanism of cell assortment in the slime mold *Dictyostelium discoideum*. I. Effect of cell hysteresis.

せた場合できた胞子囊中に何故野生型の細胞が多く入るか(96~98%)その理由は明らかではない。しかし増殖期にある野生株の細胞と一度子実体形成をおこなって胞子囊中に入った形態的に未分化の変異株の細胞を50:50の比率で混ぜて子実体形成をおこなわせると逆に胞子囊中に変異株の細胞が多く入っていく(75~85%)ことは、一度胞子囊中にはいった履歴をもった細胞は2度目の子実体形成においても再び胞子囊中に入っていく傾向があることをしめしており、この傾向は細胞分裂とともにしだいに失われていくことをしめしている。

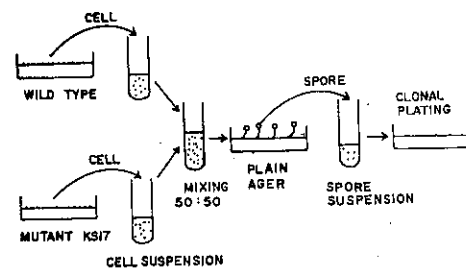
細胞性粘菌では形態形成のあいだ特に移動体形成の時期に選別がおこなわれ、ここで凝集期から移動体期に分化した予定胞子の細胞と予定茎の細胞がふり分けられるものと考えられるがこの細胞選別の機構についてはあまり明らかではない。しかし細胞の選別に細胞履歴が関係していることから選別と分化とのあいだに何らかの関連があるものと思われる。

文 献

柳沢嘉一郎・山田卓三・小野記彦(1968) 遺雜. 投稿中.



第1図 細胞性粘菌の生活史



第2図 増殖期にある野生型と Ks 17 の細胞の混合試験

細胞性粘菌における細胞凝集のメカニズム—I. 凝集抑制物質

小野 記彦(東京都立大学 理学部 生物学教室)

柳沢 嘉一郎・山田 卓三(都立アイソトープ研究所 遺伝研究室)

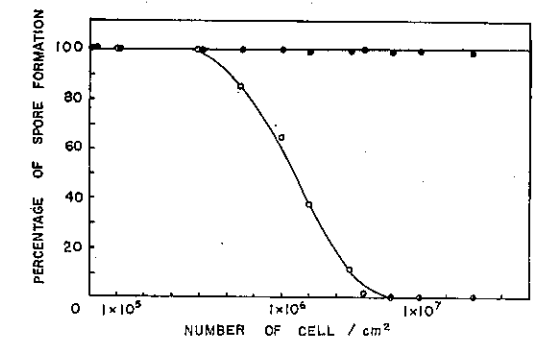
細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* はアメーバ状の単細胞生物で細菌をたべて分裂増殖するが細菌がなくなると附近の細胞が集まって集合体をつくり独特な形態形成をへて子実体を形成する。この結果、同一遺伝子型の細胞が2種類の細胞すなわち茎と胞子とに分化する。細胞性粘菌において分化に必要な過程は形態形成ではなくて細胞の凝集である。すなわち形態形成はおこなわれなくても分化はおこりうるが凝集がおこなわれなければ分化はおこらない(柳沢ら, 1968a)。

凝集のメカニズムに関して細胞に走性をおこさせる物質が知られている。この物質はアクラシンとよばれ粘菌の細胞から分泌されるとされている(BONNER, 1947)。アクラシン自体はかなり安定な物質であるが同時に細胞から分泌される酵素のような高分子の物質によってこわされ短時間に不活性化されると考えられている(SHAFFER, 1956)。

筆者らは凝集時における条件によって凝集を行なったり行なわなかったりする突然変異株を分離し粘菌の細胞が凝集を抑制する物質をだしていることを見出した。この物質とアクラシンとの関係は明らかではないが、アクラシンを不活性化して凝集をさまたげる高分子物質とは異なり極めて低分子の物質であることを見出された。

野生型の粘菌細胞を突然変異誘発物質 N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジンで処理して多数の凝集不能および凝集不完全な突然変異株を分離した(柳沢ら, 1968a)。これら非凝集の変異株のなかにたまたま条件によっては凝集をおこし子実体を形成するものが見出された。この変異株は Ka 7 として記載され保存されているものである。変異株 Ka 7 を寒天培地のうえで細胞から細胞へと継代培養をつづけていると時々数本の小さな子実体が形成されることが発見された。これら子実体の胞子囊中には完全に形成された胞子が含まれている。この胞子をとってクローナルに培養しても細胞は再び非凝集にもどる。この変異株の細胞に子実体の形成をおこ

させる条件を調べたところ、それは凝集時に単位面積中に存在する細胞の数すなわち細胞密度であることが明らかとなった。たとえば図にみられるように凝集時の細胞密度が $6 \times 10^6/\text{cm}^2$ 以上のときには凝集はおこらない。しかし、これより密度が低くなると細胞は凝集をはじめ細胞密度が $5 \times 10^6/\text{cm}^2$ 以下になると細胞は正常に凝集して野生型と同じ子実体を形成する。ふつう寒天培地で培養した場合に増殖する細胞密度はおよそ $1.5 \times 10^7/\text{cm}^2$ 程度である。したがって、この場合には Ka 7 は非凝集となる。



これらの結果からさらに細胞凝集を妨げる物質が細胞から分泌されていることがわかった。この凝集抑制物質は変異株 Ka 7 の細胞からだけでなく野生型の株の細胞からも分泌されているが野生株の細胞はこの物質に対して感受性をしめさない。しかし Ka 7 の細胞は著しい感受性をしめし凝集が抑制される。

粘菌の細胞は凝集を抑制する物質だけでなく、その他に子実体形成や胞子形成を抑制する物質も分泌していることが知られているが(柳沢ら, 1968b), これらの物質が同一の物質であるかあるいは別々の物質であるかはまだ明らかでない。

文 献

- BONNER, J. T. (1947) J. Expt. Zool., 106 : 1.
 SHAFFER, B. M. (1956) J. Expt. Biol., 33 : 645.
 柳沢嘉一郎・山田卓三・小野記彦(1968a) 遺雜(投稿中).
 柳沢嘉一郎・山田卓三・小野記彦(1968b) 遺雜(投稿中).

Humihiko Ono, Kaichiro Yanagisawa, and Taku-zo Yamada: Studies on the mechanisms of cell aggregation in the cellular slime mold *Dictyostelium discoideum*. I. Inhibitor of cell aggregation.

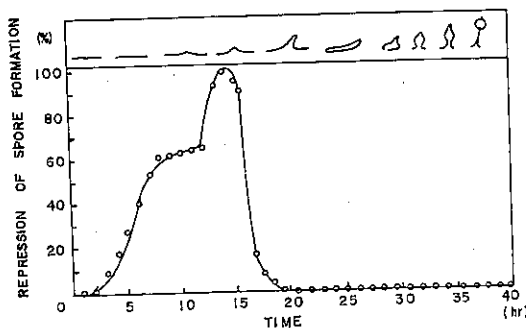
生化学的分化と形態的分化との時差

柳沢 嘉一郎・山田 卓三(都立アイトープ研究所 遺伝研究室)
小野 記彦(東京都立大学 理学部 生物学教室)

細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* はアメーバ状の単細胞生物で各種の細菌をたべて分裂増殖するが細菌がなくなると附近の細胞が集まって小さな凝集塊をつくり、つづいて移動期、子実体形成期を経て胞子と茎の細胞とに分化する。形態的に分化した胞子細胞があらわれるのは子実体形成の後期から終期にかけてであるが、これ以前に細胞内で生化学的な分化はすでにおこっていると考えられる。生化学的な分化は形態形成のどの時期におこるのか、また生化学的分化と形態的分化との間に時差はどのくらいあるのか、こうした問題に関して突然変異株を用いて実験を行なった。

用いた突然変異株 Ks 17 はふつうの培養条件のもとでは茎の形成は行なうが胞子の形成は行なわない、すなわち子実体を形成するが胞子囊中に胞子はみられず代りに形態的に未分化な細胞がみられる。これは粘菌細胞が胞子形成の抑制物質を出しており Ks 17 の細胞はこれに対して著しく感受性が高いためである。したがって凝集時の細胞の密度をふつうの培養のときの密度 ($1.0 \sim 1.5 \times 10^7$ 細胞/cm²) の1/10以下にすると抑制物質の分泌がへって正常な胞子を形成するようになる(柳沢ら, 1968c)。

増殖期にある粘菌細胞をとって洗い、細菌をとりのぞいてから蒸留水に浮遊させて低温(0~4°C)に数時間放置したあと、遠沈して細胞をのぞき上澄み液をとる。この上澄み液の中には胞子形成を抑制する物質が含まれている。すなわち寒天層に上澄み液を一定の濃度(15%)以上に含ませて、その上に Ks 17 の細胞をまくと細胞密度と関係なく胞子形成はつねに抑制される。温度 22°C で変異株 Ks 17 は形態形成におよそ36時間を要する(細胞密度 5×10^5 /cm²)。この形態形成の各時期にミリポアフィルター法(柳沢ら, 1968b)によって短時間だけ高濃度の上澄み液(40%)を細胞に作用させた。そして子実体形成後に胞子囊中の胞子と形態的に未分化の細胞との数の比率をしらべて、それによって上澄み液が胞子形成におよぼす抑制効果をみた。その結果、図にみられるように上澄み液の抑制効果は凝集の前期にはじま



て後期から終期に著しく増大し、その急激に減少することがわかった。すなわち凝集後期(8~13時間目)の細胞に上澄み液を作用させると胞子囊中の胞子の割合は40%、凝集終期(13~17時間目)に作用させると胞子の割合は0%、凝集期のあとに作用させると胞子の割合は100%となり抑制効果は全く失われる。

このように上澄み液に対して形態形成の異なる時期における細胞の感受性がそれぞれ違う原因はいろいろと考えられるであろう。しかし抑制されるのはつねに将来胞子になる細胞だけで茎になる細胞は抑制されていない。すなわち形成された子実体の茎には形態的に未分化の細胞はみられず、また茎と胞子の細胞の数の割合はつねにはば一定である。したがって凝集期には細胞間ですでに上澄み液に対する感受性の差が生じてきているということは言えるであろう。換言すれば生化学的な分化がおこってきているといえる。上澄み液中の胞子抑制物質は安定な低分子の物質であることが知られているが(柳沢ら, 1968c)その細胞への作用機序はまだ全く明らかではない。しかし、この物質が細胞内で低い次元で働いていることは想像に難くない。

以上述べたように形態的な胞子形成は形態形成の最後(35時間以降)に完成されるが生化学的な胞子形成は形態形成の極く初期(6~7時間後)にすでにはじまっていると考えられる。

文 献

柳沢嘉一郎・山田卓三・小野記彦(1968b) 遺雜(投稿中)。
柳沢嘉一郎・山田卓三・小野記彦(1968c) 遺雜(投稿中)。

Kaichiro YANAGISAWA, Takuzo YAMADA and Humihiko Ono: Biochemical and morphological differentiations in the cellular slime mold *Dictyostelium discoideum*.

単細胞緑藻 *Chlamydomonas* の多細胞体形成とその要因の解析

殿佐 耕三・村上 昭八(大阪大学 教養部 生物学教室)

単細胞生物とは細胞分裂によって生じた娘細胞間の接着性が弱いために単細胞体になり易いものと理解することができる。単細胞緑藻 *Chlamydomonas* (Volvocales) は生活環境によって多細胞体を一時的に形成することが知られており、その形態が他の目(Tetrasporales)に属する *Palmella* に類似していることから、*Palmelloid* あるいは *Palmella*-stages) とよばれている。

われわれは、実験的に *Chlamydomonas reinhardtii* が *palmelloid* を形成する条件を探しているうちに、各種有機酸(シュウ酸、クエン酸、コハク酸、フマル酸、リンゴ酸、グリコール酸、グルタミン酸、アスパラギン酸、フタル酸など)を pH 7.2 で添加すると液体培地の中で、能率よく誘導しうることを知った(Fig. 1)。この種は細胞増殖サイクルの過程で4細胞体を一時的につくが、これは正常な状態では解離して単細胞体にかえる。有機酸塩が存在すると細胞分裂は正常に行なわれるが娘細胞の解離が阻害されるために4~32細胞の多細胞体、*palmelloid* を形成するものと理解される。さらに有機酸の種類による有効濃度のちがい(たとえば、クエン酸 M/300、シュウ酸 M/100、グルタミン酸、コハク酸 M/20)と、これら有機酸塩が細胞外からの添加では呼吸基質として全く利用できない事実は、これら有機酸が、ある種のカチオンのキレート物質として働いていることを暗示

させる。

次に、実験的に形成させた *palmelloid* を異った培地環境におくと短時間に解離して単細胞体になるが、これに有効な解離要因は Ca イオンであった。さらに、有機酸の Ca⁺⁺ とのキレート形成の強さと *palmelloid* 形成の効果との間には相関関係がみられ(Table 1)、また

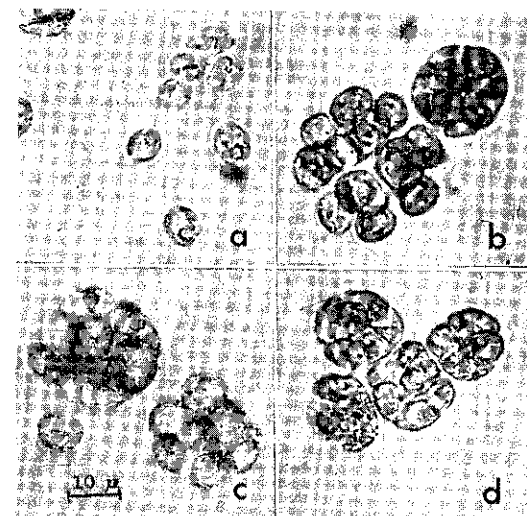


Fig. 1 a) Single cells grown in N medium. b) *Palmelloids* induced by M/300 potassium citrate. Young and aged ones can be seen. c) *Palmelloids* produced in calcium-deficient medium. d) *Palmelloids* induced by M/8000 GEDTA.

Table 1 Correlation of chelating activities with calcium to inducing effect of the *palmelloids* on several organic acids.

MATERIAL	Stability Constants of Ca ⁺⁺ Complexes log K _{MA}	[Ca] Millimolar Concentration of Half Inhibition on <i>Chlamydomonas</i> Counts 1/[C _{HI}]
Citrate	3.16	7.82
Oxalate	3.00	2.42
Fumarate	2.00	0.68
Aspartate	1.60	0.45
Glycolate	1.59	0.54
Glutamate	1.43	0.36
Malate	1.10	0.77
Succinate	1.00	0.68
Acetate	0.77	0.02
EDTA	10.85	11.72

Kozo IWASA and Shohachi MURAKAMI: Studies on the factor of *palmelloid* formation in *Chlamydomonas reinhardtii*.

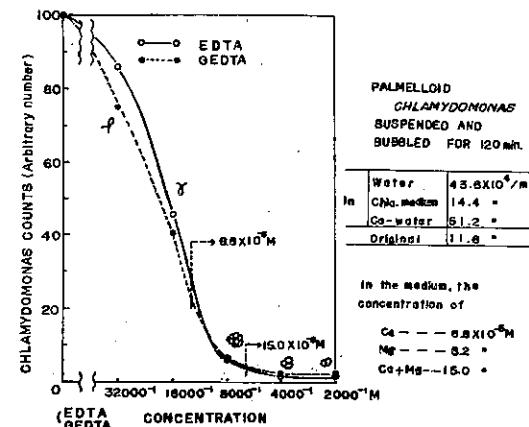


Fig. 2. *Palmelloid* formation by addition of EDTA or GEDTA and the dissociation to single cells.

Ca⁺⁺ とのキレート効果の高い EDTA, GEDTA は高い palmeloid 形成効果を示した (Fig. 1d, Fig. 2)。成育中の細胞を Ca 無添加の培地に移しても同様であった (Fig. 1c)。

これを要約すると, *Chlamydomonas* の palmeloid 形成は細胞内の情報発現機構ないし代謝機構によるよりは Ca⁺⁺ 欠乏によって細胞解離が阻害されるためにおこり, Ca⁺⁺ 添加によって単細胞化されると結論される。この事実, 動物, 高等植物, などの組織解離にみられる Ca⁺⁺ の働きと全く反対の結果であるが, palmeloid の場合, Mg⁺⁺ が全く無効なことと考え合わせて特殊な要因が介在することが予想される。

Chlamydomonas の palmeloid は形態的には完全な細胞 (べん毛も形成されている場合が多い) が gelly coat とよばれる無色透明な colloid 様物質の中に埋めこまれた形である。この物質の組織はまだ明らかでないが, 予備的な分析結果ではペクテン系のウロン酸は検出されずペントースが存在するらしい。電子顕微鏡的観察ではグルタルアルデヒドとオスミック酸の併用で染色されることから単なる炭水化物でない可能性もある。細胞

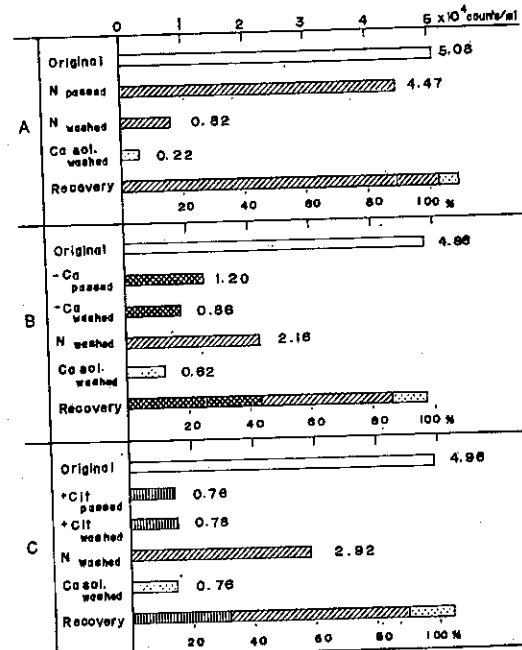


Fig. 3. Adhesion and detachment to/from glass beads. N, N medium (inorganic standard medium); Ca sol., $6.8 \times 10^{-5}M$ CaCl₂ solution; -Ca, calcium-deficient N medium; -Cit., M/200 citrate-containing N medium.

表面の物理化学的状态変化を裏づけるために遊離細胞のガラス表面への接着性をしらべた。Ca⁺⁺ を含まない培地中では顕著な接着性がみられ, Ca⁺⁺ 添加で遊離する (Fig. 3)。また, 光を制御要因として得られる同調培養法を用いて増殖サイクル中の発育段階による接着性をしらべた。Ca⁺⁺ を含む培地の接着性は成長期の後半と増殖期に高く, 分裂後, 急速に低下する。Ca⁺⁺ 欠乏培地では全発育段階を通じて高い接着性を示すが, 増殖期, 分裂期では幾分低い (Fig. 4)。この結果はガラス接着がべん毛を介して行なわれているのではないことを示している。

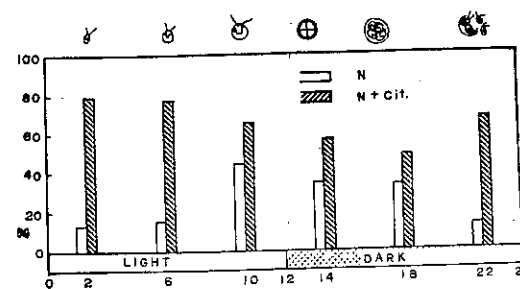


Fig. 4. Difference of adhesion to glass beads in the developmental stages.

しかし, palmeloid を構成している細胞にはべん毛はあるが不動性であること, Ca⁺⁺ の添加で単細胞化すると同時にべん毛が運動性になることは, 解離の要因に Ca⁺⁺ を介してべん毛運動の関与の可能も残されている。

単細胞藻類からの多細胞体形成というやや高次の発育生理学の課題が, 細胞接着, 組織解離などのより低次の課題として接近しうることを示したことは, 初期発生学の最も基礎的な研究分野に有効な寄与をなしうるものと考えている。

この研究は文部省科学研究費 (総合研究 No. 4084) の援助によった。

文 献

- IWASA, K. and MURAKAMI, S. (1968) Sci. Rep. Osaka Univ. (College Gen. Ed.) 16 (2) : 15-19.
 IWASA, K. and MURAKAMI, S. (1968) Physiologia Plantarum (in press).
 IWASA, K. and MURAKAMI, S. (1968) Physiologia Plantarum (in press).
 巖佐耕三・村上昭八 (1967) 日本植物学会第32回大会研究発表記録 (神戸) P.64.

DNA の履歴と細胞の形態形成および老化との関係

小古間 時夫 (東京大学 応用微生物研究所)

生体のもつ情報源である DNA は, その複製に際して semiconservative に合成されることが知られている。従って DNA の単鎖に注目すれば, それが複製の鋳型として何回使われたかによって, DNA strand あるいは DNA 分子の age (分裂令) を識別することが可能である。DNA は細胞内で, (1) それ自身の複製の際の鋳型となること, および (2) transcription (m-RNA 合成) の鋳型となることの二つの機能を主として営んでいると考えられる。このような機能を営む間に DNA 分子の性質が変化するかどうかという問題を細胞の分化あるいは細胞の老化との関連において検討した。

Bacillus cereus が細胞内孢子形成する際, 栄養細胞の二つの核のうち一方のみが孢子に取込まれ, 他方は孢子完成後細胞の溶菌と共に培地中に遊離放出されるが, この現象を利用して chromosome (DNA 分子) の分裂令と孢子形成能との関係について検討した。

あらかじめ ¹⁴C-thymine で標識した栄養細胞を放射性物質を含まない培地で培養し (chase 培養), 細胞数が2倍になる度ごとに培養を2分し, 一方は同量の新鮮培地に加えて培養を続け, 他方の培養から得た細胞は孢子形成培地に移し孢子形成後適切な方法によって放射能を測定した。その結果, 両区分の放射能の比は孢子を作らせるまでの分裂回数 (分裂令) に無関係にほぼ1対1であって, 孢子形成時には“古い”あるいは“若い” chromosome が選択的に孢子内に取込まれるというような機構は働いていないと結論された。しかし孢子に取込まれた放射能の全放射能に対する割合は, 孢子形成までの分裂回数が増すにつれて少しづつ (5代で約10%) 減少することが指摘された。この事実は chromosome が複製を繰返すにつれて徐々に孢子に取込まれ難くなることを示しており, DNA の生物学的機能が低下してゆくことを意味するものと思われる。

次に, DNA 合成に関する温度感受性変異株 (大腸菌 K 12) を用いて, transcription の鋳型活性を発揮する

非複製 DNA 分子の損傷について検討した。すなわち, 液体培地中 30° に培養してきた温度感受性変異株を 42° に移すと, 8時間後に DNA は約4倍程しか増加しないが, RNA と蛋白質はそれぞれ100倍および200倍にまで増加するので, この培養系を用いれば, ほとんど複製をしない DNA が鋳型となって transcription を繰返す過程において DNA 分子に何らかの変化が起るかどうかが調べ得るものと考え, 42°, 8時間培養前後の DNA 分子の物理的性質を比較した。実験誤差による比較の困難を避けるため, 30° 培養細胞の DNA (“若い DNA”) および 42°, 8時間培養細胞の DNA (“古い DNA”) をそれぞれ ³H-thymidine および ¹⁴C-thymine で標識し, intact な細胞のまま混合した後 DNA を分離し, その混合試料の ³H および ¹⁴C の放射能を比較することにより種々の物理的性質を比較した。その結果は, 1) 単鎖状態の分子量 (平均分子量 約 3.2×10^6) を比較すると “古い DNA” はわずかに小さい。2) “古い DNA” は “若い DNA” に比べて変性区分を含む割合が約2倍 (全体の10%) 高い。3) Tm の値は不変。4) cross-linking は増加しない。また control 実験として野性株を 42° で定常的に8時間培養 (この間 DNA 合成のみならず, RNA, 蛋白質の合成も見られない) した細胞と, 42° で増殖しつつある対数期細胞とについて DNA の上記諸性質を比較したが両者の間に差はなかった。以上の結果は, DNA 分子が *in vivo* で transcription の鋳型として働く間に, 徐々に単鎖または二重鎖に切断を来とし, また一部変性を伴う変化を起すことを示唆しており, この現象は細胞老化 (特に分裂令) の機構との関連において非常に興味ある問題と考えられる。

終始御指導を賜った東大応微研柳田友道教授, ならびに貴重な菌株, 酵素標品を分与下さった大阪大学理学部杉野義信氏, 東大応微研池田庸之助教授に深く感謝する。

文 献

- (1) KOGOMA, T. and YANAGITA, T. (1967), J. Bacteriol., 94, 1715.

Tokio KOGOMA : Hysteresis of DNA with special reference to cell-differentiation and aging.

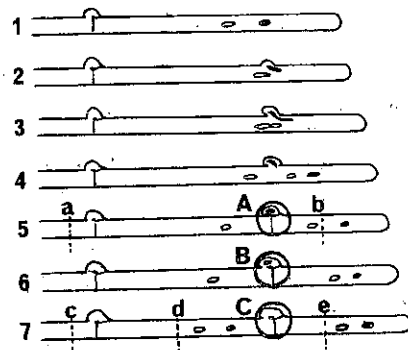
担子菌菌糸の生長と核分裂

須藤 鎮世(東京大学 応用微生物研究所)

Coprinus macrorrhizus Rea f. *microsporus* Hongo Strain 708 は4極性の担子菌である。担子器には A^+B^- ・ A^-B^+ ・ A^+B^+ ・ A^-B^- という四つの mating type の担子胞子を生じ、それぞれ発芽して1次菌糸となる。そのうち、 $A^+B^- \times A^-B^+$ 、 $A^+B^+ \times A^-B^-$ の組合せで1次菌糸が体細胞融合をじていわゆる2次菌糸(互に和合性の2個の核をもった細胞)となる。

Clamp connection の構造

2次菌糸においては clamp connection とよばれる特殊な構造をつくって細胞分裂および共軛的な核分裂を行なう(第1図)。この構造の形成は先端細胞の中程から



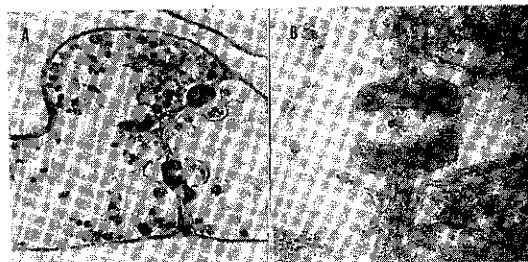
第1図 担子菌2次菌糸における細胞分裂ならびに核分裂模式図(本文説明参照)

後方に向かった分枝に始まり、それが、後方細胞と融合することによってできるもので菌糸内隔壁の位置に隆起した形で存在する。超薄切片法による clamp connection の電顕像を第2図Aに示す。菌糸および clamp の両方の隔壁に dolipore-parenthosome septal complex とよばれる複雑な構造をみる事ができる(第2図B)。

UV 照射実験

2次菌糸の2核のうち1核を UV のマイクロビームで殺した時の菌糸細胞の発育の様子を観察した。一般に担子菌では核分裂の時、核は位相差顕微鏡でも見えなくなり、核のみをねらって UV を照射することができない。そこで、菌糸の先端に最も近い clamp connection

Shizuyo SUTOH: Growth and nuclear division of hyphae of *Basidiomycetes*.



第2図 *Coprinus* の clamp connection 部位における隔壁の微細構造(超薄切片電顕像)

A: clamp connection.

B: dolipore-parenthosome septal complex.

部を照射すれば、たまたまその中にとどまっている1核のみを殺すことのできるチャンスが大きいと考えた。UV を60秒照射した後、先端細胞の生長、および通常の条件下で2番目の細胞から出る分枝を観察したところ、82例中17例は1次菌糸となって生長することがわかった。この結果は第1図5のA、6のBの場合のようにたまたま clamp 内の1核を殺した場合のみ起こるものと考えられる。このように2次菌糸細胞の2核のうち1核を殺すことができれば2番目の細胞から分枝してくる細胞は1次菌糸となって生長することがわかった。

菌糸の切断と修復

特製のガラスナイフを用いて先端から2番目の細胞を切りだした時、少数(10数%)ではあるが1次菌糸となって生長するものがみいだされた。これは例えば第1図5のa, b位で切断したとき、clamp 形成中のため clamp 内の核は2番目の細胞に入ることができず、そのため2番目の細胞は1核化したものと思われる。

2次菌糸における2核の位置関係の恒常性

2番目の細胞を切りだした時1次菌糸となったものは第1図5からわかるように、後方に位置する核(白丸で示した核)を持っているはずである。本実験では A^+B^+ ・ A^-B^- という mating type をもつ2次菌糸を用いて実験を行なったが、先端から2番目の細胞の切りだし実験の結果得られた1次菌糸の mating type は、いわゆる和合性試験によって知ることができる。すなわち和合性のわからない1次菌糸を A^+B^+ および A^-B^- の1次菌糸にかけあわせて、どちらの菌糸と和合が成立するかを

判定することによって知るのである。ポテト寒天培地にセロファンを敷き、子実体原基を破砕した細胞集団(糸状ではなく楕円形その他種々の形の細胞よりなる)をシャーレ中央に点状に接種し、コロニーを得た。その周辺の菌糸につき先端より2番目の細胞を切りだし、そのうち1次菌糸となったものについて、和合性試験を行なった。その結果、 A^+B^+ 菌糸と A^-B^- 菌糸が現われるのはほぼ50:50の割合であった [$\chi^2=5.5$; $P(6, 0.5)=5.3$]。ところが、2次菌糸から切りだした1個の細胞に由来するコロニーを作って同様な実験をしてみると、 A^+B^+ 菌糸、 A^-B^- 菌糸はランダムには現われず、1%の水準でどちらか一方に偏っていることがわかった [$\chi^2=4.04$; $P(21, 0.01)=38.9$]。これは1個の細胞から得たコロニーにおいては最初に接種した細胞の2核の配列順序が、コロニー全体に反映しているためであろうと思われる。しかし実験の回数を重ね、また菌糸の生長の連続性を

保つように工夫した実験系を組んで、詳細にしらべてみると、核の並び方が逆転することもあることを知った。その逆転の頻度は計算の結果、約500回の細胞分裂に1回の割合であることがわかった。

以上のように担子菌の2次菌糸においては、核の配列順序はめったに変わらないで、規則正しい細胞分裂をすることがわかった。このことは clamp connection およびそこにある特殊な隔壁構造と密接な関係があると思われる。

謝辞

終始御指導をいただいた東大応微研・柳田教授、UV照射装置を貸与して下さった都立大学・団教授、実験結果の統計的処理に御協力をいただいた都立大学・丸山博士、統計数理研究所・崎野先生に感謝致します。

糸状菌の発育、分化とクロマチン

石塚 秀夫(東京大学 応用微生物研究所)

細胞分化の過程における細胞の特殊性の獲得の主な原因の一つにその細胞のもつ特定の遺伝子の活性化および不活性化が考えられる。すでに STEDMAN らは細胞の分化にヒストンが遺伝子機能調節因子として重要な役割を果たしていることを予測し、さらに BONNER らおよび ALLFREY らの一連の研究などからヒストンが遺伝子機能抑制因子であることが示唆されている。しかし、ヒストンの分子種数、非組織特異性などからいって、その詳しい機能は明らかでない。

本研究は糸状菌の発育・分化の過程における情報発現の研究、また、われわれの研究室でおこなわれている aging の機構の研究の一環として、糸状菌の発育・分化とクロマチンの性質の変化について検討した。周知のように糸状菌の液内培養における発育は分生胞子の発芽に始まり、糸状菌糸の伸長・分枝、さらに老化するといった経過をとる。以下の実験は発芽前のまだ休眠状態にある分生胞子(休眠胞子)、7時間培養(分生胞子から芽がでたばかりの若い菌糸、7hr 菌糸)、15時間培養(充分伸長した菌糸、15hr 菌糸)、30時間培養(発育の停った、老化した状態にある菌糸、30hr 菌糸)の細胞について、それぞれからクロマチン、さらに塩基性蛋白質を分離し、その性質を比較検討した。

クロマチンの単離は BONNER らおよび TONINO らの方法を修正した方法で、菌糸をローラーで破碎し、フランネルで細胞の破片を除き、遠心分画を行ない、最後に 1.5M、2M 蔗糖の上にせ 24,000 rpm、2 時間遠心をして得られたペレットをクロマチン分画とした。その化学組成は DNA の含量を 1 とすると DNA : RNA : 蛋白質の含量比はそれぞれ、休眠胞子 1 : 0 : 7.8 ; 7hr 菌糸 1 : 0 : 3, 15hr 菌糸 1 : 0 : 2.9 で休眠胞子に高い蛋白含量がみられ、7hr 菌糸、15hr 菌糸はほぼ同じ値を示した。

次にこれらのクロマチンの生化学的性質をみる目的で RNA 合成のテンプレート活性を比較した(第1表)。¹⁴C-UTP の酸不溶画分へのとりこみから、休眠胞子のクロマチンはやや低いテンプレート活性を示し、7hr 菌糸が最高の活性を示し、aging が進行するに従って減少

第1表 クロマチンの RNA 合成テンプレート活性

Exp. No.*	Sample	¹⁴ C-UTP incorporation into acid-insol. fr.		
		Chromatin	Act. D (10μg/0.25ml)	DNase (5μg/0.25ml)
1	Conidia	639cpm	513cpm	378cpm
	Mycelia			
	7 hr	816	677	—
	15 hr	336	227	192
2	Conidia	198	—	—
	Mycelia			
	7 hr	444	—	—
	15 hr	144	—	—

* Exp. 1 : 4.8μg DNA/0.25ml ; Exp 2 : 6.4μg DNA/0.25ml

していることがみられ、*in vivo* での RNA 合成能をみた結果と一致した。このことは少なくともクロマチンの段階でも分化あるいは aging が起こっていると考えられる。

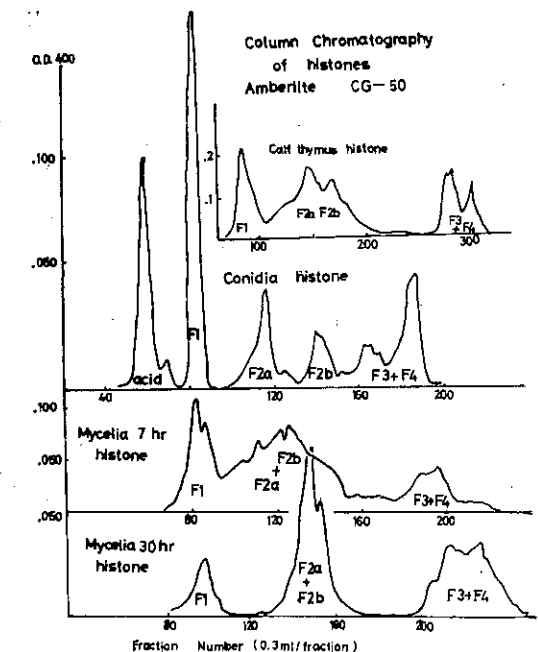
このクロマチンのテンプレート活性の変化の原因として、endogenous RNA polymerase の活性のちがいが考えられたが、一般に高等生物ではクロマチンの RNA 合成の調節因子としてクロマチンを構成するヒストンおよび残余蛋白質等が考えられている。最近、酵母でヒストン様物質の存在が報告されており、糸状菌においても高等生物のようなヒストンを介する RNA 合成の調節が考えられた。糸状菌の発育の各 stage から単離したクロマチンを 0.3N 塩酸で抽出し、CM セルロースで精製した塩基性蛋白質についてアミノ酸組成分析の結果は高等生物にみられるヒストン特有の組成値を示し、糸状菌でのヒストンの存在を明らかにした(第2表)。また、休眠胞子と、発育の盛んな 7hr 菌糸、15hr 菌糸とさらに発育のとまった 30hr 菌糸のヒストンのアミノ酸組成は異っており、ポリアクリルアミド電気泳動でも同様の結果を得た。休眠胞子と 7hr、15hr 菌糸と、30hr 菌糸のヒストンでは各バンドの濃淡比が多少異っていた。しかし、各バンドの相互位置は発育を通じて変化しなかった。さらにアンバーライト CG-50、塩化グアニジン濃度勾配カラムクロマトグラフィーによるヒストンの分画の結果も、糸状菌の発育の時期によってヒストンの各成分の存在比が異っていることが示された(第1図)。休眠胞子のヒストンには子牛胸腺ヒストンの F 1 (very Lys-rich), F 3+F 4 (Arg-rich) に相当する成分が多く、7hr 菌糸ヒストンには F 2 (slightly Lys-rich) が

第2表 *Aspergillus oryzae* のヒストンのアミノ酸組成

	Conidia	Mycelia		
		7hr	15hr	30hr
Lysine	15.2	11.0	11.2	11.1
Histidine	5.3	4.6	3.6	3.3
Arginine	6.4	4.5	4.6	7.0
Aspartic	7.9	6.9	7.0	7.2
Glutamic	5.1	6.3	7.6	8.5
Threonine	7.9	5.7	6.0	6.0
Serine	10.1	14.4	11.8	8.2
Proline	2.6	3.8	2.7	2.3
Glycine	9.1	11.1	12.7	10.3
Alanine	10.5	10.0	10.9	9.6
Cystine/2	0	0	0	0
Valine	5.7	6.2	5.5	6.8
Methionine	1.0	1.2	1.4	1.2
Isoleucine	4.2	5.1	5.2	6.3
Leucine	5.1	5.4	5.5	6.7
Tyrosine	0.9	1.3	1.7	1.7
Phenylalanine	1.8	2.5	2.5	3.0
B : A	2.07	1.51	1.33	1.40
Lys : Arg	2.40	2.45	2.43	1.66

多く、発育のとまった 30hr 菌糸ヒストンには F 1 が少なく、F 3+F 4 が多くなっていることがみられた。このことは先のアミノ酸組成値、電気泳動の結果等を合わせ考えると休眠状態にある分生胞子、発育しつつある菌糸(7hr、15hr 菌糸)、発育が停止して老化した菌糸(30hr 菌糸)というように生理的にかなり異った状態にある場合、ヒストンの各成分の存在比が変り、これが菌の発育に関連し、ひいては先のクロマチンのテンプレート活性の変化にも影響を与えているものと思われる。

以上の結果から、糸状菌の発育・分化の過程における特異性の獲得には少なくともクロマチンの段階でもなんらかの調節機構が存在し、これにヒストンがある役割を



第1図 ヒストンの Amberlite CG-50 カラムクロマトグラフィー

果していると考えられた。

御指導をいただきました東大・応用微生物研究所柳田友道教授、ヒストンの精製等に関して御教授していただきました群馬大・岩井浩一教授に感謝いたします。

培養植物細胞の増殖期における TTC 還元の変化

林 俊郎(東京大学 教養学部 生物学教室)

大山 勝夫(蚕糸試験場)

植物細胞の増殖と分化の機構の研究の一環として培養細胞の脱水素酵素活性を細胞増殖の種々な stage において比較した。

材料と方法: P. FILNER¹⁾が1961年にタバコ *Nicotiana tabacum* Var. Xanthi の茎から分離した XD 株を用いた。培地は MURASHIGE and SKOOG (1962)²⁾ の処法から IAA と kinetin とを除き、2,4-D を 1 ppm 加えた完全合成培地を用いた。³⁾

Stock culture には寒天培地を用いるが、本実験では 100ml の三角コルペンに 40ml の液体培地を入れ、25°C で毎分90回の振とうをした。振巾は約 5cm である。

脱水素酵素の活性測定⁴⁾には、TTC (2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride) の 0.025% (1/100 M. McIlvaine Buf. pH 7.0) で 40°C で45分間 incubate した後の呈色細胞の百分比をとった。基質は加えていない。

結果: slow culture (7~10日目毎の植えつきをする場合で、植えつき時に細胞は巨大化している) と rapid culture (3日目毎に植えつきをする場合で、細胞は常に分裂活性が高く、小型である) の比較をおこなった。

slow culture では植えつき時に TTC 還元能はほとんど0%になっているが、4~5日目には60~80%に達する。

rapid culture の TTC 還元能は常にほぼ一定で40~60%程度であり、呈色濃度も slow culture の peak 時より弱いことがわかった。

slow culture の4~5日目には細胞が10ヶ前後連なるが、この連鎖状になることと、TTC 還元能の上昇とが何らかの関連をもつのかも知れない。

Tosnio HAYASHI and Katsuo ŌYAMA: Change of the degree of TTC-reduction in plant suspension culture cell.

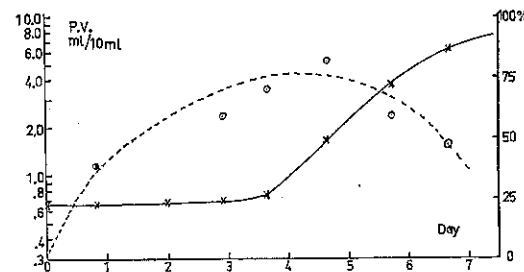


Fig. 1 Slow culture, —: growth curve (packed volume): TTC-reduction (%)

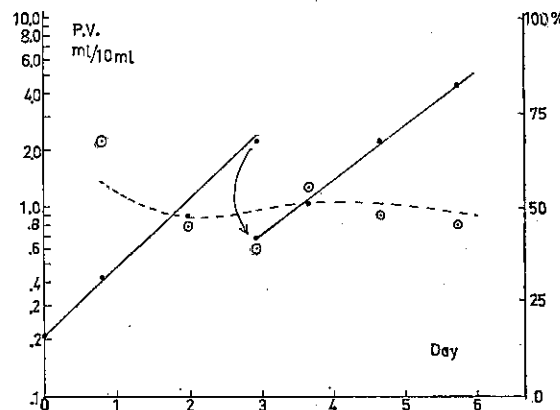


Fig. 2 Rapid culture

文 献

- 1) FILNER, P. (1965) Exp. Cell Res., 39: 33-39.
- 2) MURASHIGE, T. and F. SKOOG (1962) Physiol. Plant. 15: 473-397.
- 3) HAYASHI, T. (1968) Sci. Rep., Coll. Gen. Educ., Univ. Tokyo, 18 33-39.
- 4) DE JONG, D. W., E. F. JANSSEN and A. C. OLSON (1967) Exp. Cell Res., 47: 139-156.

酵母菌の接合反応のホルモンによる調節

柳 島 直彦(大阪市立大学 理学部)

高尾 裕雄(神戸女子薬科大学)

高橋 俊明(醸造科学研究所 吹田)

酵母菌 *Saccharomyces cerevisiae* の heterothallic な haploid の細胞には α と a の二つの接合型があり、これらは遺伝子によって決定されている。 α と a の細胞が接合するときに、ホルモン様物質が大きな役割を演じていることが考えられて来たが¹⁾、その物質的なうらづけはなされていなかった。 a および α 型の細胞は接合にさきだって expand することが知られているが、われわれは a 型細胞より分泌され、 α 型細胞を expand させる物質 (a ホルモンと仮称) の分離に成功した。 a ホルモン (以下 aH) は耐熱性で、透析膜を通るステロイド様物質であることがわかった。 aH は3時間以内に α 細胞の expansion を誘導する。少量のエネルギー源 (glucose) や窒素源 ($(NH_4)_2SO_4$) を加えると aH のこの作用が促進される。 aH の作用は actinomycin D, chloramphenicol, cyclohexide 等で阻害される。従って aH の作用には蛋白質の合成が必要と思われる。 δ -gluconolactone が aH の作用を阻害することから、上にのべた蛋白質が glycosidase である可能性が高い。すなわち aH によって α 細胞内の glycosidase の合成が促進され、その結果、細胞壁の部分的な分解がおこり、そのために細胞壁のゆるみが生じることが考えられる。細胞壁がゆるむと細胞の expansion がおこる。

aH は heterothallic な diploid 細胞や a 型細胞には expansion を誘導する作用を示さない。しかし、homothallism-controlling genes を導入して作られた $\alpha\alpha$ や aa の細胞は aH によって expand させられる。このことは、少なくとも homothallism-controlling genes は細胞の aH に対する感受性を変化させる性質をもっていることを示している。

次にわれわれは、動物の性ホルモンが aH と同じ作用を示すことを見出した。すなわち、testosterone は α 細胞

を expand させるが、 a 細胞を expand させないことがわかった。その上、estradiol は a 細胞を expand させるが、 α 細胞を expand させないこともわかった。酵母の α または a 型の細胞が testosterone と estradiol を見わけることができることは注目にあたいする。

植物ホルモンのオーキシンは、 α および a 型細胞、または heterothallic な diploid 細胞には作用を示さないが、homothallism-controlling genes によって接合能力がみだされてできた diploid の細胞の多くはオーキシンによって expand させられることがわかった。またオーキシン反応性の高い変異菌は接合型がみだされていることがわかっていて²⁾。以上の事実は aH の作用とオーキシンの作用とは関係が深いことを示している。この関係を詳しく知るために aH とオーキシンを同時に homothallic な diploid の細胞に与えてみたが、それぞれを単独であたえたとき、細胞の expansion の程度の差はなかった。さらに抗オーキシン剤である trans-cinnamic acid (T-CA) の aH に対する作用を α 型細胞を用いてしらべた。T-CA は、オーキシン作用を阻害するのと同じ濃度で aH の作用を阻害することがわかった。以上のことは、 aH とオーキシンの作用点が、すくなくとも一部では共通している可能性を示している。われわれは以上の実験から、酵母菌においては接合反応はホルモンによって調節されており、接合に関係している遺伝子は接合型特異的なホルモンの分泌、およびそれらに対する感受性を決定していると考えている。また、接合に関係している遺伝子は、動物、植物および微生物ホルモンに対する酵母菌の感受性も決定している可能性が高い。接合反応は上述の3種のホルモンの接点をなしていることは注目される。

文 献

- 1) LEVI, J. D. (1956) Nature, 177: 753-754.
- 2) YANAGISHIMA, N., and SHIMODA, C., KAMISAKA, S. and TAKAHASHI, T. (1968) Plant and Cell Physiol., 9 (印刷中)

Naohiko YANAGISHIMA, Narao TAKAO and Toshiaki TAKAHASHI: Regulation of mating reaction by hormones in yeast.

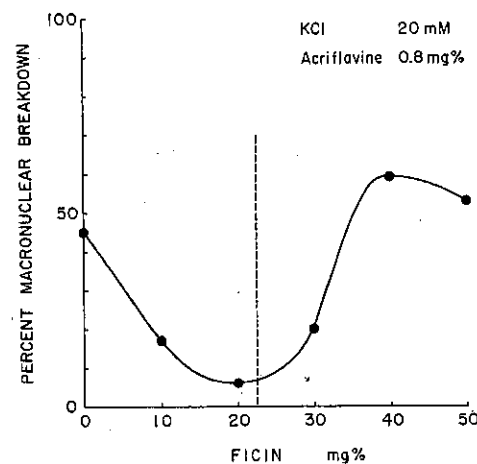
ゾウリムシの自家生殖の化学薬品による誘導

三宅 章雄(京都大学 理学部 動物学教室)

ゾウリムシの有性生殖に接合と自家生殖が知られている。接合では2細胞が一時的に結合し、移動性配偶核の交換後受精が起る。自家生殖では細胞間の結合はなく、変化はすべて単一の細胞の中で起る。しかし接合と自家生殖いずれにおいても細胞内で起る変化は基本的にはほとんど同じで、小核の減数分裂、受精、大核の崩壊、新しい大核の発生など一連の変化が大体同じように進行する。接合では細胞結合がこれら一連の核の変化を引き起す要因と考えられるが、細胞結合がなくても有性過程が起りうることは自家生殖の例によって明らかである。従って自家生殖を化学薬品などによって人工的に誘導する方法、特に *P. multimicronucleatum*, syngen 2 のように自然の自家生殖の起らない材料で自家生殖を人工的に誘導する方法を見出すことができれば、ゾウリムシの有性過程の開始・進行の機構、細胞結合の果す役割などの研究に一つの手懸りが得られると考えられる。

P. multimicronucleatum, syngen 2 では KCl + アクリフラビン + Ca 欠如条件が同一の接合型の細胞に接合を誘導する (MIYAKE, 1960, 1968)。これらの化学薬品に蛋白分解酵素フィシンを加えると、接合の誘導は起らなくなるにも拘らず、個々の細胞においては接合時と同じような核の変化が進行することが見出された。第1図はこのような核の変化の誘導率とフィシンの濃度との関係を示したものである。化学薬品を加えないとこのような核の変化は全く見られなかった。本種の syngen 2 では自然の自家生殖は知られていないが、これらの化学薬品によって誘導された核の変化は他の種で知られている自家生殖における変化と非常によく似ているから、これを人工的に誘導した自家生殖とみなすことができる。フィシンのみでは自家生殖は誘導できなかった。

この自家生殖の誘導において誘導の要因は接合誘導に有効な化学薬品すなわち KCl + アクリフラビン + Ca 欠如条件であって、フィシンは細胞結合の形成を防げるために結果として自家生殖になるという可能性が考えられるが、この仮説に対しては次のような否定的な結果がえられている。すなわち、(1) 第1図でフィシンの濃度が上ると曲線が一度甚だしく低下し、さらに濃度が上ると



第1図 KCl + アクリフラビン + Ca 欠如条件 + フィシンによる自家生殖の誘導 フィシン 0mg% では接合がよく誘導されるが、フィシンの濃度が増すと接合対の形成は少なくなり、20mg% では殆んど見られず、30mg% では全く認められなかった。破線の右側の部分では接合対の形成は全くなく、そこで誘導された大核の崩壊は自家生殖のみによるものである。大核の崩壊は誘導開始後24時間100細胞について観察した。材料: *P. multimicronucleatum*, syngen 2, クロン CH312 (接合型 IV), 25°C。

急に上昇するが、上の仮説では大体水平あるいは右下りの変曲点のない曲線が期待される。(2) リパーゼ、プロメリン、ペパインなどはそれぞれ化学薬品による接合の誘導、従って細胞結合の形成を抑制するが、そのばあい自家生殖の誘導は起らない。(3) しかし、リパーゼと共にフィシンを加えると自家生殖の誘導ができる。従って接合誘導の化学薬品とフィシンはいずれも本種 syngen 2 の自家生殖の誘導の要因として必要であると考えられる。

本種の化学薬品による接合誘導において、アクリフラビンは必ずしも必要ではなく、KCl + Ca 欠如条件でも若干の接合対が誘導されるが、自家生殖の化学薬品による誘導でも同様な関係が見られ、KCl + Ca 欠如条件 + フィシンで自家生殖の誘導ができた。しかし誘導率はアクリフラビンがあるばあいよりも低かった。化学薬品による接合誘導の阻害剤 (1mM CaCl_2) および促進剤 (50 ~ 100 mM メチルウレア) は化学薬品による自家生殖の誘導においてもそれぞれ阻害剤、促進剤であった。

Akio MIYAKE: Artificial induction of autogamy by chemical agents in *Paramecium multimicronucleatum*, syngen 2.

20mM KCl + 0.8mg% アクリフラビン + Ca 欠如条件 + 60mg% フィシンで本種, syngen 2 のクロンCH312の細胞を 25°C で3時間処理した後洗ってこれらの化学薬品を除いたばあい 22% の細胞に自家生殖が誘導された。すなわち化学薬品で3時間処理すれば、その後は化学薬品がなくても一連の有性過程が進行する。

接合中の細胞では口のある側で纖毛が消失するが (HIWATASHI, 1955), 上述の化学薬品で自家生殖を誘導された細胞においても口のある側で広範囲にわたる纖毛の消失が観察された。この結果は纖毛の消失と核の有性過程の開始・進行との間に密接な関係があることを示している。

上述の結果は非結晶の粗製フィシンを用いて得られたものであるが、結晶フィシンも自家生殖の誘導に有効であった。

接合誘導の化学薬品のみでも自家生殖が誘導できるといふ仮説に対しては、本種の syngen 2 では上述の通り否定的な結果がえられているが、これらの化学薬品はそれら自身では不十分ではあるが多少とも核の有性過程の

開始・進行に直接寄与しているという仮説に対しては次のような肯定的事実をあげることができる。(1) フィシンは接合誘導の化学薬品と共存しなければ自家生殖の誘導は起らない。(2) *P. aurelia* では自然の自家生殖が起るが、この種では接合反応 (mating reaction) が自家生殖を誘導する (METS, 1954)。一方接合反応と接合誘導の化学薬品の作用機構は非常によく似たものであることが示されている (三宅・川中, 1966)。(3) *P. aurelia* のキラーのあるものはセンシティブを殺す前に接合や自家生殖類似の現象を同時に誘導する (SONNEBORN, 1947)。また同様な結果は *P. bursaria* でも報告されている (CHEN, 1945)。(4) *P. caudatum* の接合誘導には KCl + Ca 欠如条件が非常に有効であるが (MIYAKE, 1958), この化学薬品が同時に自家生殖を誘導する (伊東, 未発表)。従って *P. multimicronucleatum* においても接合誘導の化学薬品は接合対形成の誘導を行なうと同時に、減数分裂など核の有性的変化の誘導にも多少とも直接に関与していることが考えられる。

第2図

- (1) Chemical Induction of Conjugation: KCl + Acriflavine + Ca-poor Condition → Cell Union → Nuclear Activation
- (2) Chemical Induction of Autogamy: KCl + Acriflavine + Ca-poor Condition + Ficin → Nuclear Activation

P. multimicronucleatum, syngen 2 における化学薬品による接合と自家生殖の誘導を模式的に示すと第2図のようになる。この図の(1)と(2)の相違は(1)では細胞結合が、(2)ではその代りにフィシンがあることだけである。そこで(2)において核の有性的変化の機構を化学薬品の作用から考察することができると同時に、接合における細胞結合が核の有性的変化を誘導する機構をフィシンの作用と対応させながら考察して行くことができる。例えば最も単純な作業仮説の一つとして、接合における細胞結合はある種の蛋白分解酵素を生ずるような変化を通じて核の有性的変化を引き起すということも考えられる。

文 献

- CHEN, T. T. (1945) Proc. Natl. Acad. Sci. U. S., 31: 404.
 HIWATASHI, K. (1955) Sci. Repts. Tohoku Univ. (Biol.), 21: 207.
 NETZ, C. B. (1954) In: Sex in Microorganisms. D. H. Wenrich ed. Amer. Assoc. Adv. Sci., Washington, D. C., 284.
 MIYAKE, A. (1958) J. Inst. Polytech., Osaka City Univ. (Biol.), 9: 251.
 MIYAKE, A. (1960) J. Protozool., 7 (suppl.): 15.
 MIYAKE, A. (1968) J. Exp. Zool., 167 (in press).
 三宅章雄・川中健二 (1966) 実形誌, 20: 121.
 SONNEBORN, T. M. (1947) Adv. Genet., 1: 263.

Paramecium caudatum の接合型遺伝子の発現機構

樋渡 宏一・佐藤 勝紀

(宮城教育大学 理科教育研究施設 生物部門)

Paramecium caudatum においては接合型は、これまで研究された syngen 3 および 12 については 1 対の対立遺伝子によって決定されることが知られている (HIWATASHI, 1968)。この接合型対立遺伝子の発現については二つの問題がある。すなわち 1) 接合後はじめの数回の分裂増殖の間は何故発現しないのか、といういわゆる未熟期の問題。2) 成熟期に達したもののうち、ある系統は一定の増殖期間の後発現の特異性がみだれてくる、いわゆる接合型表現の不安定性の問題。ここで取扱うのはこの後者の問題についてである。用いた株は d2-95a という系統であるが、これは接合型 VI に属し、接合型遺伝子型が +/+ の K4s15b という株を、接合型 V に属し遺伝子型が mtV/mtV である Nd3 という株に交配してえた F₁ のヘテロを 2 回株 Nd3 に戻し交雑してえたもので、接合型遺伝子はヘテロの +/mtV である。一般に *Paramecium caudatum* では mtV/mtV のように接合型遺伝子について劣性ホモのものはその表現が安定であるが、ヘテロ (+/mtV) または時には優性ホモ (+/+) のものはその表現が不安定なものが少なくない。ここに用いた d2-95a はこのようなものの一つであって、優性対立遺伝子 + の発現が極度に不安定な性質をもった系統である。

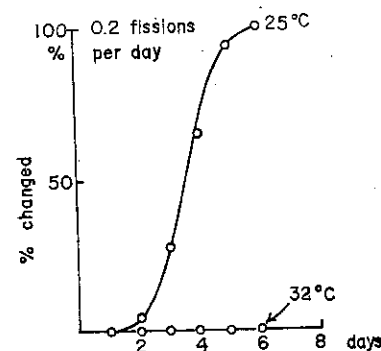
上に述べたような系統は一般に高い分裂速度で増殖させると + 遺伝子の発現が安定であるが、低分裂速度で増殖させると + 遺伝子の発現が抑制されて、表現型は mtV/mtV と同じになってしまう。このような接合型優性対立遺伝子の発現の抑制の機構を解析する目的で、抑制過程に対する温度の影響、および蛋白合成の transcription および translation の段階を抑制することが知られているものを含めた、いろいろな蛋白質および核酸の合成阻害剤の作用をしらべた。

方法は d2-95a の接合反応能力をもったものを 1 匹ずつ分離し、生体染色法を用いて標準のテストと反応させて接合型が VI であることを確認したものだけをそれぞれ分離培養し (1 日 2 回分裂するような栄養条件で) 、

Koichi HIWATASHI and Katsunori Sato: Expression of mating type locus in *Paramecium caudatum*.

充分増殖したものについて再びテストと反応させて VI であることを確認する。純粋に接合型 VI だけを含むことを確認したものについて、これを二つに分けて DRYL 氏液 (磷酸緩衝液に Ca とクエン酸ソーダを含んだもの) に移し、一方を対照、他方を実験に用いる。対照の方は早い時には 2 日目に、一般に 4 日から 5 日目には完全に接合型 V に転換してしまう。すなわち + 遺伝子の発現が抑制される。

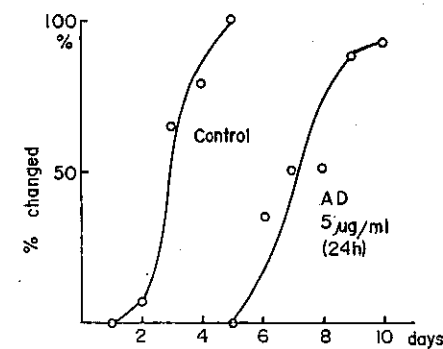
まずはじめにすでに syngen 12 において知られている分裂速度とこのような接合型転換との関係 (HIWATASHI, 1960) をしらべてみると、25°C においては 1 日に平均 0.5 回またはそれ以下の分裂速度を維持するような栄養条件を与えると、全く栄養を与えない対照に比べて接合型の転換は分裂速度に反比例してくるが、結局は接合型 V を表現するようになる。しかし、1 日平均 1 回またはそれ以上分裂するような栄養条件を与えると、接合型 V への転換は完全に抑制される。つぎに分裂速度が平均 1 日 0.2 回になるような栄養条件を与えて 25°C においたものと 32°C においたものとを比較すると、前者は 5 日から 6 日目に 100% V に転換しているのに、後者は 6 日目になっても VI のままで接合型は変化しない (第 1 図、縦軸は V になったものの %、横軸は実験条件においたからの日数。以下附図は全部同様)。このような高温による型転換の抑制は全く栄養を与えずに分裂が全くおこらない状態においても見られるし、また高温においたものが対照に比して分裂速度が高くなっている様子もみられないので、高温の型転換抑制作用は分裂速度の上昇を



第 1 図

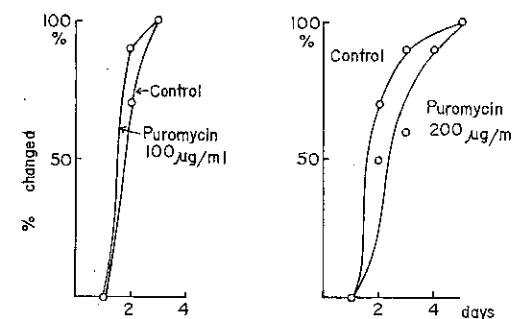
通じて行なわれているとは考えにくい。このことは 10°C に 24 時間おいたものにも型転換の抑制がみられることから支持される。

つぎに actinomycin D の作用をみると、5 μg/ml の濃度で 24 時間処理すると型転換が対照に比して約 4 日間遅延する (第 2 図)。同濃度の 6 時間処理でも約 1 日遅



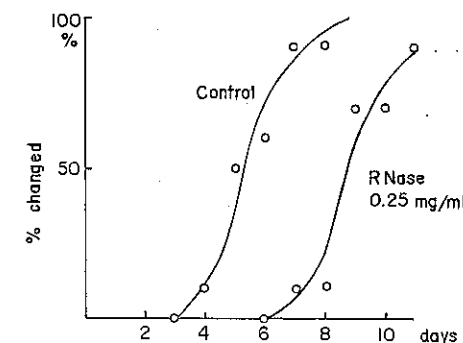
第 2 図

延し、3 時間処理でやっと遅延がみられなくなる。10 μg/ml 48 時間処理では型転換はほとんど完全に抑制され、2 週間目になりやっと一部に転換がみられる。これらの濃度の actinomycin D は d2-95a の分裂は全く抑制せず、接合反応能力は 10 μg/ml 24 時間処理では 48 時間抑制され、5 μg/ml では 24 時間処理でわずかに抑制がみられるが、同濃度の 12 時間処理では抑制がみられない。このように actinomycin D には細胞分裂や接合反応能力にほとんど影響を与えずに接合型の転換だけを



第 3 図

抑制するような処理条件を見出すことができる。一方 puromycin の作用をみると、200 μg/ml 24 時間処理してもほとんど型転換の抑制はみとめられない (第 3 図)。これらの結果は型転換に RNA の合成が関与していることを暗示するが、このことは RNase 処理の実験においても支持されるようにみえる。すなわち、RNase 0.25 mg/ml 24 時間処理 (25°C) によって型転換は約 3 日間遅延する (第 4 図)。



第 4 図

以上のほかに kanamycin, streptomycin, guanidine-HCl, acriflavin などは致死濃度に近いところで型転換をある程度抑制するが、致死濃度に近い濃度で極めて強く型転換の抑制がみられたのは nitrosoguanidine である。

上にのべた puromycin に抑制作用がみられない事実が、実際に抑制作用がないのか細胞内に入っていないためなのかは必ずしも明かではないが、これまで述べた結果は接合型 VI を支配する優性対立遺伝子の発現に接合型物質の合成それ自身とは別個に、それを調節する RNA (または蛋白) 合成系が関与していることを暗示している。この系が接合型遺伝子とは別個の遺伝子によって支配されているかどうかは検討中であるが、これまでの結果では別個の遺伝子の存在の可能性がかなり高い。

文 献

- HIWATASHI, K. (1968) Genetics, 58 : 373-386.
HIWATASHI, K. (1960) 遺殖, 35 : 213-221.

ネズミ再生肝における DNA 合成系酵素の活性変動

加藤 茂孝(東京大学 理学部 動物学教室)

ネズミの肝臓の2/3(左側葉+中葉)を人為的に切除すると、残存の1/3(右側葉+尾状葉)が術後1日目の終りより、急速な増殖を開始し、3日間で70%、2週間余で肝の細胞数および湿重量に関して正常値を回復するという再生肝の現象については、PONFICK(1890)以来、よく知られている。この再生現象は、イモリ等に見られる「再生」ではなくて、厳密には代償性肥大と考えられるべきものであるが、この現象の制御機構については、未だに解明されていない。手術という刺激により、細胞増殖の制御機構に脱抑制が起こり、再生完了により再抑制されると考えられるが、この脱抑制の際、増殖に入る細胞は、少なくとも部分的には脱分化を起こし、再分化して再生が完了すると思われ、細胞分化とも深い関係が想定される。

著者は、この細胞増殖について分裂指数の代りに、DNA合成を指標として用い、再生中のその経時的変動を検索した。

Wistar系の雄のネズミ(体重150~200g)の肝部分切除を行ない、経時的に屠殺し、摘出した肝をスライスにした後、 ^3H -チミジンのDNAへの転入をみた所、この転入は正常肝スライスでは低い、術後18時間前後より上昇しはじめて、24時間に第1回目のピーク(正常肝の6倍)があり、以下合計3回のピークがあらわれ、4日目に正常値に戻る事が観察された。この24時間目の第1回目のピークは、28時間目にピークをもつ細胞分裂像に先行している。

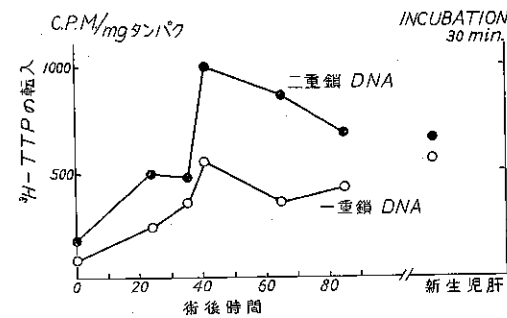
屠殺前にアクチノマイシンDやビュロマイシンを頸静脈投与したり、スライスをこれらで前処理したりすると ^3H -チミジンの転入上昇は抑えられ、DNA合成にはそれに先立つDNA依存RNA合成と蛋白合成が必要であると考えられ、その必須の蛋白に相当するものとして

Shigetaka KAROW: Activity changes of the enzymes related to RNA synthesis in regenerating rat liver.

RNA合成系の諸酵素殊に、チミジンキナーゼとDNAポリメラーゼの動態に注目した。

チミジンキナーゼはDNA合成の上昇とほとんど同じ20時間頃に活性上昇を示し、この上昇は前述のアクチノマイシンD(50 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重)やビュロマイシン(200 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重)の*in vitro*投与で抑えられ、単なる活性化ではなく、新生であると考えられる。この酵素の術後24時間で見えた半減期は6時間、またその誘型になるmRNAの半減期は7.4時間であることがこれらの抗生物質投与により測定された。

一方、DNAポリメラーゼ活性の方は、引き続き測定中であるが、現在までの所DNA合成そのものの上昇と同じか少々遅れ気味であった(図)。このDNAポリメ



DNAポリメラーゼの活性変動

ラーゼのプライマーには、二重鎖DNA・一重鎖DNAが共になり得るが、二重鎖DNAの方が活性が高い。BONNER法で調整したクロマチンもDNAそのものに比し低活性であるがプライマーになり得る。DNAおよびクロマチン両者のプライマー活性は、DNAの4倍量のヒストンでいずれも完全に抑制された。クロマチンのプライマー活性は、術後時間で多少変動するが、DNA合成の変動に対しては、酵素活性の変動に比して大きな役割を果たしてはいないと思われる。

双翅類変態期の細胞増殖と分化—放射線影響からの考察

佐々木 俊作(東北大学 医学部 放射線基礎医学教室)

双翅類昆虫の変態過程はすべての昆虫の中で最も典型的に進行する。すなわち幼虫性組織と成虫性組織の交換がほとんどの組織に起こる。幼虫性組織は自己崩壊の後phagocyteにより処理され、成虫性組織は幼虫期間を通じて胚芽の状態を保っていた細胞の増殖と成熟により形成される。これらの過程が内分泌性の制御を受けていることは周知の通りである。

センテニクバエ *Sarcophaga peregrina* の変態期での放射線影響の様相を調べることから得られた知見を述べる。

個体レベルでの放射線影響の出現の様相は大きく二つに分けられる。一つは前蛹期と蛹期の境目の段階で発生が停止する場合で、他の一つは特定の発生段階で停止することはないが羽化し得ない場合である。習慣的に前者を早期死、後者を後期死と呼んでいる。早期死は幼虫期および前蛹期に照射した場合に起こり、蛹期での照射は後期死のみを生ずる。幼虫期と前蛹期の照射でも低線量域では早期死を免れ、羽化しない場合には後期死に陥る。

早期死についての大きな特徴は、照射の時期に関係なく、また線量に関係なく、発生停止の時期が一定であることである。例えば3令幼虫照射の場合100kRを越す大線量でない限り幼虫から前蛹への移行は時間的遅れはあっても正常に行なわれる。しかし前蛹—蛹関門で発生が停止する。前蛹期の種々の時間令に照射した場合も同様である。前蛹期と蛹期との境目の段階で発生が停止していることの証拠は、1) 幼虫性組織の崩壊は途中で停止する、2) 中腸の交換、胸部膨出は完了する、3) 呼吸率は蛹形成後25~30時間迄は対照と差を認められない、等の現象である。つまり前蛹期において進行すべき発生現象は進むが、蛹期に入ってから進行する過程は全く停止するのである。この現象から前蛹期に入ったものは前蛹期の終り迄発生を進めるための準備をすでに持っていると考えられる。また中腸上皮の構成や体表上皮の構成は無照射対照では細胞増殖を伴って進行するが放射線により完全に増殖を止めても起こることから、この過程の進行に細胞増殖は必須ではないことがわかる。とこ

ろで蛹期へ移行するための準備は前蛹期の初めから約10時間令迄は進まず、10時間令に始まって30時間令に完了すると考えられる。その根拠は早期死についての放射線感受性は0時間令から10時間令迄は変化が無く、その後低下し30時間令以後では感受性が0になるからである。

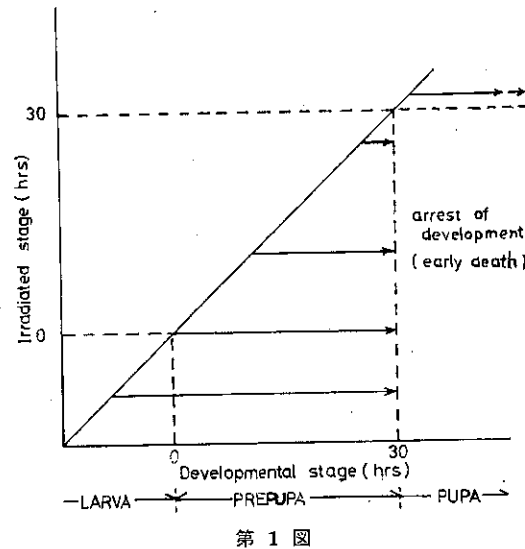
幼虫期と前蛹期に比較的低線量を照射して前蛹—蛹関門を通過した場合、および蛹期に照射した場合には、発生が特定の段階で停止することはない。発生への障害の大きさは照射の時期と線量に依存する。羽化率で見た放射線感受性は8日間の変態期間のうち初めの3日間はほぼ等しくその後急速に低下する。初めの3日間についての共通の特徴は、細胞増殖が盛んで細胞の成熟はほとんど進行しないことである。感受性低下は50時間令ごろから開始するが、この時間は筋芽細胞の融合、生毛細胞の出現等の増殖相の細胞が非増殖性の過程への移行が開始する時期に対応している。増殖相の細胞は非増殖相の細胞に比べて、細胞死に関しても、また分化能力について見ても、はるかに放射線感受性が高い。 ^3H -チミジンを用いてのオートラジオグラフィにより、ほとんどの組織について、細胞増殖は変態期の前半期に限られることがわかったが、これは昆虫変態についての著しい特徴であると考えられる。

前蛹期には細胞の成熟過程は起こらず、増殖だけが行なわれているが、いわゆる増殖サイクルをすべての細胞が回っているのではないようである。その理由は、1) 早期死の場合に mitotic death に陥る細胞が非常に少なく、また変性に陥る細胞の存在部位は規則性がある、2) 筋芽細胞、組織芽細胞(histoblast)についての ^3H -チミジン標識指数は前蛹期より蛹期初めの方が高い等の事実である。前蛹期には増殖サイクル外に存在する未成熟細胞があると考えられる。そのために放射線による細胞変性が起こりにくいのであろう。蛹化直後の時期(35~45時間令)は多くの組織において増殖サイクルを回っている細胞の割合が最も大となる時期と見られる。この時期は後期死に関して最も感受性が高くなる時期であるが、上述のことが原因となっているかどうかは明らかでない。

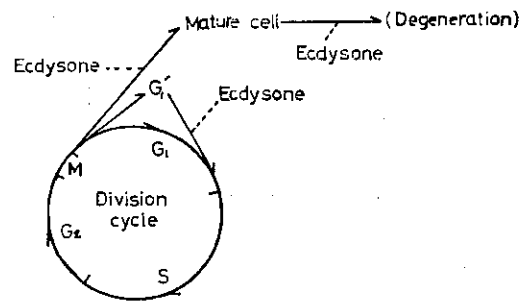
早期死の場合の前蛹—蛹関門での発生停止は現象的にはドジョウ胚の場合と似ている。この場合の発生停止にいたる反応連鎖の中にエクジソン分泌の停止ないしは

Shunsaku SASAKI: Cell proliferation and cell differentiation during metamorphosis of Dipteran—consideration from effects of ionizing-radiation.

低下が含まれるであろう。なんとすれば幼虫性組織の崩壊も含めて全発生が停止しているからである。この関門前後に増殖していない未成熟細胞が増殖サイクルに入るようになると考えられるが、この現象をひきおこしているのもエクジソンではないだろうか。以上のことを念頭に置いて昆虫細胞の内分泌制御の模式図を作ってみた(第2図)。幼若ホルモンはエクジソンと逆方向に働いているのであろう。



第1図



第2図 Endocrine control of insect cell (hypothesis).

ウニ卵の細胞質塩基性蛋白の性格とその消長 1.

近藤 昊・腰原 英利

(東京教育大学 理学部 動物学教室)

ウニ卵発生初期においては、細胞質にも塩基性蛋白が存在し、卵胚以後は検出しなくなる。胚発生でヒストン量に変化がないことおよび核酸除去なしには染色されないことより、細胞質塩基性蛋白はヒストンの前駆体である⁽¹⁾と、またリボゾムの構造蛋白であると推定された。そこで、細胞質塩基性蛋白の性格およびその消長をヒストン合成との関連からあきらかにする試みがなされた。

材料および方法

材料はバフンウニおよびムラサキウニの胚で、 -20°C で凍結保存した。 ^{14}C -リジンの取り込み実験では、胚を ^{14}C -リジン ($0.2\mu\text{C}/\text{ml}$) で 20°C (ムラサキウニ -23°C) 20分または60分インキュベートした。胚をホモジナイズ溶液 (0.25M 蔗糖, 0.15M NaCl, 0.15M KCl, 0.001 または 0.005M MgCl_2 , 0.01M トリス緩衝液 pH 7.2) でホモジナイズし、 $1,500\times g$ 10分、 $12,000\times g$ 10分、 $105,000\times g$ 90分遠心し、沈澱をそれぞれ粗核、ミトコンドリア分画、ミクロゾーム分画とし、 $105,000\times g$ 上清を上清分画とする。さらに、 $270,000\times g$ 540分遠心し、 $270,000\times g$ 沈澱と $270,000\times g$ 上清にわけた。粗核は 2.2M 蔗糖溶液でホモジナイズし、 $40,000\times g$ 90分遠心し、沈澱を核分画とし、他を 2.2M sucrose non pptとする。各分画は最終濃度 0.1N HCl で抽出し、塩基性蛋白とし、沈澱を非塩基性蛋白とした。CM セルロースカラムクロマトグラフィーは、JOHNS *et al.*⁽²⁾ のステップワイズ法を用いた。

結果および考察

桑実胚では、第1表より $105,000\times g$ 上清分画に全塩基性蛋白の40~50%が存在する。 $270,000\times g$ 上清のRNA量は少なくリボゾムの構造蛋白に由来しているとは考えられない。発生過程で、上清分画の塩基性蛋白量は大きな変化がない。しかし、CM セルロースカラムクロマトによると、第1図より核のヒストンとほとんど

Hiroshi KONDO and Hidetoshi KOSHIHARA: Qualitative and quantitative changes of cytoplasmic basic protein during early development of sea urchin. 1.

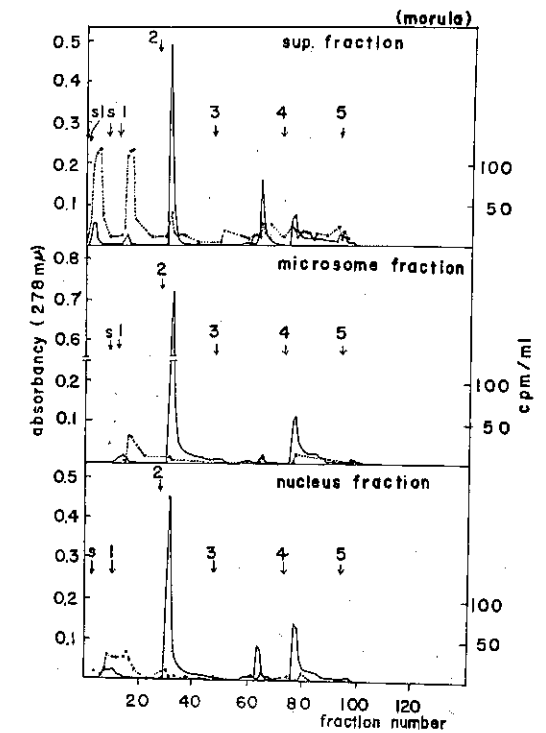


Fig. 1 Column chromatogram on CM cellulose.

同じである。他方プルテウスでは高リジンヒストンにあたるピークがわずかに認められる。桑実胚では、どの分画もヒストンピークに取り込みがない。プルテウスでは核のヒストンへの取り込みが高くみられる。それと同時にヒストン様でない塩基性蛋白も高く取り込みがみられる。(なお、第1, 2図では carrier protein が入っているので蛋白とカウントを分画間で比較できない。) ^{14}C -リジンの塩基性蛋白への取り込みは卵胚までは低く変らず、それ以後非常に高く取り込まれる。この傾向と上清分画のヒストン様蛋白の減少は並行している。このことは上清分画のヒストン様蛋白がヒストンの前駆体と考えると都合がよい。BÄCKSTRÖM は細胞質塩基性蛋白がリボゾムの構造蛋白に由来していると報告している⁽³⁾がこの可能性ばかりではない。このため現在ディスク電気泳動を準備中である。また上清分画の塩基性蛋白が遊離の状態にないことは、ファーストグリーンの染色

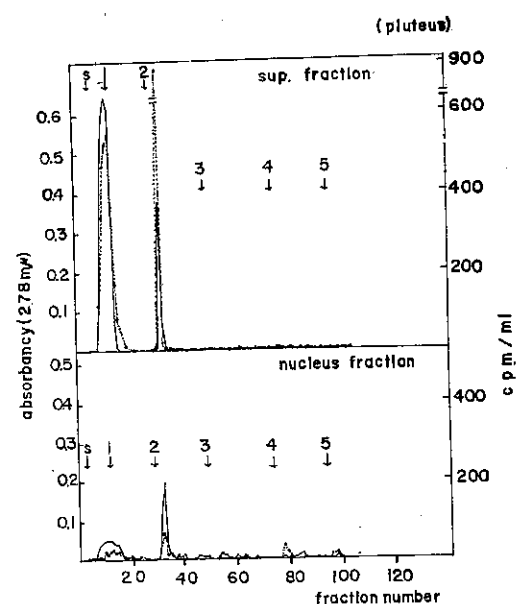


Fig. 2 Column chromatogram on CM cellulose.

Table 1 Basic protein and RNA content of subcellular fractions during early development of sea urchin.

	Morula *		$\mu\text{g RNA} / \mu\text{g p.}$	Hatching blastula **		$\mu\text{g RNA} / \mu\text{g p.}$	Prism **		$\mu\text{g RNA} / \mu\text{g p.}$
	basic p. / protein	b. p. / whole p. $\times 100$		b. p. / protein	b. p. / sup. b.p. $\times 100$		b. p. / protein	b. p. / whole p. $\times 100$	
sup. fraction	0.531	(23.6%)	0.344	0.605	0.242	0.399	0.399	(11.5%)	—
270,000 $\times$ g. ppt	—	—	—	0.418	(58%)	0.106	—	—	—
microsomal f.	0.421	(8.0)	1.122	0.075	0.859	0.110	0.110	(2.0)	0.859
mitochondrial f.	0.407	(6.1)	0.434	—	—	0.115	0.115	(1.8)	0.510
nuclear f.	0.524	(0.8)	0.191	—	—	0.230	0.230	(3.0)	0.149
2.2M sucrose non ppt	0.723	(14.5)	—	—	—	0.284	0.284	(5.3)	—

* 5mM. MgCl_2 (in homogenization medium)** 1mM. MgCl_2 (in h. m.)

性およびセファデックスから推定されるが、どのような存在状態が現在実験中である。

要 約

ウニ卵桑実胚で、105,000 $\times$ g 上清分画にリボゾーム構造蛋白に由来しない塩基性蛋白のかなりの量が存在する。塩基性蛋白は CM セルロースカラムクロマトグラフィーによればヒストン様蛋白である。プルテウスではヒストン様蛋白はほとんどなく、異なった塩基性蛋白が合成されおきかわる。他方、 ^{14}C -リジンの取り込みは、この胚以後おこり、上清分画のヒストン様蛋白の減少と並行している。

文 献

- (1) BÄCKSTRÖM, S. (1965) Acta Embryol. Morph. exp., 8 : 20.
- (2) JOHNS, E. W. et al. (1960) Biochem. J., 77 : 631.
- (3) DAVERPORT, R. (1967) Acta Embryol. Morph. exp., 9 : 270.

イモリ胚発生におけるヒストンの挙動

浅尾 哲朗 (東京大学 理学部 動物学教室)

ヒストンが、DNA を鋳型とする RNA 合成を抑制することは、すでに報告されている⁽¹⁾。また、発生に関係あるものでも、ヒストンで処理された形成体は誘導能を消失したり⁽²⁾、ヒストンが与えられた胚では分化が起らなかったり⁽³⁾する報告もある。いずれもヒストンが生物の分化のための調整の役割を果しているかのような期待を抱かせる。しかしながら自然状態の胚で果してヒストンが分化に関与しているかどうかについては、未だ明らかではない。本研究は、これを追求するため分化と未分化の状態が隣接する初期胚を中心として、発生段階を追って、あるいは特定の胚の部域の差に基づくヒストンの質的、量的差を分析しているものである。

イモリ胚は、1回の実験に胚全体を使うときで100~200個体、部域に分ける時で200個体を発生段階が揃うよう、産卵数および適当な温度の調節に基づいて行なった。

部域に分ける場合は、時には酵素を使用しながら、胚の分割手術が、1個体ずつ行なわれた。核の単離の方法としては、界面活性剤を使用するもの等では、卵黄の多いイモリ胚などでは、回収が不完全であるため、高濃度蔗糖液中で、均質化し超遠心する方法を行ない、電顕的に夾雑物のない核を完全に回収して、これを用いた。

ヒストンの分析には、RASMUSSEN et al. の方法⁽⁴⁾である Amberlite CG50 を用い、塩酸グアニジンの濃度勾配による溶出を行なうものに微量化の改良を加え、内径3mm、層高20cm で溶出液総量が10mlにおさまるようにして、これを100本のフラクシオンに分けた。各分画の蛋白質量検出には、最終濃度1MになるようにTCAを加え、濁度を360m μ で測定した。これらの方法により、蛋白質量は15 $\mu\text{g/ml}$ 、すなわち0.1mlを集める1本の分画に1.5 μg 以上ヒストンが含まれれば検出可能となった。

ヒストンの抽出は、上記の単離核よりなされたので、リボゾームの塩基性蛋白質等は含まない。なお胚全体の細胞数は各発生段階で著しい増加変動を示すので細胞単位のヒストン量を考慮するため、いくつかの発生段階の胚全体および各部域の細胞数が、かぞえられた。

(i) 発生段階におけるヒストンの変動

Tetsuro ASAO : Behavior of histones during embryogenesis of *Triturus pyrrhogaster*.

胚全体にもとづくヒストンについて胞胚期の9, 10, 11, 12, 13および神経胚期の15, 17, 19そして21の各発生段階の胚について、2ないし3回の分析の結果、この胚期以前では、仔牛胸腺ヒストンのF IIIに相当するアルギニンに富む分画を除いては、他はほとんどない (Fig. 1 a, b) のに対し神経胚以降のステージ15以降の胚において、F IおよびF IIに相当する分画が出現してくるのを見た (Fig. 1 c, d)。しかも発生がすすむにつれ、ヒストン量は、細胞数の増加以上に増え、細胞あたりのヒストンが増加していることを示している。この場合は、特に ^{14}C でラベルしたアミノ酸を母体に注射して卵全体のヒストンの量を放射能活性で測定する方法をとり、仔牛胸腺ヒストン (CTH) とまぜて、分析した。神経胚で現れるF Iのピークは、CTH のそれと少し異なった位置に溶出してくる。

(ii) 神経胚における部域の差とヒストン

神経胚において神経板の形成される発生段階の16, 27および18の胚を次のような形態上および組織学的に差のある部域に分け、これのヒストンを分析した。すなわち神経板部 (NP)、これを裏うちする背索中胚葉部 (CM)、内胚葉系の卵黄を多く含んだ細胞の塊 (YC)、NPを除いた上皮 (EP)およびこれを裏うちする体節中胚葉 (SM) の5種か、またはいずれかの組み合わせによる部域のヒストンの分析を行なった。当初は、NPとCMをきれいに、しかも完全に分離することができなかったためNP+CM, EP+SMの組み合わせの程度で分離しかできなかったが、最近では、NPとCM、およびEPとSMとを完全にわけることが可能となり、これらから抽出したヒストンについて分析を進めている。この結果次のようなことが判明した。発生が進むにつれF IIが増加するが、これは細胞単位としても増加している。と同時にF IIIの増加もみられるものの全体における割合は、低下している。そしてこれらの変化は、細胞または組織の形態的分化の程度に並行している (Fig. 3)。これらは、グラフからの定量的な目盛りの読みと、細胞数の各部域の計数値とから割りだされたものである。

以上の結果から、はっきりとした分化の起る神経胚期を境として、F IおよびF IIが出現しF IIは細胞当りの量としてその後増加を続け、従ってF IIIの割合は小さく

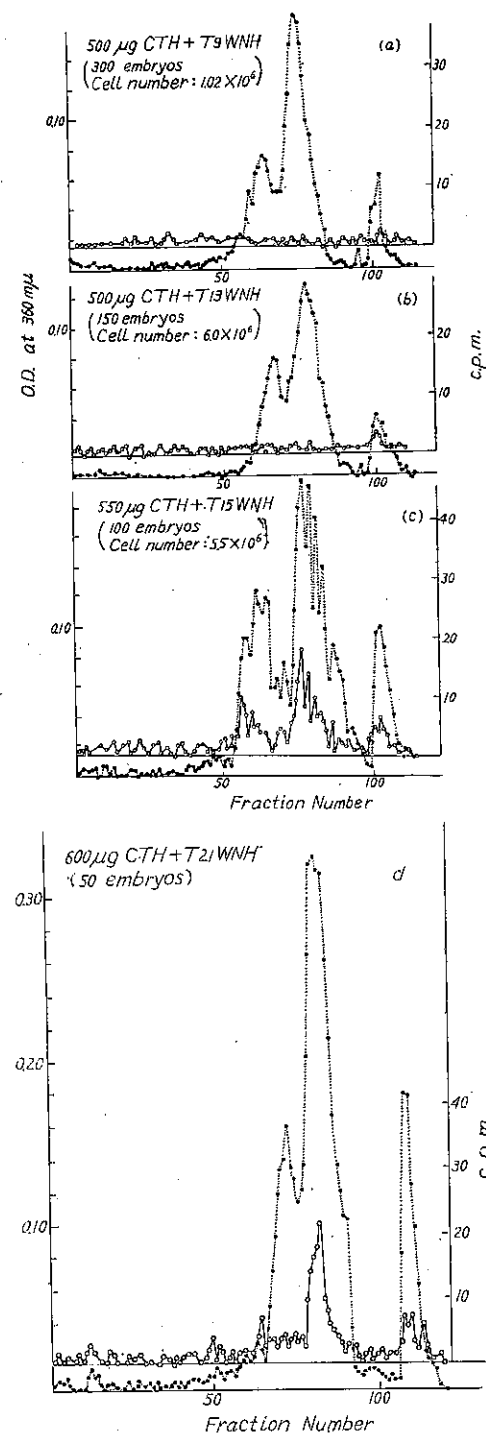


Fig. 1

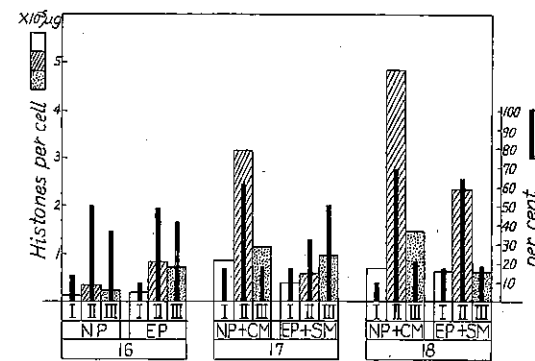


Fig. 2

なっていくといった結果が推定された。今後は、この核内に出現または増加をつづけるヒストンの、由来を追求する方向に進めるつもりである。

昨年度迄、東大において御指導下さいました埼玉大の石田寿老先生、およびヒストンの分析等に関して御指導下さいました群馬大学内分泌研の岩井浩一先生にお礼申し上げます。

文 献

- (1) HUANG, R. C. C. and BONNER, J. (1962) Proc. N. A. S., 48 : 1216.
- (2) GAJANAN V. SHERBET, and LAKSHMI, M. S. (1967) Nature, 215 : 1089.
- (3) MALPOIX, P. and EMELINCKX, A. (1967) J. Embryol. exp. Morph., 18 : 143.
- (4) RASMUSSEN, P. S., MURRAY, K. and LUCK, J. M. (1962) Biochemistry, 1 : 79.

バフンウニ卵の精子結合蛋白に対する抗血清の受精阻止作用

緋田 研爾・鬼武 一夫

(名古屋大学 理学部 生物学教室・同管島臨海実験所)

ウニ卵の受精において精子の卵内侵入に先だつ卵膜表面への精子の結合過程があることはすでに指摘した通りである。卵膜より単離した蛋白に精子結合能のある事実(緋田, 1966; AKETA, 1967), 卵膜を蛋白分解酵素で溶去した場合の受精率低下 (RUNNSTRÖM, 1948; WICKLUND, 1950; BOHUS JENSEN, 1953; TYLER and METZ, 1955; 緋田, 1966; AKETA, 1967), またこのような場合の精子の卵表での行動(緋田, AKETA, 前掲)等は実験的根拠となる。すなわち従来のごとく、卵膜は精子にとって、いわば単なる障害ではなく、精子を結合する積極的意味をも持っていると考える。卵膜を除いた場合、精子の結合が阻害され、その結果受精が阻害されたと考えることに無理はない。卵膜が単なる障害であったなら受精は逆に容易になる筈である*。さて卵膜を除去するのは、いわば必要部品を取り去るわけであるが、逆に必要部品をコートして使用不能にすることも出来る筈である。つまり精子結合蛋白に対する抗血清で卵を処理すれば、精子結合の場としての卵膜はコートされ、精子は結合の場を失い、したがって受精は不可能になる筈だ、という訳である。この予想のもとに以下にのべる実験を行なった。

精子結合蛋白はバフンウニ卵より従来の方法で単離した(緋田, 1966; AKETA, 1967)。超遠心的に試料が単一の成分よりなることをスピスコ E で確めた後、これを 1 M 尿素にとからして、0.9% 食塩水に対して一晩透析する。透析液を約 3 kg の家兎に初回静脈注射、2 乃至 3 週間後に皮下、以後隔日に皮下注射を 7 乃至 9 回くり返す。最終注射後数日たってから採血し常法により抗血清を得た。使用した抗原量は乾燥重量で 95 乃至 115 mg である。抗血清は -20°C に貯え、使用にあたって海水に対し透析した。

透析した抗血清は海水で種々の希釈度のもの各 1 ml を用意する。一方酸性海水でゼリー層を除いた卵に適当量の海水を加えて、卵の数を 0.1 ml 中 300 乃至 400 とする。両方を混ぜ一定時間後にこの中で媒精する。精子は抗血清に対して何の可視的反応も示さず、通常の運

動性をもって卵表に到達するが、強い抗血清処理を受けた卵の表面では精子はスリップするのみで卵表に付着することができない。したがって卵には何の変化もおきない。正常血清を用いて全く同一の処理を行なってもこのようなことは全然認められず、精子は多数卵表に付着し、卵は受精される。精子結合の阻害を量的に示すことは困難なので、第 1 図では結合阻害に基因する受精率の低下を示している。図では 1/4 以上の希釈抗血清の実験結果を示しているが、より過剰の抗血清処理の場合受精阻害はさらに急速である。この際抗血清が卵表層を何ら

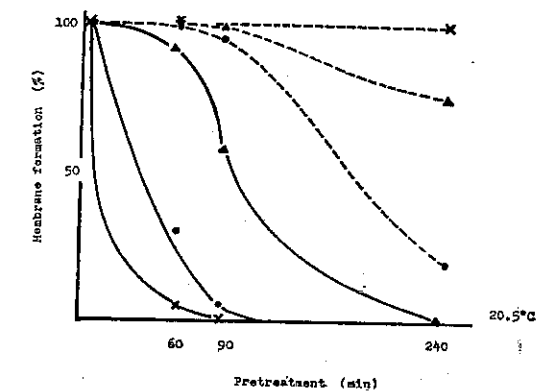


Fig. 1 Fertilization depression by antiserum against sperm-binding protein from the eggs of *Hemicentrotus pulcherrimus*.

- × — × 1/4 antiserum s. w.
- — ● 1/8 antiserum s. w.
- ▲ — ▲ 1/16 antiserum s. w.
- — ○ 1/32 antiserum s. w.
- △ — △ 1/64 antiserum s. w.
- x — x 1/128 antiserum s. w.

かの意味で損ない、このため表層変化が不可能になったという可能性は、精子の卵表での行動から一応除外されると思うが、念のため抗血清処理卵を尿素で付活処理をすると 100% に近い、きれいな膜形成がある。また抗血清処理後媒精し、何の変化もおきない卵をあらためて尿素付活すると、膜形成はあるが卵割はしない。つまり精子はやはり卵内に侵入していないのであって、入ったが受精に伴う変化が卵の方におきなかったという訳ではない。

上の実験で抗血清処理中、卵を時間を追って観察する

Kenji AKETA and Kazuo ONITAKE : Inhibition of fertilization by the antiserum against sperm-binding protein from eggs of the sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*.

と、卵表が縮んでくることがわかる。この現象は正常血清では認められない。PERLMANN (1956) がヨーロッパ産ウニで全卵の塩溶液抽出物に対する抗血清の卵に対する作用の中で wrinkling と呼んでいる現象に近いが、全く同一かどうかは断じ難い。

ゼリー層のある卵を抗血清処理するとこの層は徐々に沈澱を始める。例えば1/2 稀釈抗血清海水中で30分位から認められ、2・3時間後には顕著になる。このことはゼリー層には精子結合蛋白と、したがって卵膜と免疫的に共通のものがあることを示すと思われる。試料として用いた蛋白にゼリー層物質が混在したとは、その単離操作上考えにくい。

PERLMANN (1956, 1957) は彼等の抗血清に卵の付着作用を認めているが、われわれの抗血清にはそのような作用は全然みられない。すなわちゼリー層を除いた卵を2/3 稀釈抗血清海水中に長時間おいたが膜形成はもちろん、核の膨大化も認められない。PERLMANN の抗血清との根本的相異の一つである。

次に卵割に対して何らかの作用を持つかどうかを検討した。正常卵を媒精後45乃至60分たって1/2 抗血清海水中へ移しその中に放置する。受精膜は正常海水中の場合のように形成せずかなりしわの多い状態であるが、これは正常血清海水中に移した場合も同様なので特に注意すべき点ではない。第一卵割までの所要時間も、卵割の様式も正常の場合と何の相違も認められない。観察はさらに胞胚期まで続けたが、正常海水中の場合と比較して割腔の形成が不十分になる以外に差はなく、これとて正常血清中でも認められることなので抗血清の作用ではない。

以上のごとく、この抗血清の作用は、精子結合の阻止というきわだった作用を持つことがわかる。ゼリー層の

沈澱とか、卵の収縮等は、考えてみれば卵の機能そのものとは直接の関係はないと思われるわけで、この抗血清の作用の特異性をほやかすものではない。

BAXANDALL *et al.* (1964, a, b, 1966) は螢光抗体法により卵膜に強い抗原性を認めている。彼等の抗血清は先にのべたごとく、卵に対する作用が単一でなく、解析上の困難ともどかしさがある。しかし彼等もまた、卵膜に精子受容の役割 (sperm receptor) を考えている点でわれわれの見解に近い。彼等のいう F-抗原、すなわち受精阻害抗原はその作用および局在場所に関する間接的証拠からみて、われわれの精子結合蛋白に相当する可能性が高いが、彼等は精子の卵表での様子を観察している訳ではないのではっきりしたことはいえない。

上述の実験結果は、われわれをあらためて従来と変らぬ次の結論に導く。すなわちウニ卵の卵膜は精子結合の場としての積極的意味をもち、また卵膜より単離した蛋白の *in vitro* で示した精子結合能はそのまま *in vitro* におけるその活性を示すものである。

文 献

- 緋田研爾 (1966) 実形誌., 20 : 123.
 AKETA, K. (1967) Embryologia, 9 : 238.
 BAXANDALL, J. (1966) J. Ultrastr. Res., 16 : 158.
 BAXANDALL, J., PERLMANN, P. and AFZELIUS, B. A. (1964a) J. Cell Biol., 23 : 609.
 BAXANDALL, J., PERLMANN, P. and AFZELIUS, B. A. (1964b) J. Cell Biol., 23 : 629.
 BOHUS JENSEN, A. (1953) Exptl. Cell Res., 4 : 60.
 PERLMANN, P. (1956) Exptl. Cell Res., 10 : 324.
 PERLMANN, P. (1957) Exptl. Cell Res., 13 : 365.
 RUNNSTRÖM, J. (1948) Ark. Zool., Bd. 40A, Nr. 17.
 TYLER, A. and METZ, C. (1955) Pub. Staz. Zool. Napoli, 27 : 128.
 WICKLUND, E. (1950) Ark. Zool. Bd. 1, Nr. 1

* 脚 註

卵膜を除去すると多精になるといわれるが、その様な報告は受精率の低下についてのそれよりもむしろ少なく、またそれ等の報告をよく検討すると、その場合の条件がそれぞれ充分理由づけの可能なものであることに気付く。二、三種類については、多精の報告は全くない。これらの点については別の機会に詳しくのべるつもりである。

ウニ精子の膠着反応について

石原 勝敏 (埼玉大学 理工学部 生化学教室)

岡 仁子 (お茶の水女子大学 理学部 生物学教室)

卵受精の際に重要な意味をもつと思われる卵ゼリーの精子との反応として、先体反応、膠着反応、精子の活性化などが知られている。ゼリーは混合物で膠着反応と活性化はゼリーの異った成分によるものであらうと考えられているが、最近、膠着反応をおこす成分と先体反応をおこす成分も異ったものであるという報告がある⁽¹⁾。

岡⁽²⁾によれば Ca の濃度が正常海水の67%まで減少しても先体反応は正常におこるが、50%まで減少すれば先体反応をおこす精子の数は半減し、25%まで減少すれば先体反応は全くおきないことが明らかになった。しかしこれらのいずれの濃度でも膠着反応はおきることから、膠着反応と先体反応は全く異った反応で、先体反応には多量の Ca が不可欠要素として必要であることが明らかとなった。しかし、さらに Ca 量を減じると膠着反応もおこらなくなり、この反応も Ca に依存することが明らかになったので、精子とゼリーと Ca の相関関係と合せて報告する。

精子や卵ゼリーの材料としてバフンウニを用いた。dry sperm はそのまま実験に用いる場合の外、正常海水や Ca-欠如海水に懸濁し、10,000×g で15分遠心して洗ったり、Ca-欠如海水に透析して実験に用いた。精子懸濁液は精子がうすすぎても濃すぎても正常な膠着反応をおこさず、実験に用いる精子の濃度は一定であることが望ましいので、正常海水や Ca-欠如海水に懸濁した精子液の一部を10,000×g, 15分遠心して pellet の容量を測り容量%で5~10%の精子懸濁液を用いた。Ca-欠如ゼリーは酸性海水でとかし100倍量の DW に対して一夜透析し、さらに50倍量の Ca-欠如海水で5時間2回繰返して透析し、最終的に重炭酸ソーダで pH 8 に調節して用いた。ゼリーや反応液のフコースはシスチン—硫酸法で定量し、フコースの量をもってゼリーの濃度を表わした。

dry sperm を Ca-欠如海水で洗った pellet の一部を Ca-欠如海水に懸濁し、Ca-欠如ゼリーを加えても膠着反応はおこらない。これに等張の CaCl₂ 液を加えると典型的な膠着反応がおこる。このことは典型的な dry sperm や Ca-欠如海水に透析した精子などでも同

様の結果を示し、Ca がこの反応に不可欠であることを示す。また Ca を含む正常海水中でも精子濃度が30%から50%以上の濃い精子液では正常卵海水を加えても膠着反応は起らず、これに CaCl₂ を加えるか Ca を含む正常海水で稀釈してはじめて膠着反応が起る。このことは Ca が不可欠であることのみならず、膠着反応がおこるためには精子とゼリーと Ca の濃度が一定のバランスを保っていることが必要であることを示す。

精子とゼリーの濃度が適当で Ca が少ない場合には、膠着反応は瞬間的に起こり正常海水の Ca 量の2%を含む Ca-不足海水では顕微鏡下で5秒とか10秒位の膠着反応が起こり瞬間的に reverse してしまう。2% CaCl₂ のモル濃度はこの時用いたゼリーのフコースのモル濃度の10倍に相当し、実験手法の点などから多少の誤差はあっても、少なくとも Ca のモル濃度がフコース (あるいはフコースに結合している硫酸) のモル濃度以上でなければ膠着反応はおこらない。Ca 含量が0.2%の海水では膠着反応は起らない。また、Ca が濃いほど膠着反応の持続時間は長くなるが、これは一つの精子に結合するゼリー分子の多価的な結合が多くなることにより cluster が大きくなることに起因すると思われる。

そこで精子—ゼリー complex の有無をしらべてみると、正常ではゼリーが精子に結合した状態をみいだすことができない。dry sperm を正常海水でうすめ、正常ゼリーを加えて一定時間後攪拌して遠心し、その上澄のフコース量を測定すると、膠着反応をおこして reverse したもので、精子とゼリーを混合し直ちに遠心したもので、ゼリーははなれて上澄にあり精子と結合してはいない。

精子にゼリーが結合した例は多くあるが^(3,4,5)、いずれの場合にも、精子は洗ったり酸性にしたり、ある程度の処理が加えてある。MONROY *et al.*⁽⁶⁾ が述べているように、精子にとって洗うこと自体が有害である。これをバフンウニで調べてみると、第1表にみるように、dry sperm を Ca-欠如海水で洗い、ゼリーを与えると、ゼリーは精子と結合して上澄のフコース量が減少する。この精子—ゼリー complex は洗った精子の状態によって生じ、Ca の有無、ゼリーの状態は無関係である。精子を除くのに遠心の代りに millipore filter を用いるとゼ

第1表 ゼリーの結合に対する精子を洗うことの影響と Ca の有無の関係

		Ca の有無	上澄のフコース量 (μg)
加えたゼリー	a: 正常ゼリー	+	45.9
	b: No. 23 で Ca- 欠如海水に透析したゼリー	-	45.6
	c: No. 18 で Ca- 欠如海水に透析したゼリー	-	52.5
a+Ca- 欠如海水で洗った精子		+	15.3
b+Ca- 欠如海水で洗った精子		-	23.4
c+Ca- 欠如海水で洗った精子		-	12.9
a+正常精子 (Ca 欠如海水中)		+	44.2
b+正常精子 (Ca- 欠如海水中)		-	44.2
c+正常精子 (Ca- 欠如海水中)		-	47.4

リーは汚過されてこない。また精子とゼリーを混合してから TCA で固定してから遠心すると、固定された精子にゼリーは結合し、正常な生きた精子とゼリーの状態ではなくなってしまう。精子を 45°C で 5 分暖ため運動性がなくなった精子にもゼリーは結合してしまう。以上の結果はいろいろな処理によって精子表面が何等かの変化を起しゼリーと不可逆的な結合をするようになることを

示す。死んだ精子とゼリーの間にその典型をみる事ができる。その結合は酸性にしても離れないことから Sugar-SO₄⁻ の関与する結合と思われ Ca の有無とは無関係である。したがって正常な精子の膠着反応にみられる結合とは性質の異ったものと思われる。この結合は seminal fluid や正常精子を余分に後から加えても切れることはない(第2表)。

第2表 ゼリーの結合に対する Seminal fluid と正常精子の影響

		上澄のフコース量 (μg)
加えたゼリーの量		54.6
Ca- 欠如海水で洗った精子		1.2
Ca- 欠如海水で洗った精子 + Seminal fluid		3.0
Ca- 欠如海水で洗った精子 + 正常精子		4.5
正常海水で洗った精子		25.2
正常海水で洗った精子 + Seminal fluid		28.5
正常精子		54.0

正常精子を Ca- 欠如海水に懸濁し、これに Ca- 欠如ゼリーを加えても膠着反応は起きないことはすでに述べた通りであるが、一定時間をおいて Ca を加えると、精子が生きている限りは時間に関係なく Ca を加えた時に膠着反応が起る。この時 Ca のない条件では精子—ゼリーの結合は生じていない。したがって Ca の存在ではじめてみられる膠着反応は、Ca を介して精子とゼリーの結合が一時的に成立することによって起るものと思われる。正常な状態で一度精子と反応したゼリーに新しい精子を加えても膠着反応はみられない。他方精子は新しいゼリーによって繰返し膠着反応を起すことができる。したがって膠着反応によって変化するものはゼリー物質であり、精子は影響を受けないか、うけても一部分で精子表面の反応基はまだ充分残されていると考えられる。

これらの結果から精子とゼリーの直接的な結合は精子

の表面に何等かの変化がおきた場合に起り、正常な精子では一時的に精子—Ca—ゼリー—Ca—精子という一連の結合が起り、精子表面は多価的に多くの—Ca—ゼリーと結合し、その結果が膠着反応という現象としてあらわれるものと結論づけることができる。これらの現象が他のウーでも普遍的に起るものか、その時の結合の本質、ゼリーの受ける影響、膠着反応の reverse の機構などが今後に残された問題である。

文 献

- 1) 井坂三郎 (1968) 日本動物学会関東支部大会。
- 2) DAN, J. C. (1954) Biol. Bull., 107: 335.
- 3) HATHAWAY, R. R. and METZ, C. B. (1961) Biol. Bull., 120: 360.
- 4) METZ, C. B. and DONOVAN J. (1951) Biol. Bull., 101: 202.
- 5) MONROY, A., TOSI, L., GIARDINA, G. and MAGGIO, R. (1954) Biol. Bull., 106: 169.

Benzimidazole 処理によるウニ卵の付活および卵割誘起について

小 嶋 学 (名古屋大学 理学部附属菅島臨海実験所)

WENT (1966) は、ウニの受精卵を prometaphase または early metaphase に benzimidazole 海水へ投入してから 20~25 分後に正常海水へもどすと、やがて一度に 4 cell に分裂すること (one-to-four cleavage) を報告した。このような現象は mercaptoethanol 処理でも (MAZIA and ZIMMERMAN, 1958; MAZIA *et al.*, 1960), DNP や NaN₃ 処理でも (小嶋, 1958; KOJIMA, 1960a) みられることがすでに報告されていたが、WENT は彼の論文の中で、特に centriole の duplication や separation などに関して、benzimidazole の作用を Mercaptoethanol のそれと比較しながら論じている。

一方、筆者は、不十分付活による卵割の促進についての一連の仕事の一つとして、未受精卵を DNP や NaN₃ で処理することによって媒精後または人工処女生殖後に卵割の促進が引き起こされることを報告している (小嶋, 1967a)。上述のように benzimidazole でも DNP などと同じく、受精卵を処理すれば一度に 4 cell に分裂するという点からして、両者には共通の作用があるものと考えられる。それゆえ、benzimidazole も付活の作用をもっていて、やはり卵割の促進をひき起こすことができるかどうか、そして、もし、そうであるならば、そうしてひき起こされた卵割の促進と centriole の duplication や separation とはいかなる関連性をもっているかなどを検討するのは興味深く思われたので、下記のようないくつかの実験を行なってみた。

材料と方法

材料としては菅島産のムラサキウニ *Anthocidaris crassispina*, サンショウウニ *Temnopleurus toreumaticus*, アカウニ *Pseudocentrotus depressus* およびパフンウニ *Hemicentrotus pulcherrimus* の卵を用いた。使用した benzimidazole は、Nutritional Biochemical Corporation 製であって、WENT が用いたものと同じ製品である。benzimidazole の 2 mg/ml の海水溶液を stock solution とし、これを必要に応じて海水でうすめた。人工付活剤としては、主に、5% 酪酸海水 (N/10 酪酸溶液 5cc + 正常海水 95cc) が用いられた。

Manabu K. KOJIMA: Artificial activation and induction of cleavage by the treatment with benzimidazole in sea urchin eggs.

実験結果および考察

1) 卵割の促進: パフンウニの未受精卵を 2~0.125 mg/ml の濃度の benzimidazole 海水に投入し、15~120 分間処理した後正常海水へもどした。これらの卵は、30~120 分間そのまま放置した後それぞれ媒精し、第1回の卵割開始時間が調べられた。その結果、0.5 mg/ml の濃度で 60 分以上処理してから 30 分間以上正常海水中に放置した後媒精すれば、何ら卵には可視的な変化がおきていないにもかかわらず、卵割が著しく促進されることがわかった。他の 3 種のウニ卵でも全く同様な傾向の結果が得られた。ここで一つつけ加えておきたいのは、benzimidazole 処理卵は、3~4 cell に 1 挙に分裂する性質のあることである。これは benzimidazole が centriole の分裂に関係している可能性を示唆していて興味深い。

2) 付活および卵割の誘起: 1) の実験で benzimidazole の前処理によって第1回目の卵割が促進されることがわかった。このことは、この薬品によって卵割に関係のある変化が媒精前にすでに卵内でひきおこされているということ、すなわち、可視的な変化なしでも細胞質内である種の付活—いわゆる、不十分付活—がひきおこされていることを意味するので (KOJIMA, 1960b, 1967a, b; 小嶋, 1963, 1965a), したがって、benzimidazole に付活の作用があることが当然考えられるところであった。はたして、実験の途上、個体によっては、未受精卵を 2~0.5 mg/ml の濃度の benzimidazole で処理するだけで可視的な変化をひきおこするということが見出された。例えば、パフンウニ卵では、6 時間以上の処理でしか核が変化しないけれど、ムラサキウニやサンショウウニの卵では、60 分処理で、率は低い受精膜が形成されたり、膜形成なしでも核が大きくなって中央へ移動したりするし、また、卵割まで誘起されるのである。こうした核の変化や卵割の様相は、酪酸による不十分付活のくり返し (小嶋, 1965a) や、低温海水処理 (小嶋, 1965b) や DNP や NaN₃ 処理 (小嶋, 未発表) の際観察されたものと同一であった。

3) 付活後処理による卵割の誘起: 酪酸海水処理などで受精膜形成をおこさせた卵を、付活後 10 分間隔で高調海水処理すると、付活直後の処理でみられる高い発生率はだんだんと低下してゆくが、monaster 形成期の前の一

定の時期での処理では発生率は上昇する。この時期の後、一旦上昇した発生率は再び下降線をたどるけれども、また、次の monaster 形成の前の時期に上昇することが見られる。このように高調海水処理による発生率は周期的なカーブを描くのである(KOJIMA, 1961)。これと同じような結果は DNP や NaN_3 処理でも得られているので(KOJIMA, 1961), benzimidazole もこうした作用をもっているかどうかを検討した。

バフンウニ卵を5%酪酸海水で60秒処理して受精膜形成をおこさせた後、10分間隔で2mg/mlのbenzimidazole海水中に投入して15~120分後に正常海水へもどした。その結果、60分または90分間処理した卵では周期的に分裂率の上昇が見られる。すなわち、monasterが大きくなり透明層が高くなる時期の前に一付活後40~50分または90~120分—benzimidazole処理が開始された卵では、かなり高率に卵割が誘起される。この場合、それらの卵は一挙に4~5 cellに分裂はするが、それ以上の発生は認められなかった。分裂を周期的にひきおこすという点では、benzimidazoleと高調海水やDNPなどとは、それらの作用において類似点を有しているが、benzimidazole処理卵は発生が進行しないという点で、卵割を開始した以上swimming larvaeまでは少くとも発生しうるDNP高調海水処理卵とは異なる。また、付活後のbenzimidazole処理によって一挙に4~5 cellに分裂する事実は、1)の実験の際のべたように、benzimidazole処理卵が第1回の卵割時に一度に3~4 cellに分裂する事実と思い合わせて、この薬品の作用がcentrioleの分裂などに関係している可能性は非常に強いように思われる。この点に関しては、DNPや NaN_3 の作用と共通点をもっている(小嶋, 1967a)。いずれにしても今後、一層の研究は必要であろう。

要 約

1) ウニ卵を2~0.5mg/mlのbenzimidazole海水中で60~90分間前処理してから30分以上放置した後媒精すると、第1回目の卵割が促進される。この時、1度に3~4 cellに分裂する傾向を有する。

2) 2~0.5mg/mlのbenzimidazole海水中で未受精卵を処理すると、卵によっては受精膜形成がひきおこされたり、または、表層変化はみられないけれど核は中央へ移動したり大きくなったり、さらに分裂を開始する。

3) 酪酸海水処理で受精膜が形成された卵を付活後10分間隔で2mg/mlのbenzimidazole海水中で60~90分間処理すると、monaster形成期前の一定時期に処理された場合のみ分裂を行ない、この時一挙に4~5 cellになる。しかし、それ以上の発生はみられなかった。

4) 以上のことから、benzimidazoleはウニ卵に対して付活の作用をもっていること、また、一方において、centrioleの分裂などをひきおこす作用をもっている可能性のあることが考えられる。

文 献

- 小嶋学(1958)動雑, 67: 30.
 KOJIMA, M. K. (1960a) Embryologia, 5: 71-77.
 KOJIMA, M. K. (1960b) Exp. Cell Res., 20: 565-573.
 KOJIMA, M. K. (1961) Embryologia, 5: 369-375.
 小嶋学(1963)動雑, 72: 334.
 小嶋学(1965a)動雑, 74: 339.
 小嶋学(1965b)実形誌, 19: 91.
 小嶋学(1967a)動雑, 76: 392-393.
 KOJIMA, M. K. (1967b) Embryologia, 10: 75-82.
 KOJIMA, M. K. (1967c) Embryologia, 10: 83-88.
 小嶋学, 未発表.
 MAZIA, D. and ZIMMERMAN, A. M. (1958) Exp. Cell Res., 15: 138-153.
 MAZIA, P., HARRIS, J. and BIBRING, T. (1960) J. Biophys. Biochem. Cytol., 7: 1-20.
 WENT, H. A. (1966) J. Cell Biol., 30: 555-562.

放射化分析による魚卵内のナトリウムとカリウムについて

堀 令司(富山大学 文理学部 生物学教室)

緒 論

魚卵の受精の際に起る変化は、表層胞の消失とそれに伴って卵膜が卵表から分離して囲卵腔を生ずることであり、山本(1941)は囲卵腔の物質は表層胞に由来するものであることを実証している。

堀(1958)はメダカの未受精卵の膜電位と付活に伴う電位変動の観察から、表層胞の崩壊は膜電位の下降の途中に起り、その電位はついには0まで達し、やがて卵膜の分離と共に再び、ある一定の値に復する。この電位変動は一時的に原形質膜の脱分極をひき起すと考えられ、その間に原形質膜を通してイオンの自由な交流が起ったのではないかと考えている。

その後、実際に堀(1963, 1965)は、ウニ卵内のナトリウムとカリウムを受精前後について定量し、ウニ卵は受精反応という比較的短かい時間に、原形質膜の半透性に大きな変化を招来し、その間にナトリウムとカリウムが卵内より卵外へ、あるいは、卵外より卵内へ移動し、その後受精膜の形成がおこりこれに随伴して形態学的または生理学的に原形質膜の半透性が回復するとともに新たな塩類構成が形成されるのではないかと考えている。

筆者はこのような観点から、受精前後の卵内の元素のうち特に電位差に関連のあるナトリウムとカリウムについて、卵内の両元素の濃度の変化と受精との関係について明らかにするため、特に検出感度のすぐれている熱中性子照射による放射化分析を行なったので、その結果について概要を報告する。

材 料 と 方 法

材料にはヒメダカ *Oryzias latipes* の卵を用いた。未受精卵は前日産卵した雌を雄より隔離し、当日開腹し、M/7.5リンゲル中に採卵した。実験に用いた受精後15分の卵は人工受精によった(山本, 1939)。その他の卵は実験室内の水槽中で採卵したものを用いた。実験に供した発生の時期は確井(1962)による第1期、第5期、第11期、第15期および第22期である。

材料としての卵は脱イオン蒸留水で5回(合計250ml)洗浄し、110°Cで3時間乾燥後、450°Cで乾式灰化した。灰化試料は、そのまま、石英管に封入し、JRR-2原子炉(熱中性子束: $8 \times 10^{13} \text{n/cm}^2 \cdot \text{sec}$)中で5~10分

Reiji Hori: The sodium and potassium content in the egg of the Medaka, *Oryzias latipes*.

照射し、試料はただちに、マルチチャネル・パルスハイトアナライザーによってγ線スペクトロメトリーをおこなって生成された ^{24}Na と ^{42}K の量を測定した。また、一部の照射試料は、堀(1965)にしたがって、 ^{24}Na と ^{42}K を溶離し、おのおのの分画についてγ線スペクトロメトリーをおこなった。

結 果

1. 未受精卵内のナトリウムとカリウム: メダカの未受精卵内のナトリウムとカリウムは第1表に示すごとく、ナトリウムは $6.14 \times 10^{-3} \text{mg/egg}$ 、カリウムは $8.80 \times 10^{-3} \text{mg/egg}$ であり、これはナトリウムとカリウムの卵内濃度がほぼ等しく、わずかにカリウムが優っていることを示している。

第1表 メダカ *Oryzias latipes* 卵内のナトリウムとカリウムの分析結果

発 生 期*	$\times 10^{-3} \text{mg K/egg}$	$\times 10^{-3} \text{mg Na/egg}$	K/Na
未 受 精 卵	8.80	6.14	1.4
受 精 卵 (媒精後15分 第1期)	5.00	8.30	0.6
八 細 胞 期 (第5期)	14.69	9.56	1.5
胞 胚 期 (第11期)	14.05	9.90	1.4
囊 胚 期 (第15期)	14.94	10.16	1.5
レ ン ズ 形 成 期 (第22期)	13.97	9.80	1.4

* 確井(1962)による

2. 受精以後の卵内のナトリウムとカリウムの変化: 受精後15分の卵内のナトリウムとカリウムの量は、ナトリウムは $8.30 \times 10^{-3} \text{mg/egg}$ 、カリウムは、 $500 \times 10^{-3} \text{mg/egg}$ となり、明らかに受精を境として卵内の両元素の構成の相違を示している。しかもナトリウムとカリウムの1個当りの絶対値は未受精卵と比較して、受精卵において逆転している。

その後の卵内のナトリウムおよびカリウムの量は第1表のごとく8細胞期に到るまでの間に両者とも上昇の傾向を示し、その後おおむね一定の値を示した。しかし、その上昇の傾向はカリウムの方がその勾配が急であった。

論 議

1. 未受精卵内のナトリウムとカリウム：未受精卵内のナトリウムとカリウムの元素量の割合については今日まで多くの研究者によって研究されてきている。特にウニ卵内のナトリウムに関しては、BIALASZEWICZ (1929), MALM and WACHTMEISTER (1950), ROTHSCHILD and BARNES (1953), 堀 (1963, 1965), カリウムに関しては SHAPIRO and DAVSON (1941), MALM and WACHTMEISTER (1950), MONROY-ODDO and ESPASITO (1951), ROTHSCHILD and BARNES (1953), 堀 (1963, 1965) など多くの報告がある。しかし、これらは K/Na の比が1または1より大であることを示している。本論文の結果は1.4であり、1より大きいことを示している。

しかし最近の堀 (1965) によれば、ウニにおいて10.0という大きな値も出ている。これと本実験におけるメダカ卵内の1前後の値とはおそらく、種の特異性、または環境条件の相違によるものではないかと思われる。

2. 受精以後の卵内のナトリウムとカリウムの変化：受精直後の著しい変化は表層胞の消失とそれに伴って卵膜が卵表から分離して、囲卵腔を生ずることであり(山本, 1941), それはまた別の見方をすれば、堀 (1958)のごとく受精直後、膜電位の脱分極が起り、その間に、原形質膜を通じてイオンの自由な交流が考えられ、その後次第に電位差が元に戻す点は、原形質膜の新しい状態への復極と考えられる。

本実験において、受精直後の卵内の元素比が、1.4から0.6になった事実は、その間に著しくイオンの動きがあったのではないかと予想され、おそらく表層胞の崩壊の過程は、電氣的に脱分極がおこるばかりでなく、原形質膜を通してイオンの激しい移動があったのではないかと考えられる。

その間、ナトリウムとカリウムがどのように移動したかは、本実験では明らかでないが、受精後15分における

ナトリウムとカリウムの比から、その間のイオンの動きがかなりあったに違いないということが推察される。

要 約

1. 未受精卵内のナトリウムの量は $6.14 \times 10^{-3} \text{mg/egg}$, カリウムの量は $8.80 \times 10^{-3} \text{mg/egg}$ である。受精後15分の卵内のナトリウムの量は $8.30 \times 10^{-3} \text{mg/egg}$, カリウムの量は $5.00 \times 10^{-3} \text{mg/egg}$ である。
2. 未受精卵内の K/Na の比は1.4であり、受精後15分でその比は0.6に変化した。
3. 8細胞期以後、卵内のナトリウムおよびカリウムの量には著しい変化はなかった。
4. 実験結果より受精反応とイオンの動きについて論議した。

謝 辞

本実験にさいし、γ線スペクトロメトリーについて御援助下さった日本原子力研究所大学開放研究室渡辺環学博士と魚卵試料の処理に尽力された河野俊彦学士に感謝します。

文 献

- BIALASZEWICZ, K. (1929) *Protoplasma*, 6: 1-50.
 HORI, R. (1958) *Embryologia*, 4: 79-91.
 堀 令司 (1963) 実形誌, 17: 79-85.
 HORI, R. (1965) *Embryologia*, 9: 34-39.
 MALM, M. and WACHTMEISTER, L. (1950) *Arkiv för Kemi*, 2: 443-449.
 MONROY-ODDO, A. and ESPASITO, M. (1951) *J. Gen. Physiol.*, 34: 285-293.
 LORD ROTHSCHILD and BARNES, H. (1953) *J. Exp. Biol.*, 30: 534-544.
 SHAPIRO, H. and DAVSON, H. (1941) *Biol. Bull.*, 81: 295-296.
 中村道徳 (1951) 農化, 24: 197.
 碓井益雄 (1962) 動物の発生, 地球出版, 東京.
 山本時男 (1939) 動雑, 51: 607.
 山本時男 (1941) 動雑, 53: 543.

昆虫の倍数性精原細胞の細胞質分化について

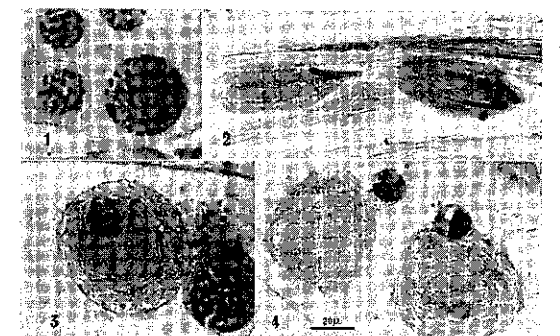
佐藤 肇根 (大阪大学 教養部 生物学教室)

昆虫の精巢内で細長い汙胞は体の長軸方向にならび、汙胞内のシストは後端のものから次第に成熟分化してゆく。したがって適当な時期の材料では汙胞の前端から後端に向って、精原細胞域・第1精母細胞域・第2精母細胞域・精細胞域・精子域と精子形成の各過程のうつりかわりをみることができる。そして一つのシスト内の細胞は分化の程度の等しいものばかりで、有糸分裂はまったく同時的に行なわれる。

7月中旬の頃、ショウリウウバッタの若い個体にエテル・ウレタンの0.05%リンガー溶液を1回注射し、翌日から7日目まで毎日精巢を固定して細胞学的に検討した。注射当時減数分裂期にあったシスト内では第1または第2精母細胞の分裂が阻止されて、第3日目(48時間後)の材料には、ふつうのn精細胞のほかに、2n, 4nの精細胞をもつシストができる。倍数化の程度は核の大きさ、X染色体に由来する染色質塊の数と大きさ、中心体数などで識別できる。注射の際、分裂期にあったシストの精原細胞では復帰核現象により倍数化して、通常の2nのものの外に4n, 8nのものができる(第1図)。それらは2nのものと核の大きさ、異常凝縮したX染色体数などで識別できる。この事実からウレタンは紡錘体毒かとも思われるが、注射当日の材料の分裂景で、形態学的には紡錘糸は形成されているのを見る。このような倍数化した生殖母細胞のあるものは、以後の経過中に退化するが、一部は精子化への分化の道をたどる。精母細胞の倍化したものでは、大きな頭部をもつか、頭の後端が2または4に分岐した異常な精子になるが、ときには尾部がのびることなく、細胞形が細長くなった程度にとどまる場合も多い(第2図)。注射後5日目の材料では精原細胞期に倍数化した細胞の分化がみられる。ふつう一つの精原細胞から四つの精子ができるから、倍数化した大形細胞は8または16の精子に分化するだけの材料をもつはずである。しかし、このような大形の精原細胞は、減数分裂も行なうことなく、またそのまま一つの精子になることもない。すなわち、その核または染色体群は密な塊になり、ときには細胞の一侧に移動していることもあるが細長い精子頭部の形になることはなく多くの場合退化の傾向を示している。しかし、その細胞質

内には繊維状構造が分化することがある(第3図)。これは有糸分裂時の紡錘体物質ではなく、球形の核をとりまくようにしてできてくるが、細胞質分化の程度のすすんだものでは細胞質全体がほとんど糸玉のようにみえることがある(第4図)。この際、核が退化のみをたどりつつあるのに細胞質だけが独立に繊維状分化をとげたのか、または、細胞質の分化のあとで核が著しく退化的になったのが問題になる。しかし、ふつうの静止核をつくらず、分裂時の染色体の塊のまま退化している場合もあるから、前者の可能性が強い。この昆虫では精子の尾が割合に太く、また非常に長いこと、つまり、尾部をつくるべき物質の量は非常に大量であることを念頭において考えれば、この繊維状構造物は本来ならば精子の尾部をかたちづくるべく予定されていた細胞質が、精子尾部の形はとり得ないままに、ただ繊維状分化だけを示したものと思われる。しかし、この繊維状構造物が通常の精子形成の場合とおなじく、中心体に関係してできくるといふようなことは認められなかった。また精子の尾8本または16本分というような尾部構造の個体性も認められなかった。ときに細胞質の一部に塩基性色素に淡く染る不定形物質のかたまりをみせることがあるが、これはミトコンドリアに由来する物質で、精細胞の頃に副核をつくるべき物質であると思われる。

かつて著者は、無処理のショウリウウバッタの精巢内で、あるシストの全細胞が退化すること、そのような細胞には多核性のものが多いこと、そのようなシストは汙



第1図 8n精原細胞、小形のものはふつうの2n精原細胞。

第2図 精母細胞の時期に倍加された精細胞の精子形への移行。

第3図 4n精原細胞の細胞質内の繊維構造分化。

第4図 3, のさらに分化の程度の進んだもの。

Iwane SATO: Cytoplasmic differentiation of polyploid germ-cells in a locust.

胞の中心部に閉鎖されていることに気づき、シスト退化の原因が、酸素または栄養分の不足にあると推測した(文献1, 2)。これを実証する目的で呼吸阻害剤(水素伝達系阻害剤)であるエテル・ウレタン(文献3)の注射実験をはじめたのであったが、結果は予期に反して、多核細胞はほとんどできず、倍數化した大型核ができるのであった。この薬剤には有糸分裂の阻止作用すなわち、KIHLMAN のいうように“radiomimetic”な効果があるといえよう(文献4, 5)。さて、このようにして倍數化した細胞中、精母細胞に由来するものは異常ながら精子化することができるのに、精原細胞に由来するものが形態的に精子化し得ないのは何故であろうか。後者の方が倍數性の程度の高いことが最大の原因かも知れない。しかし、このような倍數化細胞の核の分化が不十分であるのにもかかわらず、細胞質だけが構造的に、またおそらく化学的にも分化の程度をすすめるのはどうしてであろうか。この種の細胞質分化が核からの遺伝情報によるものではなく、おそらくその頃の卵胞のその部分全体にゆきわたっている“誘導原的”な要因によって引き起こされるのではなからうか。細胞が倍數化し、退化的

微候さえ示しているのは、注射時に有糸分裂期にあった特定の2・3のシストだけであり、それらの近くのすべてのシストは健全であって、その中の精細胞が精子化する際、大型化した倍數細胞も、形態的な精子化はおこり得ないままに、細胞質の一部の分化(繊維状化)を示したとみるべきであろう。したがって、その倍數化細胞は、減数分裂は行なっていないが、この時期にはもはや精原細胞ではなく、精細胞とよばれるべきものであろう。

このような細胞内繊維構造が正常の精子尾部のように電顕的に(9+2)の繊維束からなるかどうか、ある特殊の条件下、たとえば雌の生殖分泌物の添加によって運動性を示しうるかについては、近く検討の予定である。

文 献

- 佐藤磐根(1957)動維, 66.
 佐藤磐根(1964)染色体, 60.
 DANIELLI, J. F. (1950) Cell Physiology and Pharmacology. Elsevier Pub. Co. London.
 KIHLMAN, B. A. (1960) Exp. Cell Res., 20: 657-659.
 KIHLMAN, B. A. (1966) Action of Chemicals on Dividing Cells. Prentice-Hall Inc. New Jersey.

両生類卵黄粒タンパク質のイオン交換体としての性状

林 宏 文(九州大学 理学部 生物学教室)

タンパク卵黄粒は1分子の lipovitellin の中に2分子の phosvitin を包みこんだコロイド粒子(70×80×160 Å)を構造単位としてできており、それが周期的に配列することにより最大9μにもおよぶタンパク卵黄粒の結晶になっている(WALLACE, 1963)。電子顕微鏡観察による発生過程での卵黄粒の使われ方をみると、その六角形の網目状構造を保ちつつ崩壊して細胞質に分散してゆく(LANZAVECCHIA, 1965)。lipovitellin の脂質組成について種々の生体膜のそれと比較すると類似点が多く、特にりん脂質については質的に有意な差は認められない。膜には phosvitin をりん酸の受容体とする protein phosphokinase の活性があり、phosvitin のりん酸代謝がイオンの著しい影響下にあることから、イオンの能動輸送に重要な役割をもつと考えられている(JUDAH *et al.*, 1962, 1963)。

最近明らかにされつつある細胞膜の構造単位(KAVANAUGH, 1965)とタンパク卵黄粒のそれとを比較してみると、dimension がかなりよく符合する。

従来、卵黄粒を栄養物質の貯蔵庫と考える傾向が強く、それを低分子化する酵素として cathepsin や PPPase の研究がなされたが、上記のような知見に基いて、栄養物質とよぶにふさわしい使われ方をする前に高分子のまま、発生と分化の過程で何らかの役割を果す可能性を考えた。ここでは lipovitellin, phosvitin および lipovitellin-phosvitin complex について、塩溶液中での溶解度とイオン結合性からイオン交換体としての性状を調べた。

トノサマガエルおよびイモリの成熟卵巣卵から RINGLE and GROOS (1962) の方法でタンパク卵黄粒を単離した。単離された卵黄粒から WALLACE (1963) の方法により硫酸を用いて lipovitellin と phosvitin に分画した。lipovitellin-phosvitin complex はカルシウムを多量に含んでいて主に phosvitin の構造のなかに組みこまれている(SCHJEBDE *et al.*, 1959)が、硫酸を用いて分画する際にはカルシウムが除去されて、共に蒸留水に可溶性のタンパク質となる。

phosvitin 水溶液に二価の陽イオンを加えると結合し

て白濁を生じ、その濁度を 460mμ で測定することにより phosvitin-metal の生成量を定量的に知ることができた。タンパク濃度(0.25mg/ml)を定め、CaCl₂あるいはMgCl₂をそれぞれ4mMに固定して、結合体生成量の継時的変化をみると、立上りの急な曲線を描き、30分後にはほぼ飽和状態になった。そのとき phosvitin-Ca は phosvitin-Mg の約2倍になった。次に、タンパク濃度を一定にし、CaCl₂あるいはMgCl₂の濃度を1.0~10.0mMの範囲にして30分後の結合体生成量を測定すると、2.0~5.0mMの範囲で直線的な上昇を示すS字型曲線が得られた。4.0mMのとき phosvitin-Ca は phosvitin-Mg の約2倍、10mMでは1.7倍であった。つまり phosvitin-Mg の生成はまだ上昇線をたどっていた。結合速度の差が認められた。これらの金属イオンとの結合体は長時間(4mMで一晩、10mMで3時間)放置すると試験管の壁に沈着する性質をもつ。

phosvitin の水溶液に一価の陽イオンを加えても白濁は生じないが、二価の陽イオンと一価の陽イオンとが共存する場合、結合体の460mμにおける値は一価の陽イオン濃度に反比例することから、competitiveに結合すると考えられる。10mM CaCl₂中で生じた phosvitin-Ca の460mμにおける値をゼロにするには、50mM NaClを必要とした。またこの場合の濁度の減少は瞬間的であった。以上のような方法により phosvitin と一価の陽イオン(Na⁺, K⁺, Li⁺, NH₄⁺)および二価の陽イオン(Mg²⁺, Ca²⁺)との間には平衡関係があり、一価の陽イオンはすでに結合している二価の陽イオンを速やかに追い出すことがわかった。

硫酸分画によって得られた phosvitin を CONNELLY and TABORSKY (1961)の方法により、DEAE-celluloseのカラムクロマトでさらに分画すると、0.30M NaClと0.35M NaClのところで溶出される二つの分画に分れた。タンパク質を主体に考えれば、50mMのNaCl濃度の差を識別したことになり、1分子の lipovitellin の中に性質の異った2分子の phosvitin が包み込まれている可能性がある。

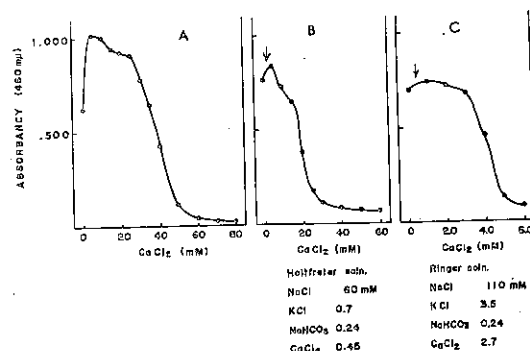
lipovitellin の塩溶液中における溶解度の差を調べるために、超遠心法と差スペクトルによるタンパクの吸収曲線を検討した。

一価の塩については0.5M、二価の塩については0.25

Hirofumi HAYASHI: Studies on amphibian yolk platelet proteins as ion exchangers.

Mに溶けている lipovitellin を一定量づつ、終濃度が10~300mM になるよう調整された塩溶液に滴下し、攪拌して30分間放置した後に10万gで90分間超遠心した。上清に残る 280m μ の吸収を塩濃度に対してプロットし、溶解度曲線を描いた。一価の塩溶液中での溶解度は50~100mM 付近で最も低く、200mM 以上では急速な上昇曲線を描いた。10mM における NaCl 中での溶解度は KCl 中での約20倍に達した。一般に二価の塩溶液中では溶解度が高く、特に CaCl₂ 溶液中では10mM 以上ではなんらの変化も認められなかった。ただし、1~5 mM の間でかなり顕著な変化があり、蒸留水に溶解しているタンパクを滴下して得た溶解度曲線では、3mM で一旦低下して4mM で再び上昇するのが見られた。

差スペクトルは10mM の各塩溶液中の lipovitellin の吸収から蒸留水中の lipovitellin の紫外吸収スペクトルを差し引くことにより得られた。超遠心による溶解度の知見と合わせて考えると、lipovitellin を可溶化する力は CaCl₂ > LiCl > MgCl₂ > NaCl > KCl の順序であった。



単離したタンパク卵黄粒を脱イオン水に一夜透析して、コマゴメビベットを用いて激しく攪拌して後、120~140×g、5分間遠心して上清に残る部分をホルペンに取り、さらに脱イオン水を加えて攪拌することにより、lipovitellin-phosvitin complex の懸濁液を得た。この懸濁液を試料にして、460m μ における濁度の変動をカルシウム濃度に対してプロットし、その状態変化を調べた(図A)。それを、Ca-free HOLTFRETER および Ca-free RINGER 液を基底溶液に用いた場合(図B, C)と比較した。(A) 水の状態に比較して、5mM CaCl₂ のとき濁度は著しく増大して、20mM に肩を示しながら完全に

溶解するには60mM の濃度を必要とした。この曲線は、phosvitin を包んでいる lipovitellin envelope を外から可溶化するときの状態変化と考えられる。(B) 基底液に Ca-free HOLTFRETER を用いると、Ca-free のときの濁度がすでに高く、5mM における値は低下してその差は縮小されていた。ほぼ完全に溶解される濃度は40mM に減少していた。(C) においてはその傾向が助長され、Ca-free RINGER の場合6.0mM CaCl₂ のときはほぼ完全な可溶化が認められた。一価の塩類溶液は60~110mM 付近で lipovitellin を可溶化せず、むしろ疎水性を与えるので、これらの状態変化は、Ca-依存性であり、lipovitellin envelope を外から可溶化する作用と、Na⁺により phosvitin から遊離された Ca²⁺ による内からの可溶化の作用が合わさって生じたと考えられる。正常な HOLTFRETER および RINGER 液での状態を矢印で示した。

phosvitin にはイオン交換能の異なる2種類の分子があり、それらがひとつの lipovitellin envelope に包まれている場合、sol $\rightleftharpoons$ gel の状態変化の過程で必然的に極性をもつであろう。実際生体には膜状に配列する可能性もあり、タンパク質複合体自身の状態変化はイオン環境を調節して、酵素やその他の生理学的活性に影響を与え、発生と分化の方向を規定すると考えられる。このように見てくると、卵黄粒タンパク質は細胞質因子として重大な意味をもつ。

(謝辞) これらの研究を行なうに当り便宜を計られた川上教授ならびに山名助教授に謝意を表します。

文 献

- WALLACE, R. A. (1963) Biochem. Biophys. Acta, 74 : 495, 505.
- LANZAVECCHIA, G. (1965) J. Ultrastr. Res., 12 : 147.
- JUDAH, J. D., AHMED, K. and McLEAN, A. E. M. (1962) Biochem. Biophys. Acta, 65 : 472.
- JUDAH, J. D. and AHMED, K. (1963) ibid, 71 : 34.
- KAVANAU, J. L. (1965) Structure and Function in Biological Membranes. 2, Holden-Day, San Francisco.
- RINGLE, D. A. and GROSS, P. R. (1962) Biol. Bull., 122 : 281.
- SCHJEIDE, O. A. and URIST, M. R. (1959) Exp. Cell Res., 17 : 84.
- CONNELLY, C. and TABORSKY, G. (1961) J. Biol. Chem., 236 : 1364.

6-アザウリジンおよびアクチノマイシンDのアフリカツメガエル胚単離細胞に対する作用、特に仁の変化に関して

鯨島 宗文・塩川 光一郎・山名 清隆・川 上 泉(九州大学 理学部 生物学教室)

両生類胚発生において、RNA 合成、ことにリボゾム RNA 合成が原腸胚初期で認められるようになり、尾芽胚期で顕著になること⁽¹⁾、一方、仁の形成がやはり原腸胚初期で始まり、次第に発達して尾芽胚期で典型的形態を呈するようになるが、出現時の仁は主として fibrous component からなっていて、発達するにつれて granular component がつけ加わって形成が完成されること⁽²⁾が正常胚発生で知られている。また、胞胚期で単離した細胞を培養した場合、リボゾム RNA 合成活性の経時的変化が正常胚のそれと同じであること⁽³⁾、そしてその培養細胞において、仁の出現発達や小胞体の発達など細胞学的変化が正常胚と同じ分化過程を示すこと⁽⁴⁾が報告されている。このように胚発生においても仁と RNA 合成との関係が注目される。成体細胞においてはアクチノマイシンDの作用による仁の変化がいくつか報告されている^(5,6,7)が、胚発生における報告はないようである。そこで胚発生における RNA 合成と仁との関係に注目して、RNA 前駆体の阻害剤として一般に知られている6-アザウリジンおよび RNA 合成阻害剤アクチノマイシンDを、それぞれ 10⁻³M と 1 μ g/ml の濃度で、仁の形態形成が典型的となり始めるアフリカツメガエルの初期尾芽胚の単離細胞に作用させて培養2, 4, 6および10時間後の細胞学的変化を、特に仁に重点をおいて電顕観察した。

単離直後の細胞の核は、真正染色質がほぼ均質に分散した明るい像を示し、仁は fibrous component と granular component とが nucleolonema を形成して、ほぼ円形である(第1図)。培養10時間後には仁はさらに発達してくるが核質などに大きな変化はない。アザウリジン処理2時間の細胞では、細胞質内諸構造および核質に特別の変化は認められない。しかし仁に大きな変化が生じる。すなわち granular component が減少し、幾分濃縮して電子密度の増大した fibrous component が索状に残った像を示す(第2図)。処理4時間後には、

Munefumi SAMESHIMA, Koichiro SHIOKAWA, Kiyotaka YAMANA, Izumi KAWAKAMI : Effects of 6-azauridine and actinomycin D on the ultrastructure of the isolated cells of *Xenopus laevis* embryos with special reference to the nucleolar changes.

染色質が異常に凝集して、仁の痕跡と思われる fibrous component が小塊状に凝集した細胞も見られる。処理10時間後には大半の細胞で染色質が異常凝集しており、仁も見られず、核質に細胞質のグリコゲン顆粒と思われるのと同じような顆粒が混在している。このような細胞死へ進んでいると思われる細胞の他に、影響をあまり受けていない細胞も見られる。アクチノマイシンD処理の場合では、処理2時間で仁は fibrous component が異常に凝集して granular component から分離し、染色質も多くの場合で異常凝集している(第3図)。処理10時間後では、ほとんどすべての細胞が核濃縮を起こし、細胞質には小胞体の膨潤したと思われるおびただしい小胞が見られる。このようなアクチノマイシンD処理による仁の変化様式は、他種動物の成体細胞で報告されているのとはほとんど同じである。

RNA 合成阻害という点で同じ作用をもつ物質でも、その第一次の作用機構の異なると思われる物質によって仁の受ける変化様式が異なることは、各 RNA 合成に対する仁の構造と機能を示唆していると考えられ、詳細な生化学的データと結び合わせて調べることが必要であろう。

文 献

- BROWN, D. D. and LITINA, E. (1964) J. Mol. Biol., 8 : 669.
- HAY, E. D. and GURDON, J. B. (1967) J. Cell Science, 2 : 151-162.
- SHIOKAWA, K. and YAMANA, K. (1967) Develop. Biol., 16 : 368-388.
- SAMESHIMA, M., SHIOKAWA, K. and YAMANA, K. (1968) Proc. Japan Acad. (in press).
- NARAYAN, K. S., STEELE, W. J. and BUSCH, H. (1966) Exptl. Cell Res., 43 : 483-492.
- SCHOFEL, G. L. (1964) J. Ultrastruct. Res., 10 : 224-243.
- STEVENS, B. J. (1964) J. Ultrastruct. Res., 11 : 329.

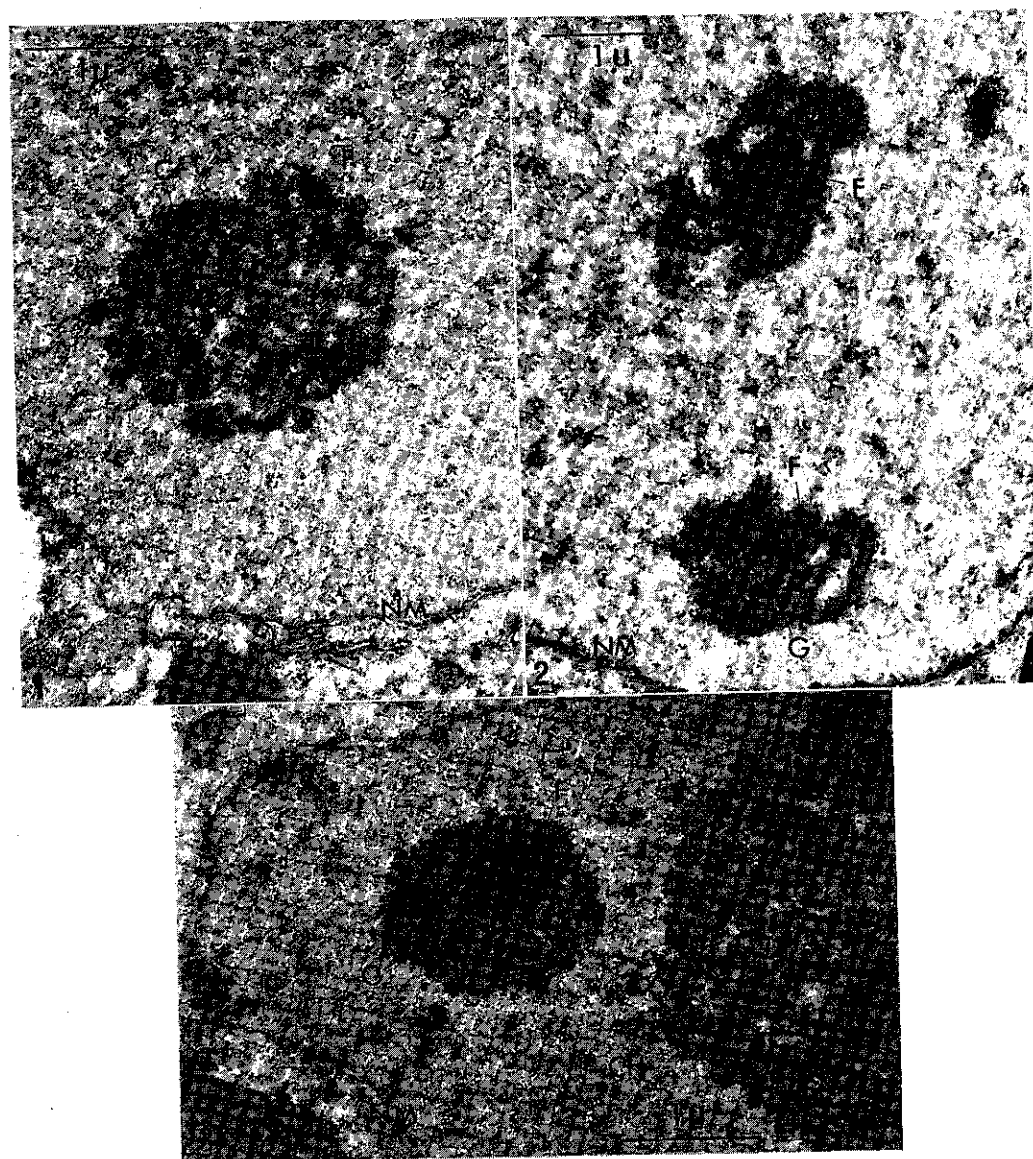


図 解

- 第1図 初期尾芽胚を単離した細胞の一部 仁は fibrous component (F) と granular component (G) とが交錯しており、ほぼ球形をしている。NM: 核膜
- 第2図 6-アザウリジン処理2時間後の核2個の仁のうち上方の仁では granular component が激減して、ほとんど fibrous component (F) からなる索状をしている。下方の仁では下部に granular component が集合しているほかは、ほとんど fibrous component (F) からなっている。
- 第3図 アクチノマイシン処理2時間後の細胞の一部 仁は granular component (G) と fibrous component (F) が分離している。右方に染色質 (CH) の異常凝集が見られる。NM: 核膜

Xenopus 胚リボゾーム RNA 合成阻害因子の ニホンアカガエル胚細胞に対する影響

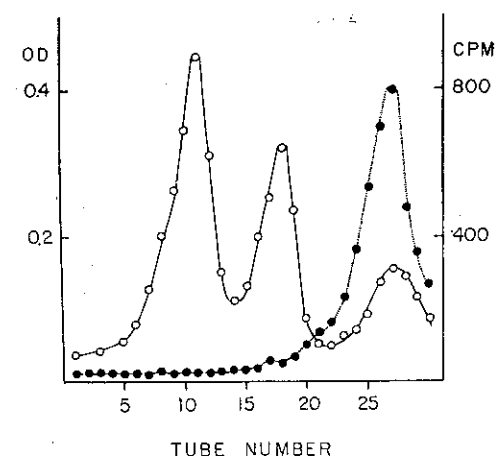
塩川 光一郎・山名 清隆(九州大学 理学部 生物学教室)

Xenopus laevis の初期胚におけるリボゾーム RNA 合成は、卵割期から胞胚期にいたるあいだはおこなわれたいが、のう胚期以降では発生とともに活発となる⁽¹⁾。最近、この現象を説明する具体的な試案として著者らによってリボゾーム RNA 合成に特異的な inhibitor の存在が問題にされてきた⁽²⁾。この inhibitor は胞胚の酸可溶性分画に存在し、胞胚細胞の培養液にとけ出てくる熱に安定な低分子物質であり⁽³⁾、目下精製と同定がなされつつある。ところで、このような inhibitor はひろく一般的に両生類の初期胚発生過程でリボゾーム RNA の合成の調節に関与しているものであろうか。この点を検討するために、ここではニホンアカガエル *Rana japonica* をとりあげ、その初期胚の RNA 合成のパターンを調べたのちリボゾーム RNA 合成の inhibitor の存在を確かめ、次いで *Xenopus* 胞胚の inhibitor が *Rana* 胚のリボゾーム RNA 合成を特異的に阻害することを明らかにした。

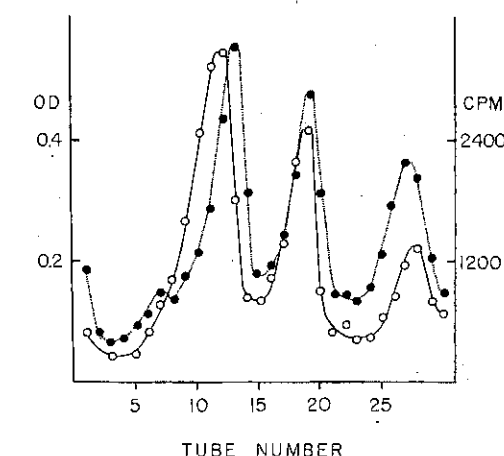
ラベルに際しては常に5匹の胚を EDTA 処理により単離細胞とし、 H^3 -ウリジン ($10\mu C$) を含む最終2mlの STEARNS 溶液で5時間培養した⁽⁴⁾。inhibitor としては、10匹の胞胚の単離細胞を0.25mlの STEARNS 溶液で5時間培養したのち細胞を遠心によって除いた上澄をとり1回の処理に用いた⁽⁵⁾。RNA 抽出はフェノール法 (pH 5.0) によったがネズミ肝 RNA を担体として用いている⁽⁶⁾。

まず *Rana* の胞胚と尾芽胚の RNA 合成のパターンをしよ糖密度勾配遠心法で比較した(第1, 2図)。その結果胞胚では sRNA 合成は活発であるがリボゾーム RNA 合成が全く認められないのに対し、尾芽胚では sRNA 合成のみならず、18Sおよび28Sの二つのリボゾーム RNA 成分の合成もおこっていることが明らかとなった。次に *Rana* の胞胚から上記の方法で inhibitor を調整し *Rana* の尾芽胚細胞を処理した。メチル化アルブミンカラムで RNA を分画した結果、処理胚細胞の sRNA 合成には変化はなかったが、リボゾーム RNA 合

Koichiro SHIOKAWA and Kiyotaka YAMANA: Effects on the isolated cells from *Rana japonica* embryos of the inhibitor of ribosomal RNA synthesis in *Xenopus laevis* embryos.

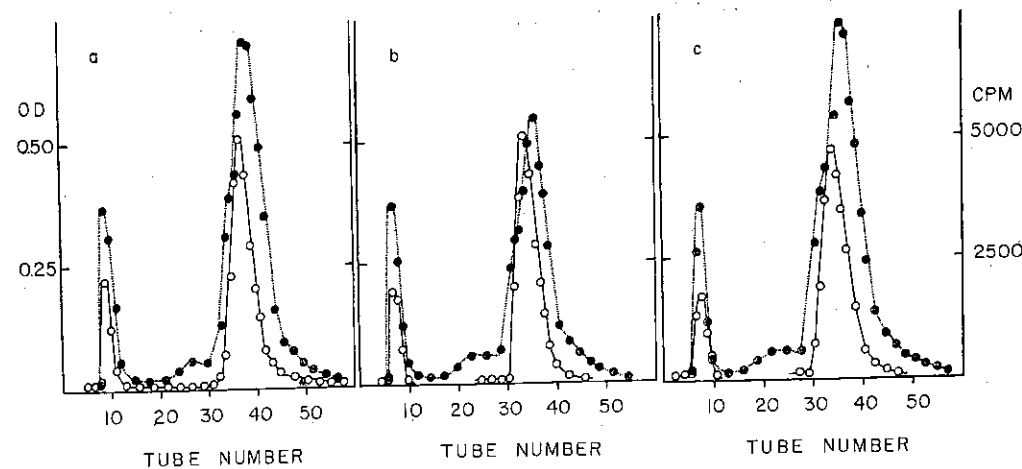


第1図 *Rana* 胞胚細胞の RNA 合成
○: OD, ●: CPM



第2図 *Rana* 尾芽胚細胞の RNA 合成
○: OD, ●: CPM

成は明らかな低下(約35%)を示した。逆に *Rana* の尾芽胚細胞の培養液を同様に調整し胞胚細胞に与えたが、この場合には RNA 合成のパターンに変化は全くなかった。この結果は *Rana* においても胞胚にはリボゾーム RNA 合成の inhibitor が存在することを示すものである。最後に、*Xenopus* 胞胚から inhibitor を調整し、これが *Xenopus* 尾芽胚細胞のリボゾーム RNA 合成を特異的に阻害する(約45%)ことを確かめたのち、これを



第3図 *Xenopus* 胚リボソーム RNA 合成 Inhibitor の *Rana* 尾芽胚細胞の RNA 合成に対する影響
a 無処理; b Inhibitor で処理; c *Xenopus* 尾芽胚細胞培養液で処理 ○: OD, ●: CPM

Rana の尾芽胚細胞に与えた。対照実験として *Xenopus* 尾芽胚細胞の培養液を *Rana* の尾芽胚細胞に与えた。メチル化アルブミンカラムを用いて調べた結果、第3図に示すように *Xenopus* の inhibitor はリボソーム RNA 合成のみを明らかに低下させた(約35%)が同様に調製した *Xenopus* 尾芽胚細胞の培養液は全く影響を与えなかった。したがって明らかに *Xenopus* 胞胚の inhibitor が *Rana* 尾芽胚細胞のリボソーム RNA 合成を特異的に阻害したものと解釈される。

以上の結果から、少なくとも両生類胚の初期発生過程では、inhibitor による阻害作用を通してのリボソーム RNA 合成調節が一般的な調節形成であって、しかも

inhibitor は、各種の動物において、同一あるいは極めて類似の構造をもつものと考えられる。

この研究を温かく見守り適切な助言を下された研究室の川上泉教授に感謝の意を表します。

文 献

- (1) BROWN, D. D. and LITINA, E. (1964) J. Mol. Biol., 8 : 669.
- (2) YAMANA, K. and SHIOKAWA, K. (1966) Proc. Japan Acad., 42 : 811.
- (3) SHIOKAWA, K. and YAMANA, K. (1967) Develop. Biol., 16 : 389.

脊椎軟骨細胞のクローン培養—発生に伴う cellular stability の獲得

渡辺 一雄(京都大学 理学部 動物学教室)

9日目ニワトリ胚の肢軟骨組織中においてすでに軟骨基質を多量に分泌している“軟骨細胞”を酵素処理により単一の遊離細胞としてとり出し、培養液をみたしたプラスチックシャーレにこのごく少数をいれて培養を行なう。すると、1個1個の細胞はシャーレの底に密着して増殖を開始し、やがて単一細胞から増殖してきた細胞群(クローン)が肉眼でも充分認められる程の大きさにまで成長してくる。しかも、このクローンの各構成細胞は、その本来の分化形質である軟骨基質を細胞間に多量に分泌しているのである。1966年、H. G. COON によって確立されたこの実験系は、胚細胞を少数培養のもとで激しく増殖させても、なおかつその細胞本来の分化形質がきわめて安定に発現されつづけることを示した点で画期的な成果であったと同時に、これによってわれわれは胚発生の過程でおこる分化現象を、個々の細胞のレベルで *in vitro* で研究する手がかりをはじめて得ることができたといえる。

筆者はこの培養技術を脊椎軟骨細胞に適用して、いろいろな発生段階にある胚の chondrogenic cells についてそのクローン形成能およびクローンにおける分化形質の発現能を検討し、脊椎軟骨を構成する細胞の性質の発生に伴う変化をたどってみた。

ふ卵4日(st. 24)から12日(st. 39)のニワトリ胚の硬節あるいは脊椎軟骨組織を材料とする。細胞の解離はトリプシン、コラーゲナーゼ、EDTA 混液で行ない、培養は F-12 栄養液に牛胎児血清と胚抽出液の分画を加えた培養液で径 60mm の Falcon plastic dish に300個の単離細胞をいれて5% CO₂, 37°C で行なった。

(1) 軟骨クローン(分化クローン)はどの程度若い胚から得ることができるか?

現在のところ軟骨クローンを得ることのできるもっとも若い胚は st. 26 である。これは、ちょうど脊索をとり囲んでいた硬節の細胞が脊索にしっかり接着するよう

になり、硬節細胞の細胞間隙には軟骨基質がはじめて検出される時期に相当する。この脊索の周囲でまっ先に分化形質を表現しはじめる細胞が、培養下で軟骨クローンとなるのであらうと考えられる。

(2) 発生に伴う軟骨クローン数の変化

ふ卵5日目からふ卵12日目へと出発材料のステージが進むにしたがって、はじめにまいた細胞数(300個)に対して得られてくる軟骨クローンの数は対数的に増加してくる。このことは、培養下でクローンを形成し、分化形質を発現するという尺度を満足させるような細胞が、st. 26 できわめてわずかながら出現し、以後発生の進行に伴って st. 38 に至るまでずっと増えつづけることを示している。かりに *in situ* ですでに分化形質を発現していた細胞が、*in vitro* で軟骨クローンになると仮定すると、st. 32 ではもうすべての細胞が軟骨基質に包まれているのに、*in vitro* で軟骨クローンはごくわずかしき得られないことから、*in situ* で軟骨基質に埋まった細胞でもそれ自身は分化形質発現能をもたないかあるいはまだ stabilize していない細胞がかなり存在することになる。

(3) 死んでいくクローン

一体軟骨クローンとならなかった残りの細胞は、*in vitro* でどうなっていくのだろうか? じつはことに若い胚の細胞からは、培養後しばらく増殖をつづけるが細胞数100に達しないうちに増殖を停止し、やがて死んでいくようなクローンが相当数生ずることが判った。またまれに増殖をつづけて分化形質を発現しない大きなクローンとなるものも認められる。これらの細胞が st. 38 胚で軟骨クローンとなるような細胞の前駆体なのか、あるいは全く別の機能をもった細胞なのかはわからない。

in vitro で増殖し分化する細胞を“cellular stability”を獲得した細胞であるとするれば、胚発生に伴うその数量的変動がこのような実験で記述できるであらう。cellular stability の細胞生物学的意味づけは今後の課題である。

Kazuo WATANABE: Clonal cell culture of the cartilage cell: an acquisition of the cellular stability during vertebral chondrogenesis.

クローン培養における分化形質のコントロールの一例

—軟骨細胞における場合—

岡田 節人(京都大学 理学部 動物学教室)

分化という現象を細胞レベルで研究しようとする場合、単一細胞を遊離、培養して、それから生じた、いわゆるクローン単位について解析できるような実験系が理想的である。しかし、このような系では細胞本来の分化形質の維持や発現をみることは不可能にされており、このことが、クローン培養を分化の研究の手段として使用することを著しく制限してきた。最近、COON (1966) や、CAHN and CAHN (1966) は、いくつかのタイプの細胞について、分化形質の発現を可能ならしめるようなクローン培養に成功した。このような実験系を用いて、形質発現のコントロールを行なうことが本実験の目的であるが、特に本報告においては、チミジンのアナログである 5-bromodeoxyuridine (以下 BUdR と略) の効果について述べる。

実験材料・方法: 材料としては卵13~15日目のニワトリ胚胸骨を使用する。培養方法は COON の方法に多少改変を加えたものである。コラゲナーゼ、トリプシン処理でえた単離軟骨細胞を100個あて、径 6cm のプラスチックベトリ皿にまき、HAM's F10 (多少改変してある) を培養液として培養する。培養 4 日目、各単一細胞が 8~16 個程度にまで増殖したとき、 1×10^{-5} ~ 1×10^{-6} M の BUdR を加え、さらに 3 日間培養をつづける。BUdR 処理が終わったら、再び正常の培養液に戻し、17~19 日まで培養を行なって、固定、トルイジンブルーで染色し、メタクロマジーを示す質をもったクローンの数を算えた。必要に応じて、15~16 日目の軟骨クローンの一つをとり二次培養した。

実験結果: 本実験の条件ではコントロール培養において plating efficiency $\left(\frac{\text{固定時に生じたクローンの数}}{\text{ベトリ皿1枚に培養した細胞総数}} \times 100 \right)$ は常に約 50% 程度であり、生じたクローンのうちの 60~80% 程度が軟骨基質をもったクロー

Tokindo OKADA: Control of differentiation in clone culture.

ン、つまり分化形質を発現したクローンである。BUdR 処理を行なった培養でも、plating efficiency は全くコントロールと異ならない。しかし、それらのほとんどは、軟骨基質をもたないもの、つまり軟骨としての分化形質を発現していないものである。この事実、BUdR は細胞の増殖に何らの阻害をあたえることなく、分化形質の発現のみを阻止したといえる。この点を確かめるため、培養 4 日目、BUdR 添加時においていくつかのクローンをマークし、BUdR を取り除いた 7 日目までに、同一クローンの細胞数がどのように増加するかをみた。コントロール培養における同様な観察では、この期間に平均 7.37 ± 2.78 倍に細胞数は増加し、BUdR 処理では平均 10.14 ± 3.18 倍の増加がある。固定時において、各クローンの細胞数は 5×10^3 ~ 3×10^4 程度まで増加している。そして BUdR 処理ではこれらの細胞の全部が形質を発現していないから、この処理の効果は、かなり非可逆的に分化形質の発現を阻止したものといえる。

BUdR の効果は濃度に依存する。 1×10^{-5} M に始まって、逐次希釈した液について効果をみると、 8×10^{-6} M で、ほぼコントロールと同程度の分化形質の発現を認めることができる。培養液として用いた F10 はチミジンを含むので、これを除去した培養液について、同様な希釈実験を試みると、BUdR の効果がチミジンと競合していることが明らかである。すなわち、チミジンを欠く培養液では、BUdR の 0.1×10^{-5} M でもクローンの分化形質の発現は完全に阻止されており、 8×10^{-6} M においても、なお生じたクローンのうちの 60% 程度が形質を発現していない。

最後に 2 次クローン培養について効果を検した。明らかに軟骨分化のある第一次クローンの細胞をとり、これを二枚の sister plates に分けて培養し、一方を BUdR で処理した。多くの場合、コントロールでは 100% 近くの分化コロニーがえられたが、処理プレートでは、コロニーのすべてで、形質の発現は阻止されていた。

ホヤ幼生の尾部における筋肉の分化

寺門 潔(埼玉大学 理工学部 生化学教室)

横紋筋の分化に関する電顕的観察は数多く報告されているが、骨格筋と心筋のちがいが、種のちがいなどによって多くの異論が生じている。例えば、筋原線維の発生について "thin filament" が "thick filament" に先立って出現するもの (ALLEN and PEPE, 1965; OBINATA *et al.*, 1966)、その逆とするもの (HAY, 1961) および同時に出現するもの (FERRIS, 1959; LINDNER, 1960; BERGMAN, 1962; HAY, 1963, 1967; HUANG, 1967) などがある。著者はマメボヤ *Perophora orientalis* 幼生を用いて観察を行なった。

ホヤ胚の筋原細胞は尾芽期初期より、内接する脊索細胞および外接する表皮細胞から、ミトコンドリアが圧倒的に多いということによって容易に区別することができる。また、核周辺には目立ったゴルジ領域が存在することも一つの特徴である。粗面小胞体の発達が悪く、細胞周辺部にわずかにみられるのみである。尾芽期初期の筋原細胞の細胞質の約 1/3 は卵黄顆粒および脂肪性顆粒によって占められており、その間にミトコンドリアとリボ

思われる 110Å 前後の粒子と 50~60Å 程度の粒子が付着している。この粒子はしばしばリボソームに比べて電子密度が低下している。この線維が現われはじめると、その領域のリボソームが著るしく減少するのがみられる。この細い線維が増加するにつれ、その一部にそれよりやや太い線維が現われてくる。この太い線維は太いものでは 150~160Å となり何本かが平行にならぶ傾向が強い。また、リボソームはこの線維の近くには多いが、この線維に直接接していることは少ない。この太い線維はある程度分化した myosin の前駆体であり、細い線維は分化初期の actin および myosin の前駆体であることが推測される。

この研究を進めるにあたり、多くの助力をいただいた東京教育大学、林雄次郎教授に深く感謝いたします。

文 献

ALLEN, E. R. and PEPE, F. A. (1965) Am. J. Anat., 116: 115.



ゾームが無数に存在している。リボソームのほとんどは "cluster" を形成しており、発生が進むにつれてリボソームは細胞質全体に分布するようになる。やがてリボソームは脊索および表皮に接する細胞周辺部に多くなり、その領域に 30~45Å の細い線維がまず現われる。その線維には小数のリボソームとリボソームから由来したと

Kiyoshi TERAKADO: Muscle differentiation in the tail of the ascidian tadpole.

BERGMAN, R. A. (1962) Johns Hopkins. Hosp. Bull., 110: 187.
 FERRIS, W. (1959) Anat. Rec., 133: 275.
 HAY, E. D. (1961) Anat. Rec., (1961) 139: 236.
 HAY, E. D. (1963) Z. Zellforsch., 59: 6.
 HAY, E. D. (1967) Organogenesis, 315.
 HUANG, C. Y. (1967) J. Ultrastruct. Res., 20: 211.
 LINDNER, E. (1960) Anat. Rec., 136: 234.
 OBINATA, T., YAMAMOTO M. and MARUYAMA, K. (1966) Devel. Biol., 14: 192.

網膜培養上清の水晶体誘導効果

川上 泉・渡辺 敦光(九州大学 理学部 生物学教室)

最近、末端分化がしばしば研究対象として選ばれている。限定された分化能を持つ組織で分化誘発の特殊条件を明らかにすることは、確かに分化機構の解明に有利な手段であろう。特に分化組織の形態または生化学的特性が同定に適合しているならなおさらである。この後者の条件を満たすものに水晶体があるが、水晶体の起原組織として、鶏胚または両生類の水晶体上皮を用いる時は、また前の条件を満たすものと見ることができよう。COULOMBRE and COULOMBRE (1963) は5日目の鶏胚で水晶体の内外軸を180°回転して、手術後2日目ですでに網膜に面した水晶体上皮の水晶体繊維化を観察している。すなわちこの実験では水晶体上皮の網膜物質による繊維化と、この変化が極めて短時間に起こることが示されている。そこでここに発表する実験は、できるだけ単純な分化系を得る目的と、網膜のもつ水晶体繊維化物質の単離、および胚発生での脳誘導作用と、水晶体誘導作用との関連付けを、脊索前板のもつ両組織の誘導物質の面から行なう目的でなされた。予備的実験の第1報である。

実験には主として9日目の鶏胚を用いた。この胚の水晶体上皮の中央部片を同じ胚から得た網膜片と一緒に鶏卵の卵囊胚で包んで、合成培地199:鶏胚汁:牛血清(3:1:1)で3日間培養(CO₂, 5%; 37°C)すると、水晶体上皮は明らかに繊維化する。この場合水晶体繊維の伸長方向は網膜の位置に無関係である。このことは、網膜の有効物質が卵囊膜袋の中に無定方向に分散していることを示す。そこで網膜25~30個を取り、5mlの培養液で24時間培養後遠心上清を取りこれを正常培養液に1:1の割合で加え、その誘導効果を検べると、この中で培養した水晶体上皮は3日後には顕著な細胞の伸長を起し、水晶体繊維の構造をとる。しかしここに用いた網膜培養上清には鶏胚汁、および牛血清を含むから、今後の有効物質の単離に不利である。そこで199培養液のみで網膜を培養しその上清を用いて、単離水晶体上皮の反応

Izumi KAWAKAMI and Hiromitsu WATANABE: Lens inducing effect of the conditioned medium of retina.

を見た。結果は上記と何等変らない。その効果は原培養液で2倍、4倍に薄めても同じであって、わずか1/4濃度で水晶体繊維の伸長が劣る程度である。このような効果は前脳の培養上清では見られない。また10万倍で原上清を1時間半遠心した上清でも水晶体上皮の繊維化が起り、この効果が網膜に特異的で細胞破片が関係していないことを示している。網膜培養上清に含まれる有効物質の性質に見通を得るために、まず原上清の透析をティロード液に対して行なったが、その内液の誘導効果に変化はなかった。他方上清を5分間沸騰水で湯せんした後では、完全に不活性であった。そして、この液では原上清であられる280mμの吸収の山は消失していた。これらの実験結果から有効物質が蛋白質である公算が大であるので、飽和硫酸で落ちた沈澱を正常培養液に溶かして検べると、これには強い水晶体繊維化の作用がある。ここに生じた繊維状細胞が、正常な水晶体繊維であるかどうかを決定するには、δ-クリスタリンを抗原として免疫学的検定を待たねばならないが、少くとも形態的には水晶体繊維とみなされる。この誘導系でこの方面の実験系として最も有利な点は、最初に述べた2点を満たすことと、わずか3日で結果が見られる点である。また網膜のホモジネイトを培養液に加えたものにも水晶体繊維化効果が見られるが、有効物質の純粋化、単離のためには、培養上清の方がはるかに有利であることは明らかである。

この網膜物質が分離培養された水晶体にどのように作用するかは、水晶体の正常形成における構造分化を知る上で興味がある。現在の段階でいえることは次の諸点である。正常培養液ですでに42時間目に繊維細胞の空胞化、上皮細胞の崩壊、ならびに上皮の細胞伸長域からの、繊維体への繊維の追加が行なわれないが、培養上清を加えたものでは、より正常な水晶体の形が保たれる。ただ上皮中央部の繊維化が起らないことの理由は今後の分析に待たねばならない。

文 献

COULOMBRE, J. L. and COULOMBRE, A. J. (1963) Science, 142: 1489-1490.

アクチノマイシンD処理鶏胚 RNA による、原条初期の鶏外胚葉片にみれる組織転換について

能登 民人(宮崎大学 教育学部 生物学教室)

まえがき(組織転換について)——本実験では、遺伝子のDNA直接産物であるRNAを用い、組織レベルでの最も単純な反応系である鶏胚外胚葉片(予定表皮)に対するその影響を調べた。この反応系に引き起こされた変化(反応系の一部の細胞群にその予定発生運命とは異なる方向に組織分化が起こること)を、筆者は組織転換と呼ぶことにする。この形態学的な組織転換の現象を遺伝子作用の面から考えるならば、例えば、予定表皮細胞の遺伝子作用のパターンは、組織転換に際し、他の組織細胞の遺伝子作用のパターンに転換しているはずである。このような観点から、筆者は能動系に重点をおいた誘導という概念ではなく、反応系の細胞群における遺伝子作用のパターンの転換を含めた組織転換の概念を提起したい。

方法——10%卵白salineの中で、原条初期の鶏のblastoderm前側部域から、約2mm²の組織片を切り出した後、内外の二胚葉を分離し、外胚葉(予定表皮域)のみを卵黄膜でつつみ、有湿のシャーレ内のスライドグラス上で24時間培養した。これらの外植体には、あらかじめ、10日鶏胚からフェノール法により抽出された全RNAの飽和液(4°C, 0.9% saline),あるいは、アクチノマイシンDで前処理された10日鶏胚(24時間処理, 約10~20μg/egg)からの全RNA飽和液が1滴加えられた。

結果および考察——Table 1にみられるごとく、controlおよびRNA処理の全ての外植体は、その予定発生運命に従って表皮組織を形成した。しかし、いずれの場合にも1例ずつ、外胚葉から内胚葉への転換が観察された。この胚葉転換は、すでにSPRATT (1965)および筆者(Noro, 1968)が観察しているものである。これは、培養条件の未知の要因によって引き起こされた組織転換と考えられる。

この他に、アクチノマイシン無処理RNAが加えられた外植体には、脊索組織(Fig. 1)、腎組織(Fig. 2)、神経組織(Fig. 3)未分化の中胚葉性組織が、外胚葉か

Tamito Noro: On tissue transformations caused by embryonic RNA extracted from 10-day chick embryos pretreated with actinomycin D on the isolated ectoderm of the early chick blastoderm.

Table 1. The result of RNA treatments on the isolated ectoderm of the early chick blastoderm.

No. of explants	Control (10% albumen)	Total RNA (saturated)	
	20	Non-treated	Pretreated
Tissue observed		15	17
Epidermal	20	15	17
Neural	0	5	1
Nothochordal	0	1	0
Unidentified mesodermal	0	4	5
Pronephric	0	1	0
Endodermal	1	1	1

The ectoderm (2mm²) was isolated from the anterolateral part of the early primitive-streak-blastoderm of the chick. The isolated ectoderm was then wrapped with the vitelline membrane and cultured in a medium of 10% albumen saline on the surface of a glass plate for 24 hours. One drop of saturated RNA solution was added to each explant immediately following the culture. RNA extracts were prepared respectively from 10-day chick embryos non-treated or pretreated with actinomycin D (10~20μg/egg, for 24 hours).

ら転換していることが観察された。一方、アクチノマイシン処理RNAが加えられたものでは、神経組織(Fig. 4)、未分化の中胚葉性組織のみが観察された。

これらの組織転換の中で、外胚葉から神経組織への転換が、アクチノマイシン無処理のRNAでは5例、処理RNAでは1例のみ観察されたことは、特に注目に値する事実である。

種々のRNAが神経組織の形成をもたらすことは、NIU (1966), BUTROS (1965)等によって報じられている。しかし、これらのRNAの神経組織形成作用は、アクチノマイシンの前処理によって、抑制される傾向にあることが本実験によって暗示された。恐らく、RNAはアクチノマイシンDがDNAに働きかけることによって(Reich et al., 1962)何らかの影響を受けたものに違いない。この影響がどのようなものであるのか、あるいはRNAの組織転換作用がどのようなメカニズムによるものであるかは、ここでは論じ得ない今後の課題である。

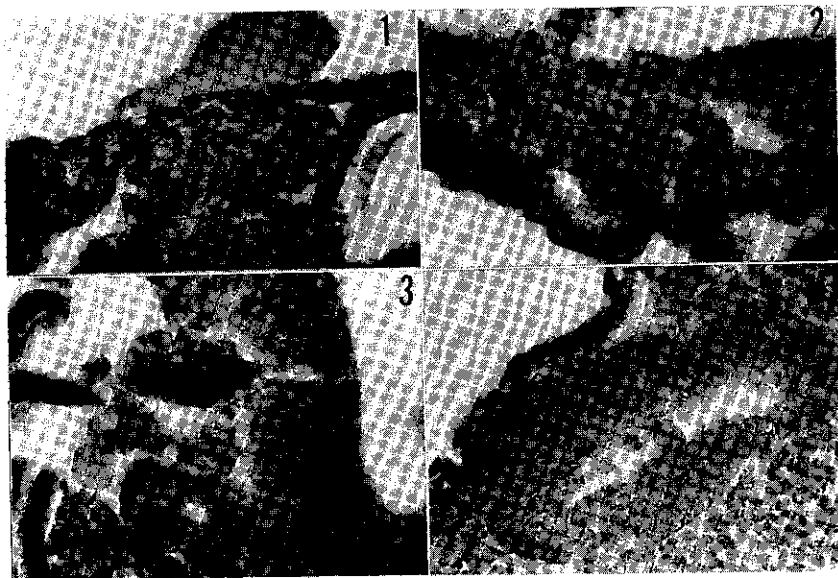


Fig. 1 Notochord tissue (RNA)
Fig. 2 Pronephros tissue (RNA)
Fig. 3 Neural tissue (RNA)
Fig. 4 Neural tissue (RNA pretreated with actinomycin D)

文 献

- REICH, E., GOLDBERG, I. H. and RABINOWITZ, M. (1962) *Nature*, 196 : No. 4856, 743-748.
BUTROS, J. (1965) *J. Embryol. exp. Morph.*, 13 : part 1 : 119-128.
NELSON, T., SPRATT, JR. and HAAS, H. (1965) *J. Exp. Zool.*, 158 : 9-38.
SANYAL, S. and NIU, M. C. (1966) *Proc. N. A. S.*, 55 : 743-750.
NORO, T. (1968) *Memoirs Miyazaki Univ. (Nat. Sci.)* 24 (in press).

鶏胚漿膜上皮の誘導的化生—II

香川 務*・加藤 淑裕** (名古屋大学 理学部 生物学教室)

現所属 * 国立療養所刀根山病院 ** マサチューセッツ州立大学

鶏胚漿膜上皮は鶏胚皮膚間充織の誘導作用によって表皮および表皮附属器に化生することが知られている(KATO and HAYASHI, 1963)。鶏胚漿膜上皮が鶏胚足背部皮膚間充織の誘導作用で表皮に化生する過程の形態学的変化を光学顕微鏡および電子顕微鏡で観察し、漿膜上皮から誘導された表皮は正常の過程を経て分化した鶏胚足背部表皮と同じ構造を持つことを前報で報告した(香川, 1965)。今回は鶏胚漿膜上皮(CE)に鶏胚足背部皮膚間充織(DM)を作用させ、初期(大体24時間以内)に起る形態学的変化を電子顕微鏡で観察したので報告する。材料および方法は前報の通りである(香川, 1965)。8日卵から漿尿膜を取り、EDTA溶液で処理してCEを分離した。処理後の漿膜上皮細胞(CE細胞)は処理前に比べて細胞質の電子密度が高く、リボゾームの不規則な集合が認められた。基底膜(電子顕微鏡で観察)は分離の際、間充織側に残り、CEには認められなかった。15日鶏胚の足背部皮膚(鱗状皮膚)をとり、EDTA処理で表皮を取り除き皮膚間充織(DM)を得た。皮膚間充織細胞(DM細胞)の一部はEDTA処理後、核濃縮を示したが、大部分は処理前と同じ形態を示した。EDTA処理後、アニリン青で染る基底膜は消失したが、電子顕微鏡で観察される基底膜はほとんど形態的变化を示さず、その内側にコラーゲン線維が認められた。DMの基底膜面とCEの間充織に接していた面とが相接するように両組織を組み合わせ、タイロッド液中に30分間置いて後8日卵の漿尿膜上に移植し、30°Cに置き、適時、固定包埋して電子顕微鏡で観察した。組み合わせて30分後では、両組織は、未だ癒着せず、両組織の間には隙間があり、CE細胞からDMに向う細胞質突起が見られた。これはDMの生物学的活性によるものかまたはEDTA処理によるCE細胞の変化によるものか明らかでない。EDTA処理直後、CE細胞で見られた細胞質の濃縮やリボゾームの不規則な集合は見られず、処理前の形態を回復していた。組み合わせて6時間後、両組織は完全に癒合

し、アニリン青で染る基底膜も見られまた電子顕微鏡で観察されるDMの基底膜はCE細胞の細胞膜の凹凸にそって走っていた。組み合わせて10~18時間後、CE細胞内にはロゼット状に配列したリボゾームが多く見られ、同時にCE細胞の基底膜に面した細胞膜の内側に細胞膜に平行に走る細い線維が現われ、2~3時間後には、CE細胞とDM基底膜の間にも同様の線維が現われた。おのおの細胞内および細胞外基底線維と呼ぶ。細胞膜に対して垂直に起る内外の基底線維も認められ、CE細胞の細胞膜を介して互いに連絡しているように見えた。細胞外基底線維の増加と共に、基底膜は線維状となり、細胞外基底線維と区別がなくなかった。次いで細胞外基底線維が減少するにつれて、巾の広い基底膜が形成された。リボゾームのロゼット状配列、基底線維の出現、基底膜の形成は、鶏胚足背部表皮の分化の場合、6日~11日にかけて見られる(香川, 1966)が、CEとDMを組み合わせた場合、わずか10~24時間以内に見られることは興味深い。基底膜の形成後の化生の過程は前報の通りである(香川, 1965)。リボゾームのロゼット状配列、基底線維の出現、基底膜の形成は鶏胚漿膜上皮—鶏胚足背部皮膚間充織相互作用の機作の一側面をあらわしていると思われる。今後、この点に重点をおいて、器官分化における上皮—間充織間相互作用の機構を解析してゆくつもりである。

謝辞 江口吾朗博士に対し、電子顕微鏡の技術について貴重な御教示を戴きましたことを深く感謝します。江口吾朗博士、利根川泰遠氏の有益な討論に対しても御礼申し上げます。

研究費の一部は National Institute of General Medical Science の研究費 GM-10641 による。

文 献

- KATO, Y. and HAYASHI, Y. (1963) *Exptl. Cell Res.*, 31 : 599-602.
香川 務 (1965) 実形誌, 19 : 115.
香川 務 (1966) 動雑, 75 : 324.

Tsutomu KAGAWA and Yoshihiro KATO : Inductive metaplasia of a chick chorionic epithelium.

ラッテ正常肝細胞および肝癌細胞の RNA 合成

福田 哲也・秋野 武喜子・天野 実(国立がんセンター研究所 生物学部)

癌細胞は現在のところ自律的に増殖し、かつ他の組織を浸潤するものと一応定義されており、癌細胞の悪性度は形態学的所見によりしばしば脱分化などの表現で論じられて来たが、正常細胞と癌細胞との差異を細胞のレベルで比較検討することが重要であると考え、RNA 合成についておこなった実験結果を報告する。高等動物細胞における RNA 合成はラジオオートグラフによる組織化学的方法や、放射性の RNA 前駆体の取込みを細胞質と核を分離してしらべる生化学的方法⁽¹⁾によりしらべられ、ほとんどすべての RNA は核内で合成されることはすでに明らかにされているが、核内の構成成分である核小体、染色粒、核質の各々に存在する RNA およびそれらの部位で合成される RNA の生化学的研究は使用する材料から細胞質の混在しない核の分離、および核内構成成分の分画が可能であることが必要である。

材料および方法

正常ラッテ肝臓細胞からの分画法はすでに発表⁽²⁾した通りである。肝癌細胞としては呑電系雌ラッテで移植可能な腹水肝癌細胞 AH-130 を用いた。移植後 7 日目に腹水を集め 5mM CaCl_2 を含む 0.25M 蔗糖液で洗い遠心沈殿後細胞容積の約 10 倍量の 5mM CaCl_2 水溶液にて膨潤させ 15~17 μ の Emanuel-chaikoff ホモジェナイザーで細胞膜をこわし等量の 5mM CaCl_2 を含む 0.5M 蔗糖液と混合し、170 $\times$ g 5 分の遠心で粗製核を沈殿させる。 CaCl_2 の濃度 1mM で同様な方法により粗製核を沈殿させた上清を細胞質分画とする。粗製核を 2.3M 蔗糖液に懸濁した後 40,000 $\times$ g 30 分の遠心⁽³⁾で細胞質や細胞の混在しない核が沈殿として得られる。核は 0.25M 蔗糖液に懸濁し音波処理により核膜をこわし 1/2 量の 0.88 M 蔗糖液に重層し 2,000 $\times$ g 20 分の遠心により核小体を沈殿させる⁽⁴⁾。上清に 2/3 量の水を加え MgCl_2 濃度を 1mM とし 8,000 $\times$ g 15 分の遠心により沈殿と上清に分けおのおのを染色粒、核質分画と呼ぶ。

放射性前駆物質の取込み実験は放射性正リン酸 1mC を 150g 前後の担癌ラッテの腹腔に注射し一定時間後に細胞を集めた。

RNA の抽出法は正常肝臓細胞と同様⁽⁵⁾で、核小体、細胞質からは SDS フェノール法、染色粒、核質からは

フェノールのみにて抽出した。蔗糖密度勾配遠心法は 40~10% の液を用い SW-25.1 ローター 25,000rpm 18 時間遠心後 OD₂₅₄ を ISCO の自記記録計で測定し、放射能の測定には 1ml づつの分画に 0.5mg BSA を加え 0.5N 過塩素酸の沈殿について測定した。

塩基組成の分析は RNA の 0.3N KOH, 37°C 18 時間の加水分解について KATZ and COMB⁽⁶⁾ の方法により、かつ UMP, GMP 分画での放射性無機リンの除去は柳田法⁽⁷⁾によった。

核酸、蛋白質の定量は 5% トリクロル酢酸の沈殿について行ない、DNA, RNA, 蛋白質はおのの BURTON⁽⁸⁾, WEBB⁽⁹⁾, LOWRY⁽¹⁰⁾ の方法により定量した。

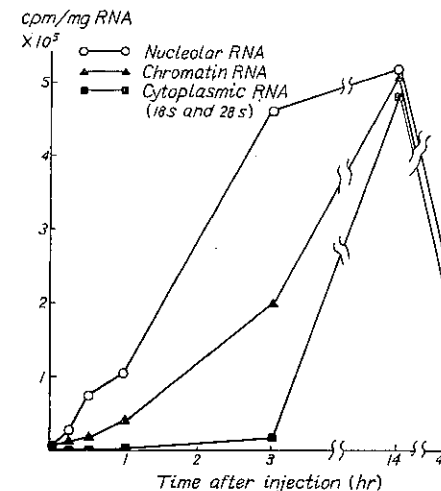
結果

自由細胞型である AH-130 肝癌細胞の核の分離は非常に困難であり、核を分離する時に用いる溶液、 CaCl_2 の濃度によっても得られる核の形態学的所見、核酸、蛋白質の含有量には相異がある。5mM CaCl_2 のみを含む 0.25M 蔗糖液で処理して得た核は細胞質の混在はほとんどなく分離核の RNA、蛋白含量が最も高い。正常肝臓細胞の核の RNA/DNA は 0.16 であるのに対して肝癌細胞の核のそれは 0.36 であり、核あたりの DNA 量は同じ⁽¹¹⁾ だから肝癌細胞の核の RNA 含有量は明らかに高いことを示している。さらに分離した核小体は核全体の RNA の約 19% を占めておりこの値も正常肝細胞の約 10% と比較すると明らかに高い。

放射性リンを腹腔内に注射後の各分画に存在する RNA の比放射能の変化は第 1 図に示すごとくであり、核小体 RNA の比放射能は核内の核小体以外の部分の約 2.4 倍である。この値と核内構造体に存在する RNA の量の割合からおののにおいて合成される RNA の比は計算可能であり、肝癌細胞においては約 36% が核小体において合成されており、正常肝細胞の 15% と比較してやはり高いことを示している。

各分画から抽出した RNA の蔗糖密度勾配遠心パターンおよび放射能の分布の結果、核小体 RNA には他の分画の RNA に存在する 28S, 18S リボソーム RNA および 4S RNA 以外に 45S, 36S, 23S RNA が識別され、短時間のラベルではこれらの RNA の比放射能が高い。染色粒、核液では 30 分後に放射性リボソーム RNA が出現するが、細胞質では 1 時間以後である。14 時間後には放射能の分布は完全に OD の曲線に一致する。

The changes of specific activities of RNAs in AH-130 cells.



各分画に存在、および 30 分間に合成された RNA の塩基組成を分析した結果、核小体には GC rich なリボソーム型 RNA が存在かつ合成されており、染色粒では AU rich な RNA が合成されていることが明らかになった。

結論

ラッテ腹水肝癌細胞の核は正常肝臓細胞の核の約 2 倍の RNA を含んでおり、核小体には GC rich なリボソーム型 RNA が存在しかつ合成されるのに反して染色粒では AU rich な RNA が合成されている。

正常肝臓細胞では合成される RNA の 15% が核小体であるのに肝癌細胞では 36% で明らかにリボソーム RNA の合成が活発である。

文 献

- (1) PRESCOTT, D. M. (1964) Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology, 3 : 33.
- (2) AMANO, M. (1967) Exptl. Cell Res., 46 : 169.
- (3) CHEUVEU, J. MOUL, Y. and RONILLER, C. (1956) Exptl. Cell Res., 11 : 3.
- (4) MURAMATSU, M., SMETANA, K. and BUSCH, H. (1963) Canc. Res., 23 : 510.
- (5) AMANO, M. (1967) Exptl. Cell Res., 46 : 180.
- (6) KATZ, S. and COMB, D. (1963) J. Biol. Chem., 238 : 3065.
- (7) YANAGITA, T. (1964) : J. Biochem., 55 : 260.
- (8) BURTON, K. (1956) Biochem. J., 62 : 315.
- (9) WEBB, J. M. (1956) J. Biol. Chem., 221, 635.
- (10) LOWRY, O. H. (1951) J. Biol. Chem., 193 : 265.
- (11) ISAKA, H. (1967) Gann, 58 : 575.

癌細胞の組織再合成における細胞選別

黒田 行昭(国立遺伝学研究所 形質遺伝部)

生体の組織、器官より遊離した単一細胞が組織再合成の過程で示す細胞選別現象は、発生にともなう生ずる細胞の組織再合成活性の変化(KURODA, 1967c, 1968; MOSCONA, 1962)や、単層培養において細胞の組織特異性の消失にともなう現われる組織再合成活性の変化(KURODA, 1963, 1964)とともに、細胞表面の微少な細胞親和性の分化に起因するものと考えられる。

細胞選別現象において、細胞が自己と同一の組織性(isotypic)の細胞か、異なった組織性(heterotypic)の細胞かを識別する機構については種々の仮説が提出されているが、その1つとして、遊離細胞によって生成されるたん白を含む化学物質が関与していることがMOSCONA(1962)およびKURODA(1967d)によって報告されている。このような細胞選別現象を利用して、分化の程度やその方向性を異にする細胞の微少な変化を、厳密に規定された条件下で、可視的にさらに定量的にかなり高い精度をもって研究することが可能である。

正常細胞の癌化の過程における変化を、このような細胞の組織再合成活性の変化や選択的細胞選別活性の面から追究し、癌細胞発現の過程を細胞分化との関連において研究した。

ラウス肉腫細胞や、マウス自然発生乳癌などでは、癌化にともなう組織再合成活性がいちじるしく増大し(KURODA, 1967a)、ヒト子宮癌由来のHeLa細胞では、胚葉性を異にする種々のニワトリ胚細胞の中で、とくに中胚葉性の真皮細胞や筋肉細胞、前軟骨細胞に特異的な親和性を示した(KURODA, 1967b)。

今回はさらに、マウス・プラズマ細胞腫瘍を用いて、癌発現の過程における組織再合成活性の変化を構成細胞群の消長および特異的細胞選別現象の観点よりしらべた。使用したマウス・プラズマ細胞腫瘍は米国NIHのPOTTER博士および国立遺伝研の吉田俊秀博士より提供されたもので、C3H系またはBALB/c系マウスに継代移植された結節性および腹水性の腫瘍である。

C3H系マウスの結節性のプラズマ細胞腫瘍×5563をトリプジン処理により遊離細胞としたもの 10^6 個を3mlの培養液に浮遊させ、エーレンマイヤーフラスコに入れ

て70rpm, 38°Cで24時間旋回培養すると、表面のどこにばこした大きな再合成組織と、それより少し小さい細胞結合のゆるい別の再合成組織とを生じた。組織切片でしらべると、前者は核の染色性が減少した退化しつつある細胞群からなり、後者は活性のある細胞群からなり高い頻度で細胞分裂像も観察された。

BALB/c系マウスの腹水性プラズマ細胞腫瘍を上と同様な条件下で旋回培養した場合には、1~2個の大きな再合成組織が形成され、組織切片の観察では、再合成組織の中心部に活性のある細胞群があり、それを取巻く周辺部に退化しつつある細胞群が見られた。

このように、結節性の腫瘍と腹水性の腫瘍のいずれにおいても、活発な増殖性細胞群と変性細胞群との明確な細胞選別現象が見られるのであるが、結節性腫瘍の場合には両細胞群が別個の再合成組織に分離し、腹水性腫瘍の場合には両細胞群が一つの再合成組織の中で分離した別の組織を形成した。このことは、マウス体内における異なった生存環境様式に対する細胞の適応性を反映しているものと考えられる。

このようなマウス・プラズマ細胞腫瘍の組織再合成活性と細胞の染色体数との関係をしらべると、BALB/c系マウスの結節性腫瘍で2倍性染色体($2n=40$)をもった細胞よりも、低4倍性染色体($s=73$)をもった細胞の方が、より強い組織再合成活性を示した。マウス体内においては、2倍性染色体をもった細胞よりも、低4倍性染色体をもった細胞の方が増殖性が強いことから、この場合に細胞の増殖性と組織再合成活性とは、正の相関関係をもつことが分かった。

ついで、このような低4倍性染色体をもったマウス・プラズマ細胞腫瘍細胞を、種々の正常組織由来の単離細胞と色々な組合せで混合し、旋回培養を行なって、組織再合成を行なわせ、プラズマ腫瘍細胞が、正常細胞に対して、どのような細胞相互作用を示すかをしらべた。使用した正常細胞としては、4日目、7日目および8日目のニワトリ胚の種々の組織から遊離した細胞で、これらをマウス・プラズマ腫瘍細胞と混合し旋回培養した結果、第1表に示したようになった。

マウス・プラズマ腫瘍細胞は、ニワトリ胚の皮膚表皮細胞、漿尿膜外胚葉および内胚葉細胞、肝臓細胞などの外胚葉性細胞および内胚葉性細胞に対しては、明確な細胞選別現象を示して別個の再合成組織を形成するが、心臓細胞、軟骨細胞、中腎細胞、皮膚真皮細胞、漿尿膜中胚葉、間充細胞などの中胚葉性細胞に対しては、細胞親和性を示し、プラズマ腫瘍細胞と、これら中胚葉性細胞との入りまじった混合再合成組織を形成した。

第1表 マウス・プラズマ腫瘍細胞とニワトリ胚正常細胞の旋回培養における選別現象

胚葉起源	ニワトリ胚正常細胞		マウス・プラズマ腫瘍細胞の行動
	細胞の種類	胚の発生時期	
外胚葉	皮膚表皮細胞	7日目胚	細胞選別あり
	漿尿膜外胚葉細胞	7日目胚	
	心臓細胞	8日目胚	
中胚葉	軟骨細胞	8日目胚	細胞選別なし
	中腎細胞	8日目胚	
	皮膚真皮細胞	7日目胚	
	漿尿膜中胚葉細胞	7日目胚	
	間充細胞	4日目胚	
内胚葉	肝臓細胞	8日目胚	細胞選別あり
	漿尿膜内胚葉細胞	7日目胚	

細胞選別現象を示して別個の再合成組織を形成するが、心臓細胞、軟骨細胞、中腎細胞、皮膚真皮細胞、漿尿膜中胚葉、間充細胞などの中胚葉性細胞に対しては、細胞親和性を示し、プラズマ腫瘍細胞と、これら中胚葉性細胞との入りまじった混合再合成組織を形成した。

このように、癌細胞が特定の正常細胞だけに選択的な細胞親和性を示す現象は、すでに報告したHeLa細胞(KURODA, 1967b)の場合にも示されている。マウス・プラズマ腫瘍細胞においても、HeLa細胞においても、と

もに中胚葉性の正常細胞に対して、選択的親和性を示すことは、これらの腫瘍細胞がいずれも中胚葉起源であることによるものか、あるいは、細胞の癌化という変化によって、このような特性を獲得したものかは明らかではないが、細胞の癌化と細胞分化との関連を探る上にも興味ある事実である。

文 献

- KURODA, Y. (1963) Exptl. Cell Res., 30 : 446-448.
 KURODA, Y. (1964) Exptl. Cell Res., 35 : 337-348.
 KURODA, Y. (1967a) Ann. Rep. Natl. Inst. Genet. Japan, 17 : 17.
 KURODA, Y. (1967b) Ann. Rep. Natl. Inst. Genet. Japan, 17 : 18.
 KURODA, Y. (1967c) Ann. Rep. Natl. Inst. Genet. Japan, 17 : 34-35.
 KURODA, Y. (1967d) Ann. Rep. Natl. Inst. Genet. Japan, 17 : 35-37.
 KURODA, Y. (1968) Exptl. Cell Res., 49 : 626-637.
 MOSCONA, A. A. (1962) J. Cell Compt. Physiol., 60 (Suppl. 1) : 65-80.

プラナリアの腸管再生

木戸 哲二(金沢大学 理学部 生物学教室)

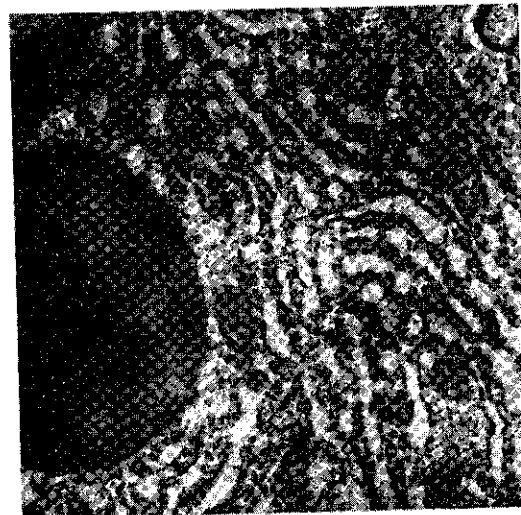
プラナリアの再生にあずかる細胞は、間充織中に貯蔵された全能性の胚的細胞(neoblast)が起原であって、この細胞はどの組織細胞にも分化するという意見が強かった。これに対して、われわれは切断端付近にあるそれぞれの組織細胞がいわゆる脱分化して再生細胞となり、これら起原を異にした細胞の集団中にそれぞれの起原に対応した細胞の再分化がおきることを主張した。われわれは、さらに、表皮の再生は古いもとの表皮細胞の伸展によって行なわれることを微細構造の上から観察したが、この報告では腸管の再生で、われわれの主張を裏付けるには、まず切断付近の腸管組織細胞に脱分化が見られるかどうかをしらべたものである。

光顕的観察：正常虫の腸管を構成する細胞は丈が高く1層に配列し隣接する細胞とは基底部で特に間隙が大きい。細胞質にはエオシンでよく染まる顆粒が多く含まれている。核は細胞の基底部付近に位置し輪廓は明瞭であるが内部はヘマトキシリンに染り難いので明るくみえる。

腸管の再生をみるために、さらに木戸(1958, 1961)が行なったように咽頭後部域で横断し、その後方片をさらに正中線に沿って縦断し、1条の主腸管しか持たない再生片をつくった。切断直後の再生片は縦断傷面を内側にして著しく彎曲する。従って主腸管の切断端も縦断面に沿って彎曲する。切断後24時間では、傷口付近のlumen中には間充織の破片や腺細胞の遊離したものを認める。この時の腸管組織細胞の配列は傷面からかなり離れた部域まで攪乱されている。このような組織の中に仁のある大きな核をもった、細胞質が好塩基性である細胞の集団が見られる。切断後48時間では、主腸管の先端は縦断面に沿って後方へ細くのび出す。この部分の狭いlumenには組織の破かい物は含まれていない。この延びた主腸管の先端から、細胞質が細長く延び、数列となって後方へ連続しているところのヘマトキシリンで染り易い細胞集団がみられる。この部分が腸管再生部域と見てよい。

電顕的観察：正常細胞では、細胞質中に大きな球状顆粒が多くみられ、電子密度はやや高く均一であり、60~80Åの限界膜でつまれている。これら顆粒間の細胞

質中に粗面小胞体が著しくよく発達し、cisternaeは規則正しい配列をしている(第1図)。切断後3~5時間で



第1図 正常虫の腸管細胞内の小胞体と顆粒
説明は本文中にあり。

は、切口付近で、上記顆粒には全く変化をみないが、顆粒周辺の粗面小胞体に不規則な配列がしばしば見られる(第2図)。さらに細胞質内に複雑な内部構造をもった、



第2図 切断後5時間、切断端付近の腸管細胞と顆粒
説明は本文中にあり。

Tetsuji Kido: Intestinal regeneration in planarian, *Dugesia japonica*.

恐らく phago-lysosome と思われるかなり大型の顆粒がみられる。ときには前記腸管細胞内顆粒と接している場合がある。切断後24時間では、細胞内顆粒が崩壊し始めた状態から全く崩壊して空虚な vacuole 化した像までいろいろの段階のものが多く見られるようになる。vacuole 化の多い細胞では粗面小胞体の崩壊も進んでおり、膜構造の配列はみられず、遊離のリボゾームが豊富に存在している。特に再生腸管の先端部で光顕的観察で、ヘマトキシリンでよく染まる細長い細胞の集団を指摘したが、このような集団内の細胞はさらに vacuole は消失し遊離のリボゾームが細胞質内を均一に豊富に分布し、ミトコンドリアは正常な腸管細胞より多く存在している。しかしその後このような細胞がもとの集団から単独に遊離するかどうかを確かめることはできなかった。

上記の観察で著しいことは、光顕的にみた腸管の再生域にある細胞が微細構造の上から、粗面小胞体が次第に崩壊し消失し遊離のリボゾームが多く存在するようになることで、これは HAY (1959) が *Amblystoma* の肢

の再生で筋肉の脱分化を観察している場合と非常によく似ている。ただし、筋肉のように単独に遊離細胞となるかどうかはわからない。上記の現象は細胞崩壊の過程でないことはその後の観察で断言できると思う。細胞内顆粒の崩壊、vacuole化、lysosome に関しては脱分化の過程と関連しているかどうかは今後の検討に待たねばならない。しかし、腸管の再生において、もとの古い細胞に脱分化の徴候がみられるということは認めてよいと思う。

本実験中特に電顕に関しては当教室の岸田助教授の助力の賜である。

文 献

- HAY, E. D. (1959) *Develop. Biol.*, 1: 555.
ISHII, S. (1965) *Fukushima Med. Sci.*, 12: 67.
KIDO, T. (1961) *Sci. Rep. Kanazawa Univ.*, 7: 107.
STRAUS, W. (1967) *Enzyme Cytology*. Acad. Press, London and New York. 239.

イトメ未成熟型と成熟型の脳神経節における神経分泌細胞

岡田 克弘(徳島大学 教育学部 生物研究室)

生殖群泳中のイトメの成熟個体のことを、日本ペロロというが、この日本ペロロの体腔には、放出されるばかりの生殖細胞が充満している。このようなペロロの卵細胞と精子をとりだして、生息水域と塩分度の等しい稀釈海水の中で媒精をしても、受精はまったく成功しない。けれども、除脳手術をほどこしたペロロを、2~3日ほど明所で生存させたりえて卵細胞をとりだし、塩分濃度の高調域で、媒精前にマグネシウム濃厚海水で処理、さらに媒精直後には過沃素酸海水で処理すると、きわめて高い受精率を得ることができる。除脳しない対照個体、または除脳しても暗所で保存した対照個体からの卵細胞は、同様な処理をほどこしても、はるかに低い受精率を示すにすぎない(OKADA, 1968)。このことは、日本ペロロの脳神経節が、体腔中の卵細胞にたいして、受精の達成に必要な活性化の作用を、何等かのかたちで抑制していることになる。おそらく、脳神経節に存在する神経分泌系のはたらきによるためであろう。

日本ペロロの脳神経節における神経分泌細胞の存在は、すでに報告されたことであるが(TAKEUCHI, 1965)、未成熟イトメの脳神経節については、いまだ報告されていない。他方、多毛虫類については *Nereis* その他の多くの種類で、未成熟個体の脳神経節を切除する実験、あるいは移植する実験によって、生殖細胞の成熟を促進し、あるいは抑制し、未成熟型から成熟型への変態を支配するホルモンが存在すると報ぜられている(DURCHON, 1962; GOLDING, 1967)。ここでは、未成熟イトメの脳神経節の神経分泌系が、成熟ペロロへの変態後も、なおどこまで残存するかを組織像を知るために、未成熟イトメと成熟ペロロ両者の脳神経節にある神経分泌細胞を検出し、それらの組織像の比較吟味をこころみた。

材料と方法 材料は徳島市を貫流する吉野川の河口流域の汽水区に生息する *Tylorrhynchus heterochaetus* を用いた。未成熟イトメは、4月あるいは6月に採集した。成熟ペロロは、旧暦10月における新月時大潮に群泳中のものを採集した。方法はブアン氏液固定、7~10ミクロンのパラフィン切片、ゴモリー氏アルデヒドフクシンをクラーク氏変法による染色で標本作製した。

Katsuhiko OKADA: Neurosecretory cells of the cerebral ganglion in the cases of both immature and mature forms of *Tylorrhynchus heterochaetus*.

観察の結果 イトメの頭部は口前葉と囲口葉の2体節からできている。口前葉の前端には1対の触角、側面には3対の感覚毛があり、さらに背面には2対の眼蓋がある。前方の1対を第1眼、後方の1対を第2眼と名づける。囲口葉の側面にも、なお1対の長い感覚毛がある。口前葉の内部は、そのほとんどが脳神経節を構成する神経組織によって占められる(第1, 2図)。脳神経節は、これらの感覚器官と関連して、かなり複雑化したところの、いわゆる神経核をもつ。それらの神経核は、占める位置によって、前方背面神経核、第1眼柄神経核、側面神経核、腹面神経核、第2眼柄神経核および後方背面神経核に大別することができる。いろいろの型の神経分泌細胞、つまり、アルデヒドフクシン好染の顆粒をもつ細胞が、これらの神経核のいずれにも、混入して検出される(第1, 2, 7, 8図)。

細胞の大きさとアルデヒドフクシン顆粒の様相とを基準として、これらの神経分泌細胞の類型をわけると、A, B, C および D 細胞の4種類が得られる(第3, 4, 5図)。A細胞は大型の細胞であるが顆粒は小さい。B細胞も大型の細胞で顆粒もまた大きい。C細胞は小形の細胞で顆粒が小さい。D細胞は小形の細胞であるが、顆粒が大きい。これら各型の分泌細胞は、いずれの神経核にも検出されるが、均等に分布しているのではない。また、その分布状態は、未成熟イトメと成熟ペロロのあいだで、注目すべきちがいがみとめられる。

未成熟イトメでは、A細胞は前方背面神経核と側面神経核とに比較的多い(第1, 7図)。しかも、分泌活動を示唆するような細胞像、たとえば液胞形成像などもみられる(第3図v)。また、C細胞は第1と第2眼柄神経核に多い。B細胞とD細胞は、概して数が少ない。成熟ペロロにおいては、B細胞とD細胞の存在が、概してよくめだつ(第2, 8図)。とくに、第2眼柄神経核では、大型の分泌細胞が退化した空隙と思われる特異な組織像の存在が目される(第6, 8図1)。これに反して、C細胞とD細胞については、未成熟イトメと成熟ペロロのあいだで、あまり大きなちがいはみとめられない。

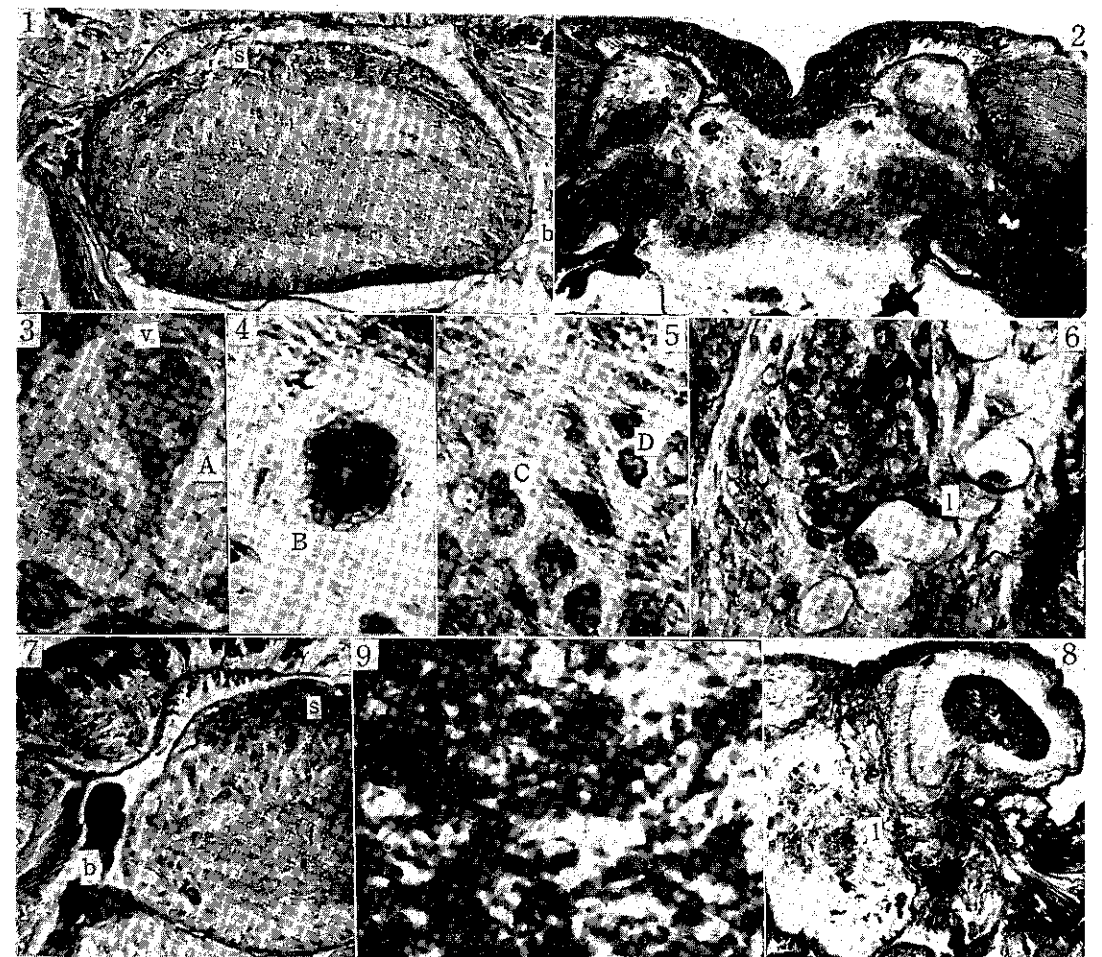
さらに、未成熟イトメでは、背面神経核の表層の組織には、分泌産物と考えられるアルデヒドフクシン顆粒が、多量に集積された特異な組織像をみとめることができる(第1, 7図sおよび9図)。けれども、成熟ペロ

ロでは、分泌顆粒の集積部位と考えられる組織像はみあたらない(第2, 8図)。

要するに、イトメからペロロへ変態しても、脳神経節神経分泌機能が、なお一部残存するであろうことを、脳神経節の神経分泌細胞が暗示する。その残存機能は、おそらく、主として小形の分泌細胞の方と関連するものであらうと思われる。

文 献

- DURCHON, M. (1962) Gen. Comp. Endocrinol., Suppl. 1.
GOLDING, D. W. (1967) Biol. Bull., 133.
OKADA, K. (1968) Sci. Rep. Tôkoku Univ., IV Ser. Biol., 33.
TAKEUCHI, N. (1965) Sci. Rep. Tôhoku Univ., IV Ser. Biol., 31.



人為的に誘導されたニワトリの卵精巢

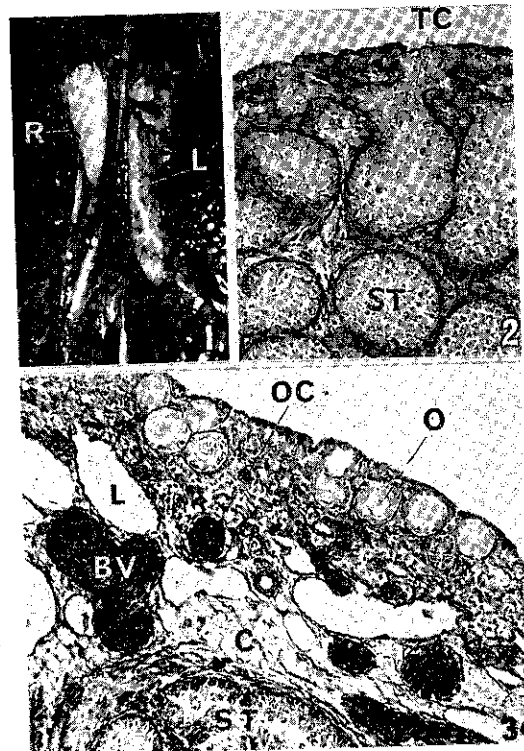
朝山 新一(大阪市立大学 理学部 発生学研究室)

われわれの研究室では SELTZER (1956), PINCUS *et al.* (1962) の開発した 鶏卵浸漬法によってもたらされる雄胚生殖巣の雌性化を確かめ、報告 (ASAYAMA, 1966; MIYAMORI, 1966) したが、本報告では観察の範囲をさらに孵化後の若鶏にまで拡張した研究結果の概要をのべる。

市販の受精卵(White Rhode ♀ × Rhode Island Red ♂)を卵卵4日目に鋭端を下にして卵の約2/3を dimethylstilbestrol 溶液 (50 mg DES/100 ml isopropylalcohol) 中に20秒間浸したのちふたたび解卵をつづけ、孵化した6羽の雛を2ヶ月間飼育、剖検のち生殖巣の組織分化をしらべた。6羽のうち2羽は褐色羽毛をもち、剖検して雌であることが確かめられた(用いた鶏の品種の交配では羽毛の形質は criss-cross 遺伝をする)。すなわち右側生殖巣は痕跡的に退化するが、左側生殖巣は前後長約13mm, 最大幅約8mm, やや扁平で赤味をおび辺縁部に鋸歯状のくびれこみがあって、明らかに卵巣であることがわかった。6羽のうちの他の4羽は白色羽毛であったが、そのうち1羽は羽の一部に褐色の羽毛をまじえていた。剖検の結果、これらの4個体はどれもみな右側生殖巣が白味をおびた棒状の外観を呈している。一見して精巢であることがわかり、それらの個体は遺伝的雄であると判断できた。しかし左側生殖巣は大きく膨潤し(前後長約13mm, 最大幅約6mm), 全体が赤味をおび、同一齢の雄鶏の場合と異った外観を呈していた(第1図)。

組織標本によると、♀の卵巣の皮層では多数の卵母細胞をふくむ卵索の活発な成長とよく発達した卵母細胞(直径0.38~0.46mm)が観察された。84個体の右側生殖巣は典型的な精巢組織で最外層の体腔上皮に白膜が形成され、その内部は緊密に発達した細精管で占められている。細精管の間隙はかなりよく発達した間質でうずめられるが、細精管に精子形成は認められない。同一齢の正常な雄鶏に比べ精巢の発達はやや遅れているようである。左側生殖巣は外観からも察せられるように、右側の精巢とは全く異った組織像をしめす。生殖巣の外縁部にはあらたに肥大成長した上皮組織がみられ、多数の前顆粒細胞に埋って一層の卵胞細胞に囲まれた卵母細胞が数多く発達している(第3図)。肥大した上皮組織には内

Shin'ichi ASAYAMA: Artificially induced chicken ovotestis.



第1図 DES 処理ニワトリ(孵化後2ヶ月)の生殖巣
L: 左側生殖巣(卵精巢), R: 右側生殖巣(精巢)

第2図 卵精巢の精巢組織 ST: 細精管, TC: 精索
第3図 卵精巢の卵巣組織 BV: 血管, C: 網状結合組織, O: 卵母細胞, OC: 卵索, L: 小腔, ST: 細精管

部へ陥入する索状の構造が認められ、その様相は正常卵巣の発達にみられる卵索形成に相応する。肥大した上皮組織下にはあらに網状結合組織の層があり、そのなかにはちじりしい血管の分布がみられる。また、結合組織中には多数のかなり広い内腔をもった小腔(lacunae)が形成されている。網状結合組織につづく生殖巣の髄部は正常な精巢組織で占められるが、精子形成は認められない。処理を受けた若鶏♂の左側生殖巣はこのように外層が雌性、内層が雄性的生殖巣組織より成るモザイク生殖巣に発達している。

生殖巣の各部域にわたって詳細に観察をすすめると、精巢部域において、肥大を誘発された上皮組織が内部へ増殖陥入をしめしながら、性索内に卵母細胞の形成がみられず、性索の末端が直接に精巢の細精管と連らなって

いる組織像が発見される(第2図, TC)。こういう部域では卵細胞の発達がみられる部域とちがって、肥大した上皮組織の下は膠原繊維や間質組織で占められ、網状結合組織や小腔の形成は認められない。言い換えれば卵精巢構造に発達した雄鶏の生殖巣では、肥大した上皮組織とともに多岐に分布した血管と小腔の発達した部域に限って、肥大陥入した上皮組織中に卵細胞の発達がおこっている。正常な卵巣の発達が胚生殖巣上皮の二次的肥大と髄層を構成する一次性素(予定細精管)と間充織(予定間質)の退化変化によって実現される事実を思いあわすと、上述の所見は、生殖巣の性分化を支配する機構に関連して間充織の誘導的役割を示唆している点で特別の注意を要する。すなわち、上皮と間充織細胞の集団よりなる単位体(epithelio-mesenchymal unit)である原的な生殖巣から精巢構造が分化するためには上皮系組織の増殖に加えて間充織由来の予定間質の存在が必要であり、卵巣構造が実現されるのには予定間質の退化、その結果としての網状結合組織と小腔の発達が心要であろう。胚生殖巣髄層の小腔化は間充織細胞の自己分解に原因すると考えられるから、生殖巣形成の初期に外部から加えられた DES 処理は、上皮組織の二次的肥大の誘発と同時に、予定精巢を構成する間充織系細胞の発生能を抑え、自己分解をひきおこさす一連の変化の引き金としてはたらいたのである。問題は、そのような一連の組織学的な変化に介在する組織相互の因果関係である。その相互作用的な関係の実体に基づくためには一つの方法として可視的な組織変化の基底を形成している生理的な変化を、組織化学的にとらえる試みが行なわれねばならない。

卵卵14日目の DES 処理胚の生殖巣を材料にして lipid の検出(GROENENDIJK-HUIJBERS 法)を行なうと、雌性化された雄胚生殖巣髄層の辺縁部の間充織中に lipid 小球体を含有する細胞集団が散在して発見される。このこ

とは同一齢の正常な予定精巢では全くみられない。性ホルモン形成に関与する脱水素酵素($4^5-3\beta$ -HSDH)の検出(LEVY *et al.* 法)を行うと lipid 含有細胞集団が検出されるのと同じ部域に、酵素活性陽性の細胞集団が発見される。また、acridine orange 染色-螢光顕微鏡法(VON BERTALANFFY *et al.*)で組織中の核酸の識別をみると、二次的に肥大を誘発された上皮組織の細胞質中に顕著な RNA の包含が認められる。生殖巣構成組織内に喚起されたこれら三つの組織化学的な変化を、どのような脈絡でとらえるかは慎重な検討を要するが、検出された lipid と HSDH 陽性細胞の位置的相関は、その部域に正常な雄胚生殖巣では起らない steroid 形成が喚起されているという推断をゆるすであろう。あらたにつくられた steroid がどのような性質のものであるか、また、それが近在する間充織の退化・小腔化と、二次的な上皮組織の肥大、その細胞質内の RNA 合成と因果的にどう関係するか。その機序についてはいろいろの推測が成りたつが、本報告では先に述べた間充織の誘導的役割の可能性を指摘し、胚生殖巣の性変更に内在する問題点を提示するにとどめる。

文 献

- ASAYAMA, S. (1966) J. Biol. Osaka City Univ., 17 : 1.
BERTALANFFY, VON L. and BICKIS, I. (1956) J. Histochem. Cytochem., 4 : 481.
LEVY, H., DEANE, H. W. and RUBIN, B. L. (1959) Endocrinol., 65 : 932.
MIYAMORI, H. (1966) J. Biol. Osaka City Univ., 17 : 18.
PINCUS, G. and ERICKSON, A. E. (1962) Endocrinol., 71 : 24.
SELTZER, W. (1956) U. S. Patent 2, 734, 482.

有尾両生類の MAUTHNER 線維の走向に関する実験

大橋 剛 (三重県立大学 医学部 解剖学教室)

成長中の神経突起がどのようにして標的組織に到達するかについては種々の説があるが、その後の研究で否定されたものもあり、また *in vitro* での研究に基づいている理論は複雑な生体、特に中枢神経系内神経路の位置乃至走向という点になるとそっくりそのまま適用出来るとは思えない。中枢神経系内の神経路の位置は種によりほぼ一定しており、しかも系統発生的に古い線維は早期に分化し、脊髄内では灰白質に近い位置を占める傾向がある。しかし時には全く異常な位置を占める線維束もみられる。このような中枢神経系内の神経路の位置の決定機構の一端を知るために有尾類の MAUTHNER 線維(以下M-線維と略す)を利用して発生中のこの線維の走向が内部環境の変化によりどのような変更を受けるか次の実験を行なった。この MAUTHNER 装置は細胞体と軸索が巨大であり、変性実験を行なわなくても線維を追求でき、また正常では一対しか存在しないことなど種々の利点がある。

実験1. カスミサンショウオ神経胚(St. 16~18)の予定脊髄前方部神経板を逆コ字形に原腸蓋からはがし、脊索を除去した後神経板を元通りにする。

実験2. 2細胞期のイモリ卵を分割溝に沿って2本の眼科用縫合糸(00)で亜鈴状にくびって双頭奇型胚を形成させる。

上記の手術胚は約1カ月飼育し、外形観察後、BODIAN液か ANCONA 液で固定し、小数のヘマトキシリン・エオジン染色を行なった個体を除いては DAVENPORT の2時間法により鍍銀を行なって、中枢神経系の形態と周囲の組織との関係、脊髄内のM-線維の走向の変動の有無を検索した。

実験1. では手術部位で脊索が欠損し、これを充填するために筋節が両側から伸び出して脊髄を結局3方から囲む状態になる。脊髄の断面は手術部位を中心にして変形

Tsuyoshi OHASHI: Experiments on the course of MAUTHNER's fibers in urodelan embryos.

して背腹に増大し、M-線維の走向は手術部位を中心にしてかなり変化した。生存12例中M-線維が背外側へ移動したもの5例、M-線維が再交叉したもの3例(うち1例は再交叉して右側へ移ったM-線維が再び元の側に回り、結局脊髄の右半を2本のM-線維が走る)、1側のM-線維が反対側へ移り、結局脊髄のある側を2本の線維が走るもの3例、1方の側の線維は一度反対側へ移動するものの元へ戻り正常と同じ走向になるもの1例を得た。

実験2. では延髄乃至脊髄の部位での生存重複奇型個体は結局5例で、M-線維の走向は全く一致していなかった。両側の延髄から由来した2対のM-線維のうち内側に位置するようになった2本の線維は互に交叉した後不明瞭になるが、再交叉しなかった線維は後方で単一になった脊髄中では本来の位置を占めるものが1例、一方の延髄から由来した1対のM-線維はまとまって単一になった脊髄の側を走り、これに他方の延髄から来た1本の線維が加わり、結局脊髄の右半には3本のM-線維が、左半には1線維のみが走るもの1例、延髄後部でM-線維が分枝し、1本のみが正常な走向を示すが他の枝はやがて消失するもの1例、双頭のうちの一つではM-細胞を欠くが、他方の延髄からの2本のM-線維は単一になった脊髄後部ではその側のみを走るもの1例、同様に一方の延髄からのM-線維を欠くが、単一になった脊髄が再度2分すると、それぞれの脊髄の非対向側を1本づつ走ようになるもの1例を得た。

以上の実験から得られた個体のM-線維の走向は正常とかなり異なるものが多いが、実験1.での異常走向は筋節と接した脊髄の側で細胞増殖が大となり、これに影響されて変化したものと思われるが、実験2での走向の不一致さについては目下説明し難い。いずれにしても発生中の脊髄内の神経路は実験的操作により比較的容易に変更を受けるが、これは逆に正常な神経路の走向が如何に周囲の中胚系系の状態と密な関係を有するかを示すものと言えよう。

間脳視床下部の性中枢の性分化

新井 康允 (順天堂大学 医学部 解剖学教室)

R.A.ゴオスキー (カリフォルニア大学(UCLA)医学部 解剖学教室および脳研究所)

内分泌学的な雌雄型は性周期のあるかないかによって代表されるが、この下垂体からのゴナドトロピンの分泌様式に周期性があるかないかの雌雄差は必ずしも性遺伝子によって決定される一連の性分化の過程に直接支配されるのではなくて、発生のある時期、例えばシロネズミでは出生前後のごく短い期間に視床下部の性中枢になるべき部分が十分な量の性ステロイドによって影響を受けるかどうかによって決定される。新生雌ネズミでは卵巣はこの時期にはまだ性ステロイドの合成能力が十分でないで、性中枢の発生はそのまま性ステロイドの影響を受けずに進んでしまうが、新生雄では出生後2-3日の辜丸はすでにアンドロジェンを分泌する能力を持っており性中枢になるべき視床下部の部分はそのアンドロジェンの作用を受け性周期を示さない雄型に分化する。したがって実験的に新生雄ネズミを出生後直ちに去勢すればその個体は雌型の視床下部性中枢をもった動物になり得るわけで、逆に新生雌にアンドロジェンを注射すれば雄型の内分泌型を示す雌が出来る。この場合、この雌は雄と同様にゴナドトロピンの分泌(主として LH)の周期的変動が認められず無排卵になり、雌としては不妊となってしまう(TAKEWAKI, 1962; HARRIS, 1964; BAR-RACLONGH, 1966 等の総説を参照)。

この性ステロイド(主としてアンドロジェン)の性中枢に対する作用は、それを構成するニューロンに対する直接作用と考えられ(WAGNER *et al.*, 1966; ARAI and KUSAMA, 1967, 1968), これらのニューロンがアンドロジェンの誘導作用に反応しうる時期は上記のごとく限られていて出生直前より出生後約1週間位の間であり、しかも反応しうる能力(=competence)は出生後日があつて減じて行く(GORSKI, 1968)。

最近 NEUMANN and ELGER (1966) および WOLLMAN and HAMILTON (1967) は抗アンドロジェン物質であるサイプロテロン・アセテート(cyproterone acetate, CA)が新生ネズミのアンドロジェンによる視床下部性中枢の雄性化の作用を効果的に抑制することを報告しているが、筆者らはバルビタール系の麻酔剤によっても同様に

Yasumasa ARAI and R. A. GORSKI: Critical exposure time to androgen for sex differentiation of the hypothalamus in the female rat.

アンドロジェンの性中枢雄性化の効果を抑制することを見出した。しかしその作用機序はこの場合、CAと同じであるかは不明である。(ARAI and GORSKI, 1968)。

本実験ではアンドロジェンの視床下部性中枢ニューロンに対する誘導機序を明らかにする第一歩として、competent なニューロンに対して、どの位の時間アンドロジェンが作用すれば性中枢の雄型への誘導分化が可能になるかを上記の抑制物質をアンドロジェンと色々の時間間隔で一併に投与することにより検討した。

材料と方法: 生後5日の Sprague-Dawley 系の雌ネズミに $30\mu\text{g}$ のテストステロン・プロピオネート (TP) を1回皮下注射を行ない、それと同時にしくは6, 12, 24時間というような間隔を置いて 0.6mg の CA および 0.5mg のフェノバルビタール (PHB) をそれぞれの場合1回注射した。45日に開腹して排卵の有無を調べた後陰スミアで性周期を記録し、90日で殺して卵巣の状態・黄体の存否を調べた。本実験では性中枢の雄型化の指示としては性周期の消失、無排卵をもってした。

結果: 結果は表1, 2に示す通りである。 $30\mu\text{g}$ TP の

第1表

TP	CA (TP注射後の時間間隔)	無排卵の出現率%	
		45日	90日
$30\mu\text{g}$ TP	なし(溶媒のみ)	83.3	91.6
$30\mu\text{g}$ TP	0	10.3	30.0
$30\mu\text{g}$ TP	6	58.8	88.8
$30\mu\text{g}$ TP	12	71.4	78.5
$30\mu\text{g}$ TP	24	77.5	92.3
なし(溶媒のみ)	0	9.0	9.0

1) 無排卵の動物の数/群の動物総数 $\times 100$

第2表

TP	PHB (TP注射後の時間間隔)	無排卵の出現率%	
		45日	90日
$30\mu\text{g}$ TP	なし(溶媒のみ)	86.5	93.8
$30\mu\text{g}$ TP	0	12.9	23.8
$30\mu\text{g}$ TP	6	73.3	76.5
$30\mu\text{g}$ TP	12	91.4	92.9
$30\mu\text{g}$ TP	24	74.1	93.3

み生後5日目に注射した対照群では91.6% (CA-TP 群の対照), 93.8% (PHB-TP 群の対照) が90日に殺すまでに無排卵になったが, CA を TP と同時に注射したものでは無排卵の出現率が30.0%, PHB を TP と同時に与えたものでは23.5%と非常に効果的に TP の作用がおさえられた。しかし CA, PHB を TP 注射後6時間たって投与すると抑制効果はほとんど見られなくなり, 90日における無排卵の出現率は88.8%, 76.5%をそれぞれ示した。CA の場合90日に無排卵になった個体のうちでも45日に調べた場合排卵の認められたものが30%あり, これらはしばらく性周期を示したのち次第に性周期を消失し結局無排卵になったもので, この場合 TP の作用が CA によってある程度弱められたと考えられる。さらに12時間またはそれ以上 TP が作用した後では CA, PHB を与えても, もはや TP の作用を抑制することは不可能であった。

論議: CA や PHB のアンドロジェンに対する抑制機序は不明であるが, CA についてはおそらく標的器官の細胞のレベルでアンドロジェンの取り込みを拮抗的に阻害 (competitive inhibition) すると考えられ (NEUMANN and VON BERSWORTD-WALLRABE, 1966; WOLLMAN and HAMILTON, 1968), 本実験の場合にも, 性中枢の性分化の過程でおそらく同様なことが視床下部のニューロンのレベルでおこるのではないかと想像される。トリチウムにラベルした TP (油に溶したものを) を生後5日のネズミに注射した実験の結果では, 視床下部へのアイソトープの取り込みは1時間以内で最大に近く達し, 比較的早い時間に消失するという (DIAMOND and DALE, 1967, DIAMOND からの私信)。CA を TP と同時に投与しないと性中枢の雄型化を効果的に抑え得ないということは, CA は性分化の過程のごく早期の時点—おそらく TP のニューロンへの取り込みの段階でしか拮抗的に働かないことを暗示するもので, PHB の場合も同様 TP 注射後ごく早い時間しか有効でないことを考えさせる

と, アンドロジェンの誘導的な作用は1種の biological trigger のようなもので, ごく早い時間おそらく6時間以内でその作用は完了してしまい次の生化学的分化? の過程を開始させるのではないかと考えられる。したがっていったん十分量のアンドロジェンがニューロンの中に入って雄型化への過程をふみ出すと, 後からはそれを完全に停止させるのは不可能なことになってしまうのではないと思われる。

本研究は USPHS (HD-0118) およびフォード財団からの研究費補助による。本実験で使用した CA を心よく提供された西独ベルリンのシェーリング A. G. の NEUMANN 博士に感謝の意を表する。

文 献

- ARAI, Y. and GROSCHY, R. A. (1968) Endocrinology, 82, (印刷中)
 ARAI, Y. and KUSAMA, T. (1967) Anat. Rec., 157: 207.
 ARAI, Y. and KUSAMA, T. (1966) Neuroendocrinology, 3 (印刷中)
 BARRACLOUGH, C. A. (1966) Recent Prog. Horm. Res. 22: 503.
 DIAMOND, M. and DALE, E. (1967) Anat. Rec., 157: 234.
 GORSKI, R. A. (1968) Endocrinology, 82, (印刷中)
 HARRIS, G. W. (1964) Ibid., 75: 627.
 NEUMANN, F. and ELGER, W. (1966) Endokrinologie, 50: 209.
 NEUMANN, F. and VON BERNSWORTD-WALLRABE, R. (1966) J. Endocrinol., 35: 363.
 TAKEWAKI, K. (1962) Experientia, 18: 1.
 WOLLMAN, A. L. and HAMILTON, J. B. (1967) Endocrinology, 81: 350.
 WOLLMAN, A. L. and HAMILTON, J. B. (1968) Ibid., 82: 868.

- 注1) 0.02ml のビーナツ油に溶かした。
 2) 0.05ml のヒマシ油とベンチル・ベンゾエートの混合液 (10:1) に溶かした。
 3) 生理食塩水でうすめて 0.05ml にした。

アゲハチョウにおける成虫芽の発達

今井 勝俊 (群馬大学 教養部 生物学教室)

日高 敏隆 (東京農工大学 生物学教室)

昆虫の変態を理解するには成虫芽の発達について知ることが必要であるが, 鱗翅類に関してはあまりくわしいことがわかっていない。そこでわれわれが現在用いている材料であるアゲハチョウについて, 成虫芽の発達の様子をしらべた。観察した成虫芽は翅と中腸のものだけで, 期間も孵化後に限られており, まだごく初歩的な調査にすぎないが, 現在までにわかったことを報告する。

材料はケージ内で産まれた卵からかえった幼虫をミカンまたはカラタチで飼育したものである。ほぼ 25°C, 14~15 時間日長のもとで飼ったので, すべて非休眠サナギになるべき幼虫である。固定はブアンでおこなった。その際, とくに中腸については, のみこんでいる空気が失われて形がかわったりしないよう注意が払われた。切片は通常のパラフィン法で作製され, 染色はヘマトキシリン・エオシンまたは MALLORY の Azan 法によった。

翅の成虫芽は中胸と後胸の側面にあり, 皮膚が張りだした区域の中におさまっている。孵化直後の1令幼虫では, 上皮からたれ下がった細胞塊のようにみえるが, 2令幼虫になると, V字形の陥入として認められる。将来翅脈のもととなる気管も明らかにみえる。2令2日目には丸みをおびた囊状となり, 3令3日目にはその壁の一部 (背側) が肥厚している。この肥厚部にある細胞ははげしく分裂しているものとみられ, この部分が腹方に陥入して, 翅となる。4令2日目には, 長さ 0.3mm 程度にまで成長した翅が形成されている。

5令に入ると, 伸長は早まり, 老熟幼虫になると, 成虫芽を含む区域では幼虫上皮がクチクラから離れ, 長さ 5mm 程度の翅が上皮の外側にあらわれる。この時期には, 将来の翅の表面と裏面, より正しくは蛹化後硬化をおこすべき部位とおこさない部位の細胞が明瞭に分化しているのが認められる。

中腸の成虫芽というべき細胞は, 幼虫期には, 中腸の外表面に単独で散在しており, 他の昆虫で知られているような成虫芽細胞の集団は認められない。この細胞は, その低い染色性とほぼ球形であることによって, 幼虫の中腸細胞とたやすく区別される。

老熟幼虫になって中腸がからになるころから, この成虫芽細胞は急速に分裂をはじめ, 相互に連なって, 幼虫の中腸上皮を外側からかこむ一層の上皮を作りあげる。幼虫の中腸細胞はすでに分泌活性を失っており, 形もしだいに変わって, 核濃縮を示すようになり, 新しい中腸上皮から離れて, 内腔へ落ちこんでゆく。その際, まともまとも落ちこむことが多いがときにはいくつかの断片となって落ちたり, 細胞がばらばらになって落ちてゆくようなこともある。

新しい中腸上皮の細胞はその間にも数を増し, 丈も高くなってゆくが, 分泌活性はまだ認められない。内腔には Azan で青く染まる液体があらわれ, それとともに古い中腸細胞は消化されたようにくずれてゆく。この液体がどこから由来するかは明らかでない。また, もし古い中腸細胞が消化されるなら, その酵素はどこに由来するかわかっていない。

いずれにせよ, このような過程は, 老熟幼虫期 (12時間), 前蛹期 (20時間) をとおして進行し, 蛹化したときには, 古い細胞の崩壊がほぼおわっている。そして, 蛹化後24時間で, 中腸の内容物は液体だけとなる。休眠サナギの場合には, この段階で休眠がはじまるようである。

中腸の形成に際しては, 中腸の太さが何度も変化する。のみこんだ空気によって太くなり, つづいてそれが失われて細くなり, 上記の液体の出現によってまた太くなる。このようなことが形態形成の上で何か意味をもつのかも知れない。

謝 辞

撮影そのほかで大きな援助を与えられた岩波映画製作所の方々に厚く感謝する。

Katsutoshi IMAI and Toshitaka HIRAKA: Post-embryonic development of imaginal buds in *Papilio xuthus* L.

透明および正常なカイコ幼虫表皮細胞の微細構造

和久 義夫・住本 憲一・江口 正治

(京都工芸繊維大学 繊維学部)

皮膚の透明なカイコ（いわゆるアブラコ）は現在20系統以上知られており、共通の性質として皮膚の尿酸塩含有量が正常のものより少ない（Jucci, 1932）。われわれの材料である *od* アブラコの発現をもたらす *od* 遺伝子は、2染色体上に位置し対立正常遺伝子に対して劣性であるので、 F_1 ではホモの個体にのみ強い透明性があらわれ、ヘテロの個体は正常蚕と同じく不透明である。われわれはここ10年以上この系統を飼育し続け、*od* 遺伝子以外の genetic background が斉一になるように努めて来た。従ってこの系統内の透明および不透明（正常）個体表皮の微細構造を比較することは、細胞の微細構造段階における *od* 遺伝子の発現形式を問題としていることになるであろう。

材料はグルタルアルデヒドおよびオスミウム固定、エポキシ樹脂包埋、酢酸ウラニウムおよび水酸化鉛の二重染色とした。正常の成熟幼虫細胞には、よく発達した胞状粗面小胞体およびフリー・リボソームが多量に見られるのに対し、透明な成熟幼虫細胞ではこれらが甚だ発達があるく、その代りに vacuole 状のものが多数見られる。更に、正常ではわれわれが「レンズ様体」と仮に名づけた細胞器官が多数あるのに、透明ではそれがほとんど見られない。この細胞器官は形が齊一なレンズ型で一重膜構造であり、その表面にはリボソームが附着していない。成熟期にあってはその内腔は電子線に透明で、内容物のないものが多い。しかし成長中の 5 令正常幼虫ではこの細胞器官内に、甚だ電子密度の高い物質が低い部分と交互に同心円状になって存在する。この内容物は何らかの塩、恐らく尿酸塩の沈着したものと思われ、グルタルアルデヒドに硝酸銀を加えて固定すると、還元された銀が内容物の部分に高電子密度のスポットとして現われる。また時に、この被還元銀が内容物のないレンズ様体の外壁に集積附着するのが見られる。これは恐らく内容

文 献

- JUCCI, C. (1932) Proc. 6th Intern. Congr. Genetics. 1.
 MANUNTA, C. (1942) Scientia Genetica, 2 : 252-272.
 清水滋 (1942) 蚕試報, 11 : 379-385.
 TSUJITA, M. and SAKURAI, S. (1966a) Proc. Jap.
 Acad., 42 : 950-955.
 TSUJITA, M. and SAKURAI, S. (1966b) *Ibid.*, 42 :
 960-965.

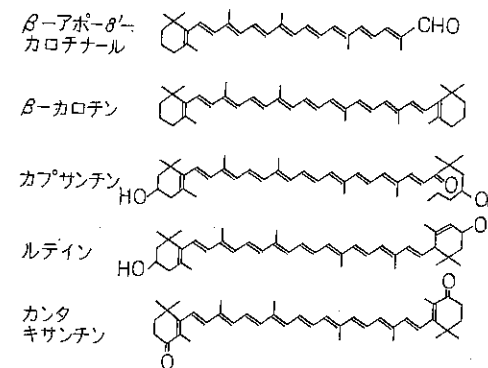
メダカ胚のカロチノイド輸送における特異性

・竹内 邦輔 (愛知学院大学 生物学教室)

動物はカロチノイドを合成できないから、それを餌よりとり込まねばならない。魚はひふでは、主として黄色色素胞や赤色色素胞にカロチノイドを蓄えている。多くの魚は、それぞれ特異的なカロチノイドを蓄える傾向がある。たとえば、サケ *Oncorhynchus nerka* はアスタキサンチンをその筋肉に（金光・青江, 1958）、*Fundulus parvipinnis* は、タラキサンチン様カロチノイドをそのひふにもっている（Fox, 1936）。さらにマス *Salmo trutta* では、その黄色色素胞にはルテインを、赤色色素胞にはアスタキサンチンをもっている（STEVEN, 1949）。

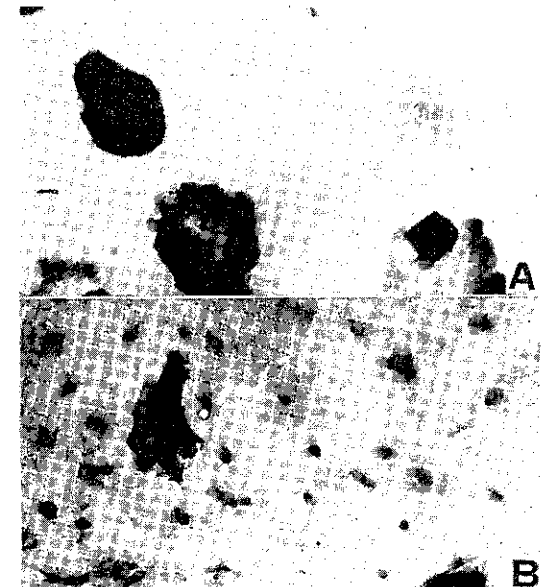
メダカのひふカロチノイドについては、GOODRICH *et al.* (1941) は、黄色のルテインのみがあるとしているが、TAKUCHI (1960, 1967) はドウガラシの赤いカロチノイドも入りうるとし、平尾ら (1968) は、実際に種々のカロチノイドをみつけている。この報告では、メダカの卵黄内に、餌をととして、あるいは注射によって既知のカロチノイドを入れ、それがふ化した幼魚のひふの黄色色素胞内に移るかどうかをしらべ、どのようなカロチノイド群が移りうるのかを決定した。

材料は緋メダカ卵を用いた。まずメダカをカロチノイド欠如餌（糸ミミズ、麦焦など）で5日以上飼ってカロチノイド欠如卵をえ、その卵黄内へ TAKEUCHI (1965) の方法で、充分量の既知カロチノイドをオリーブ油に溶かし、ツイーン80とくっつけて注射した。これらの溶媒にはカロチノイドは含まれない。用いたカロチノイド（第1図）は、カプサンチンとルテイン（赤トウガラ



第1図 カロチノイドの構造

Kunisuke TAKEUCHI : Specificity of carotenoid transfer in the larval medaka, *Orizias latipes*.



第2図 幼魚頭部表皮の黄色色素胞 A: カロチノイド
欠如卵からふ化した幼魚のもので、黄色色素胞はみえない。B: カプサンチンを注射された卵からふ化した幼魚
のもので、沢山の小さい黄色色素胞がみえる。黒く大き
いものは黒色素胞と白色色素胞である。(×300)

シとクロレラから抽出，加水分解後クロマトグラフィでわけた），カンタキサンチンと β -アポ-8'-カロチナール (F. Hoffmann-La Roche & Co., LTD), β -カロチン (片山化学) である。

カロテノイド欠如卵からふ化した幼魚の黄色色素胞は、無色でみえない(第2図, A)が、充分量のある種のカロテノイドをもった卵からふ化した幼魚のそれは、卵黄からカロテノイドが移ってよく着色されてみえる(第2図, B)。幼魚の黄色色素胞内カロテノイド量は微量で、その抽出、分析は困難であるから、ここではその色づきの程度から輸送された割合を判定した。

第1表, 第2表は, それぞれ注射および給餌によって, カロチノイドを卵黄内に入れたときの結果である。ルテイン, カプサンテン, カンタキサンテンはよく卵黄からひふ黄色色素胞へ輸送されるが, カロテンはわずか, アポカロチナールは全然移されないことがわかった。

餌に種々のカロチノイドをまぜて、ニワトリの卵黄の着色度をしらべる実験では、上記カロチノイドのうち、カロチン以外はよく移ることが証明されている (BROWN,

第1表 幼魚の黄色色素胞の着色度 ++++, ++, +, - はそれぞれ濃色, 適色, 薄色, 無色を表す。

卵に注射されたもの	幼 魚 数			
	+++	++	+	-
無	0	0	0	47
カブサンチン	19	11	3	0
無	0	0	0	13
ルテイン	3	5	2	0
無	0	0	0	7
β-カロチン	0	3	4	5
無	0	0	0	8
β-アポ-8'-カロチナール	0	0	0	6

第2表 幼魚黄色色素胞の着色度

餌の中のカロチノイド	卵の色	幼 魚 数			
		+++	++	+	-
無	無色	0	0	0	58
カンタキサンチン	赤色	41	28	0	0
無	無色	0	0	4	55
β-アポ-8'-カロチナール	無色	0	0	2	45

1938; STEINEGGER *et al.*, 1957)。メダカにおいては、アポカロチナールは全く移らないのでこの点ニワトリと異なる。魚ではニジマス *Salmo irideus* で、カロチノイドを餌と共に与えると、カンタキサンチンはよく親魚の肉やひふに移り (DEUFEL, 1965), アポカロチナールは移らないらしい (平尾ら, 1962) ことがわかっている。この結果は私のメダカでの実験結果とよく一致する。結論として、メダカの体内では、カロチノイド分子の両端の

環に酸素が入ったものが輸送され易いらしい。

この研究のためにお世話になった、名古屋大学理学部山本時男教授、東海区水産研究所平尾秀一氏、これら研究室の方々、またカロチノイドを提供して下さった日本ロッシュ会社に心から感謝いたします。

文 献

- BROWN, W. L. (1938) J. Biol. Chem., 122: 655-659.
 DEUFEL, J. (1965) Archiv für Fischereiwissenschaft, 16: 125-132.
 FOX, D. L. (1936) Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.), 22: 50-54.
 GOODRICH, H. B., HILL, G. A. and ARRICK, M. S. (1941) Genetics, 26: 537-586.
 平尾秀一・菊池嶺・波磨忠雄 (1968) 日本水産学会誌
 平尾秀一・菊池嶺・酒井寿恵・荒井君枝・本荘鉄夫 (1962) 日本水産学会誌 28: 709-714.
 金光庸俊・青江弘 (1958) 日本水産学会誌, 24: 209-215.
 STEINEGGER, P., STREIFF, K. and ZELLER, P. (1957) Mitt. Geb. Lebensmitt. Hyg., 48: 445-451.
 STEVEN, D. N. (1949) J. Exp. Biol., 25: 369-387.
 TAKEUCHI, K. (1960) Embryologia, 5: 170-177.
 TAKEUCHI, K. (1965) Experientia, 21: 736.
 TAKEUCHI, K. (1967) Experientia, 23: 569.

いわゆるイバラトミヨの特殊型について —特に発生学的問題点

久佐 守 (山形大学 理学部 生物学教室)

北方系硬骨魚に属するトゲウオはその体形とくに背棘、鱗板に変異が多く、わが国に産するトゲウオでのこの種の変異の追求は故池田嘉平教授 (1933) によって取り上げられ、また最近石城謙吉氏 (1967) も新たな立場で検討を加えはじめた。イバラトミヨについて言えば、その背棘は北方から南にうつるにつれて数が減少しいわゆる地理的形態連鎖がみられる。またその鱗板は、トミヨ属におけるような体側全域に沿って発達する trachura 型とは全くことなり、胸部と尾柄部にそれぞれ数個の鱗板をもつ semiarmata 型で、しかもこの鱗板の分布形式にもまた背棘同様地理的形態連鎖がある。さらに池田氏 (1933) は、イバラトミヨのうち退化型の鱗板がほぼ完全に体側に存在するものを特殊型として記載し、産地として北海道厚岸、山形県北村山郡大富をあげ、これらはイバラトミヨの種分化を把える手がかりになり得ると考えた。筆者はこれらの点に興味をもち特に山形県に産する特殊型に注目し大竹正治氏 (山形県新庄北高等学校)、五十嵐清氏 (福井県武生高等学校) の協力を得て最近検討をはじめたところであるが、ここでは主として発生学的立場で把えたその特異性について述べる。なお費用の一部は科学研究費によったことを附記する。

1. 山形県内におけるイバラトミヨの分布

現在までのところ池田 (1933) の記載にほぼ一致し県の中央部を南北に走る最上川に沿って庄内地区 (遊佐など)、最上地区 (新庄市一円)、さらに内陸地区 (とくに天竜市附近) に棲息する。また新しく昨年春山形市滝ノ平の田尻沼で会田輝夫氏が本種を採集し、現在ではこの地点が県下の棲息地の南限となっている。なお注目すべき点は最上川水域に関する限り棲息するトゲウオ科のものはイバラトミヨのみで、例えば秋田県雄物川 (池田, 1950) とことなり、トミヨは全く見当たらない。

2. いわゆる特殊型の分布について

県内の産地のうち天竜市周辺には特殊型のものが棲息

Mamoru KUSA: Notes on some bodily characters in specialized form of the ten-spined stickblack, *P. pungitius*.

するが分布の細部では池田氏 (1933) の記載とややくい違いがある。池田氏によれば東村山郡成生村青木のもの (この青木は高木の誤植と思われ現在天竜市成生および高木) は $1.0+8.0=9.0$ の典型的な semiarmata 型で、北村山郡大富村 (現在東根市大富) にのみ30~32の連続した鱗板をもつ特殊型が棲息するという。しかしここ数年にわたるこの周辺の調査では天竜市成生、高木、大町さらに東根市荷口、羽入、三つ屋にはすべて特殊型のみ棲息している。なお池田氏によれば厚岸では多くの普通型の個体に混じってただ1個の特殊型を見出したとしており、天竜市一帯がこれらの純粋な集団となっている点は注目すべきである。

3. 特殊型の鱗板について

一般のイバラトミヨにみる鱗板の形態ならびに発達様式は五十嵐 (1963) の北海道夕張市周辺のものについての記載があるが、県内の普通型では、ほぼこれに一致する。例えば新庄産のものでは、尾柄部に5~8個、さらに胸部に1~3個の鱗板がみえ、これらは何れも竜骨、粘液管側隆起線の発達がよい。また連続して24~35枚の鱗板をもつ特殊型の1例では体長51mm、鱗板数30、尾柄部では結合方形鱗12をもち、胸部にいたる18個の分離鱗がこれにつづく。全鱗板を通じ尾柄部のものが比較的発達程度がよいものの、普通型のものに比し竜骨、鱗質、側隆起線とも発達は良くなく、全体として単純な形態をもつ。なおこれら特殊型のイバラトミヨの鱗板の形成過程については稚魚の資料が少いため結論的なことは言えないが、おそらく稚魚のある時期に尾柄部の末尾附近のものがまず次第に前方に及ぶとともに、やがて胸部鱗のあるものができ、ここを中心に前後に拡がりやがて体側全長に沿って鱗列が完成するものと思われる。いずれにせよ、成魚にみる個々の鱗板は痕跡鱗で、池田氏 (1933) のいうごとく退化型ではあるがむしろ一種のネオテニー型とみるべきであろう。

4. 特殊型における背棘の占める椎骨域の特異性

背棘は背鰭軟条と同じく一種の担鰭骨を介して椎骨と連結する。これらの担鰭骨はすべて椎骨に対応して形成されるもので、これらの点についてはイトヨ属における池田 (1934) の記述に詳しい。一方トミヨ属でこの

種の知見は同氏による講演要旨(1936)のみでくわしくは述べられていない。大竹正治氏は数年前新庄市周辺に産するいわゆる普通型についてこれらの問題を追求した(未発表)。得られた事実のうち重要と思われることの一つは、背棘の占める椎骨域の前端は背棘数にかかわらず第3椎骨に固定され、末尾のものは背棘数の多少に応じて第14または15に変異することである。他地域に産する普通型のものについてまだ多数の個体をみる機会がないが大竹氏の認めたパターンによって説明され得る見通しが大である。この事実は池田(1934)のイトヨで認めた背棘数の減少は背棘に対応する椎骨範囲が体の前方に縮小的にうつることによっておこるという事実と一致する。一方特殊型のイバラトミヨでは、これらの関係にもまたかなり異った様相を呈した。すなわち、背棘域の前端に対応する椎骨は第3、第4と変異しさらに末尾の背棘は第14椎骨にほぼ固定するようで、さらに1個分だけ前進するものも少数認められた。このことはイバラトミヨでの背棘数の減少に伴う椎骨範囲の退縮は前端に対応する椎骨位置の後退という形でもおこり得ることを示している。

5. 特殊型のもつ問題点について

これら特殊型の成因については種々の見解がある。例えば退化的にせよ一応 trachura 型の鱗板をもつ点からみてトミヨから退化的に分岐したものではないかと考えられるが、しかしトミヨの鱗板そのものの形態あるいはその発達様式(五十嵐, 1962)にくらべこの見方にはやや難点がある。なお福井県から得たトミヨでの背棘に対応する椎骨域は第3椎骨から第15または第16椎骨にわたっており、この点もこの特殊型とは趣を異にする。小林(1962)は厚岸ではイバラトミヨがトミヨと混雑する事実から交雑によって生じた F_1 ではないかと推定しているが、前述のごとく最上川水域では現在トミヨは棲息

せずまた過去においても棲息したという記録もないことから、この交雑説は少なくとも天竜産のものの成因とは考えにくい。またイバラトミヨでの背棘、背鰭の形成過程はほぼイトヨにおける池田(1934)の記載に一致する。すなわち稚魚ははじめその背部に連続した皮褶をもつが、稚魚の全長がほぼ 10mm に達する時期に肛門のレベルでこの皮褶にくびれができ、この点から前後にそれぞれ背棘、背鰭が形成される。言いかえれば、発育段階のある時期にそれぞれ背棘域、背鰭域が決定されるがそのさい背棘域の末端に前進的退縮をとまうのが普通のばあいの決定様式で、さらに前端における後退が加わったものが特殊型での決定のしくみとも言えよう。一方ではネオテニー的な鱗板を生じ、また他方では背棘の形成過程にも異った方式をもつこれらのいわゆる特殊型で両者がいかなる関係にあるかは興味ある問題と思われる。またこの特殊型を単なる異常型としてのみ扱えず、むしろ池田(1933)の考えのようにこの種族の分化を解く手懸りとして、発生学的な立場から検討を加えたい。

おわりに材料のしゅう集などにご援助いただいた、鈴木徳治、高橋多蔵、村田弘、石城謙吉および阿部小太郎の諸氏、さらに天竜第三中学校の生徒諸君とくに須藤伝悦、東海林雅幸の両君に心からお礼申上げる。

文 献

- 五十嵐清(1962)日水会誌 28: 393—398.
 五十嵐清(1963) " 29: 342—348.
 池田嘉平(1933)動維, 45: 141—173.
 池田嘉平(1934)動維, 46: 553—572.
 池田嘉平(1936)動維, (講演要旨) 48: 179.
 池田嘉平(1950)細胞学遺伝学論文集(小熊記念集) 29—37, 北方出版社.
 石城謙吉(1967)動維, 76: 249—254.
 KOBAYASHI, H. (1962) J. Hokkaido Gakugei Univ., Sec. II 13 Suppl., 13: 1—112.

会 記

1 学会設立までの経過

日本発生生物学会の設立は、実験形態学会(代表者—市川衛)と発生学協会(代表者—佐藤忠雄)の関係者の集まり(1967年5月21日名古屋大学において開かれた第3回実験形態学会大会時の世話人会)で提唱された。その主旨は別記“日本発生生物学会の発足について”に述べられている通りであるが、ここで若干の補足をしておきたい。

実験形態学会は昭和14年岡田要博士によって創立されたわが国で最初の発生学関係の唯一の専門学会で、実験形態学誌(年刊・昭和18年発刊)の刊行やシンポジウム・研究発表のための大会の開催などの活動を行ってきた。また、発生学協会は戦後間もなく佐藤忠雄を中心とした名古屋大学の人達によって発生学の国際誌“Embryologia”の刊行母体として設立されたものであった。両団体は、このように、それぞれ固有の性格を持ちながらわが国の発生学の進歩のために大きな役割をはたしてきた。しかし、かつては発生学(Embryology)は動物の胎生学であり胚学であったが、戦後の関連分野の著しい発展と相伴って植物や微生物を材料とする研究者の関心が発生や形態形成の現象の解析に向けられ、より広い基礎にたつ発生生物学へと脱皮してきた。このような斯学の発展に対応して両団体それぞれ、ある時は投稿規定を通し、また会員外の関連分野の研究者をシンポジウムに招いたりして、意識的な努力が試みられた。しかし、現実には国内会員に限ってみれば、両団体とも理学系動物学畑出身者が会員構成のほとんどを占める(85%)事態に変わりなく、大会等における必ずしも低調ではない討論を支えるものが、年ごとに加えられてゆく若いエネルギーによって支えられているとはいえないものであった。発生学関係学会の活動を強化するため、時には両団体と東京を中心とした発生学談話会(代表者—丘英通)とにより連合体結成(1963年)という試みもなされたが、実際の活動においては恒常的な役割ははたし得なかった。したがってそれぞれの団体の一見して活発な活動の裏には、学会としてこのままでよいのかという疑問と改善への意向が、中堅や若年の参会者の間でささやかれていた。しかし、このような情勢を長い歴史をもつ学会の組織の上に直ちに反映させることは必ずしも容易なことではない。斯学の発展と学会組織のもつ問題点は、しかしながら、両団体の責任者によって徐々にそして正確にみつめられてきた。実験形態学誌の名称変更が提案された、前記世話人会で、名称変更を通し斯学の変貌が論議され、遂には両団体の統合ではなく斯学会設立というかたちで事態に対応することが決められたわけである。発生学分野における独立学会としての歴史と業績に矜持を持つが故に、あえてドラスティックともいえる自己解体と新学会設立の発想をもたらししたものかも知れない。世話人会で新学会設立について次のような条件と手続が決められた。

- i) 学会名を日本発生生物学会(欧名 Japanese Society of Developmental Biologists)とする。
- ii) 実験形態学誌を発生生物学誌とし輯ナンバーを継続する。
- iii) 欧文誌(Embryologia)の巻・号は継続し、国際誌として発刊させる。
- iv) 学会設立発起人には母体学会員外からも積極的に参加していただき、学会参加は広く関連分野の人々に呼びかける。
- v) 設立準備委員会を設け具体的な問題処理に当る。
- vi) 準備委員会成立までに必要な諸事項を検討し処理するために、小人数のワーキング・グループを市川衛を責任者として組織する。
- vii) 1968年5月東京で設立総会と第1回大会を開催する。

2 設立準備委員会成立までの予備作業

ワーキング・グループ構成員は、市川が両学会関係者の意図を参考とし、次の方々に委嘱することとなり、最初の会合を大阪大学理学部会議室で開いた。

江口吾朗・林雄次郎（当日欠席）・市川衛・石崎宏矩・加藤憲一・前田靖男・織田秀実・岡田節人・相山正雄・田原胖・高田健三・高野喜一（当日欠席）・竹内郁夫（アルファベット順）。

この会合では、世話人会での決定に基づき予想される学会の性格・会員構成や出版物を含めた諸活動について意見が交換され、発起人および設立準備委員をどなたにお願いするかについての基本方針と具体案の作成が試みられた。しかし、結論を得ることができず、その後数回にわたる郵送での意見交換によって、発起人と準備委員が内定された。10月15日第1回の設立準備委員会が持たれるまで、母体学会代表者やワーキング・グループで下記のような作業が行なわれた。

- i) 8月25日付で、佐藤・市川連名で両母体全員への新学会設立について諒承を求める挨拶状発送。
- ii) 9月15日付で、市川名により77名（内28名は準備委員）の方へ発起人依頼状発送。
- iii) 9月20日付で、市川名により実験形態学会員への挨拶状発送。
- iv) 9月30日付で発起人承諾に対する礼状発送。
- v) 9月～10月、準備委員会で作成される会則案の原案作成をワーキング・グループで行なう。

3 設立総会までの設立準備委員会による作業

第1回の会合が、10月15日午後7時から京都市岡崎の芝蘭会館において、市川衛の挨拶後、団勝磨を議長にして開催された。討議は主として会の性格、出版物（和・欧両誌の取扱い）および会則原案等の諸問題について行なわれた。準備委員が従来所属している主な学会が異なるためもあり討議もまた多様な観点よりなされたが、それだけに真剣に一致点が求められた。今後学会発足までに必要な手続を進行させるため、準備委員会連絡所を京都大学理学部植物学教室（竹内郁夫研究室）におき、若干名の事務担当者を置くことが正式に決定された。また出版物の取扱いについては、それぞれの母体団体と緊密な連絡をとることが特に要望された。こうして、設立総会までに次のような作業が進められた。

- i) 設立趣意書の作成（郵送により意見交換、1968年2月27日確定）
- ii) 趣意書宛先名簿の作成（事務担当者で原案を作成し、全発起人に郵送2回の訂正追加が行なわれた）。趣意書は3月1日付で関係個人、団体へ約1,200通発送された。
- iii) 設立総会および第1回大会日程の件。（下記4の項参照）
- iv) 会則案作成——これは、出版物の取扱いや会員構成、会費などについて基本的な原則にかかわるものでもあり、第1回の準備委員会で指摘された諸点について事務担当者で検討を深めた上、第2次案が1968年4月17日付で準備委員へ郵送された。返信による意見を反映させたもの（第3次案）を4月25日付で郵送し、さらに検討を加えて第4次案を5月8日に準備委員へとどけるとともに、総会提出原案とした。準備委員外の発起人へは5月11日付の郵送により原案説明を付して諒承をお願いした。

このような作業のかたわら、佐藤忠雄・市川衛を含めた京都・名古屋・東京の若干の準備委員の間で、随時意見の交換が行なわれた。設立総会前日（5月17日夜）に、準備委員会へ提出する議案などについての最終的検討が東京教育大学で、母体学会関係者・大会委員長・事務担当者の間で加えられた。設立総会を直前にした5月18日午前中、総会場のある立教大学で、準備委員会が江口吾朗を座長として開催され、会計および会員構成について報告後、次の諸点について検討の上原案が決まった。

会則案・役員選出の手続と実施原則・1968年度予定事業・総会プログラム

4 設立総会および第1回大会

東京での開催は、母体学会の一つである実験形態学会が新学会設立発意以前に、多くの方面からの要望もあって「第4回大会は東京で」と沼野井春雄教授が申し述べられたことが契機になったものである。しかし、新学会となると事情はまた別の面を持つことにもなり、林雄次郎教授は関係者と相談の上で返答する由申し述べられた（新学会設立を決した世話人会で）。その後、ワーキング・グループの学会設立準備の予備作業が始まり林教授から織田委員に、立教大学で会場を引き受けるよう依頼があった。幸に立教大学当局の諒承を得ることが出来たが、新しく発足する学会の最初の大会でもあり、事の容易ならざるを予感せざるを得なかった。1967年12月23日、林教授により大会準備世話人会が東京教育大学で持たれ、在京関係者10数名が

集まったが、新学会発起人は2～3名に過ぎず、設立の趣意書が各人に徹底していなかった。その後、大会準備世話人会の発足が事務局へ伝えられ、事務局で総会内容の検討が加えられ（1968年1月9日）、さらに林教授が上洛されて細部にわたる検討会（於京都大学2月7日）が持たれ、一方事務局と織田との間にも連絡が保たれた。こうして、2月13日に第2回の大会世話人会が東京教育大学に招集され、ようやく学会設立の趣意が徹底することになり、総会・大会日程が決まった。総会・大会案内は、設立趣意書とともに3月上旬、京都の事務局から関係方面へ郵送された。

設立総会は第1日（5月18日）午後1時から林雄次郎大会委員長の開会の辞によって始められた。これに先立ち、参加者へは①御参会の皆様へ、②会則案が配布されていた。議長には江口吾朗氏が指名され、経過報告が行なわれた。まず実験形態学会を代表して市川衛氏、発生物学協会を代表して佐藤忠雄氏がそれぞれの母体学会について報告し、学会設立準備の経過については竹内郁夫氏が報告された。続いて議事に移り、次の事項が議せられた。（1）まず、石崎宏矩氏から会則案の説明が行なわれ、活発な討論が設立準備委員と会員との間で交わされた末、原案を多少修正して別記のような会則が承認された（巻末参照）。（2）本年度の事業計画として〈発生物学誌〉と〈Embryologia〉の刊行について説明がなされた。（3）会長・運営委員の選挙についても意見の交換が行なわれ、具体的方法が決められた。会長選挙については第1回に限り選挙された運営委員によって決めたことの原因が否決され、最初から会長は会員の直接選挙によることになった。（4）なお、次回大会開催地は金沢ということが報告された。討論が活発に行なわれたので、時間がかなり超過したが、予定した議事をすべて終えることができた。（4の項のみ織田秀実記）

5 発足後の準備委員会による作業

会則も設立総会で決まり、1968年5月18日をもって日本発生物学学会が正式に発足することになった。しかし、役員選挙が施行され、会長以下の会の運営機構が決まるまで準備委員会で処理しなければならないかなり多くの仕事があった。

- i) 5月25日準備委員会名で全発起人へ学会成立の挨拶と事情説明を郵送。
- ii) 会則に定められた役員選挙の実施……選挙管理委員選出および選挙施行細則は総会で準備委員会に一任されたので、選管委員を石崎宏矩・加藤憲一・前田靖男・田原胖・竹内郁夫（アルファベット順）に委嘱し、委員で施行細則案が作成されることになった。この原案は、5月25日以来、3回の郵送によって準備委員会で検討され、6月20日、第1回の場合についての会長と運営委員の選挙施行細則が別個に決定された。いっぽう、選挙に必要な会員名簿が、タイプ印刷ながら、所属機関だけでなく研究主題・研究材料も併記して作成された。6月25日付で、登録会員424名全員に①報告とお願い——会則案修正箇所、会費納入の件、準備委員会推薦運営委員候補者の記述を含む、②選挙上の注意、③選挙施行細則、④投票用紙——会長用および運営委員用、⑤投票用紙封入用および返送用封筒、⑥会員名簿——を郵送し、7月16日午後4時開票された。

会長は第一次選挙で3名の候補者（団勝磨・市川衛・岡田節人—アルファベット順）が決まり、第二次選挙（8月3日締切）で決定されることになった。これらの選挙時、東京教育大学での紛争がはげしくなり、同機関所属の会員は郵便物入手がおくれたため、実際上選挙に参加できなかったというような事態も起こったが、結局下記の通り会長および運営委員が決まった。

会長：団勝磨（東京都立大） 次点 市川衛

運営委員：岡田節人（京大・理・生物物理）・竹内郁夫（京大・理・植）・天野実（国立がんセンター研）
古谷雅樹（東大・理・植）・柳田友道（東大・応微研）・山名清隆（九大・理・生）・柳島直彦（大阪市大・理・生）・前田靖男（京大・理・植）・江口吾朗（名大・理・生 現在は京大理・生物物理）・相山正雄（名大・理・生）・岡崎嘉代（都立大・理・生）・飯野徹雄（国立遺伝研）・日野精一（広島大・理・植）・岡田善雄（阪大・微研） 次点 竹市雅俊

この結果は、準備委員会へ報告され（8月5日郵送）、事務担当者が団会長と連絡をとって、最初の運営委員会を、大学紛争がますます熱気をましてきた東京で、9月7日神田学士会館で開かれることになった。運営委員会後、準備委員へ団会長名で、準備委員会への謝辞が郵送され、また事務担当者より準備委員会決

算が報告された。

6 会長決定後

会誌(和文誌)は年1回刊行なので、別にインホームエーション・サーキュラーによって会からの情報を会員へ伝えることになり、最初のサーキュラーが1968年10月に出された。運営委員会討議事項等はこのNo. 1およびその後出されたサーキュラーNo. 2(12月発刊)によって周知であるが、主要な点についてその後の追加も含め記録しておく。

i) 会長委嘱役員

- ①幹事長 竹内郁夫(京大・理・植)
- ②会計監査 原田市太郎(北大・理・植) 沢野十蔵(広島大・医・解)
- ③幹事 加藤憲一(庶務担当・同志社大・生) 石崎宏矩(会計担当・京大・理・動)

ii) 欧文誌編集主幹……相山正雄(名大・理・臨海実)

iii) 欧文誌編集委員……天野実(国立がんセンター)・岡仁子(お茶の水大)・古谷雅樹(東大)・飯野徹雄(国立遺伝研)・丸山工作(東大・教養・生)・岡田節人(京大)・岡田善雄(阪大)・柳島直彦(大阪市大)

なお欧文誌の編集幹事は小嶋学(名大・臨海実)とし、会計担当幹事は、当分の間江口吾朗(京大)に委嘱するが、後継田研爾(名大・理・生)とする。

iv) 和文誌については、欧文誌との関係・将来のありかたなどを含め、運営委員会として、古谷雅樹・岡田節人・柳島直彦の3者に検討を任せた。その結果は現在(1969年1月現在)運営委員会に報告されており、近くサーキュラーなり次期総会で報告されることになる。

v) 第2回の大会は金沢大学で、1969年5月31日・6月1日両日に行なわれ、大会委員長は木戸哲二(金沢大・理・生)に委嘱。

vi) サーキュラー No. 2 で報告した通り、多くの会員の意図を汲み、欧文誌名を今春発刊分(第11巻から)から Development, Growth and Differentiation とする重要な決定もなされた。

(以上4の項を除き 加藤憲一記)

お願い

1968年度会費として、欧文・和文誌いずれかを配布希望の会員には1,600円納入していただくことになっております。欧文誌は今年度発刊分は“Embryologia”のままですが、会として出版されるものでもあり、とくに1968年度は、学会設立にともなって会員構成および運営機構をととのえるため多額の出費が必要となった点を御配慮下さり、誌名変更以前のものを配布する点について特に御諒承お願い申し上げます。

日本発生生物学会の発足について

年度変りの時期となり、皆様方には御多忙のうちにもますます御健勝のこととおよこび申し上げます。

さて、わが国に動植物の発生現象に関する学問分野が導入されてから、すでに一世紀の年月を経てまいりました。導入初期から現在に至るまでのこの分野で国際的に高く評価された数々の業績が生れてきたことは御承知のところでありませう。

ところで、戦後、遺伝学、微生物学、生化学、分子生物学など、関連分野の著しい発展に伴い、発生学は戦前における形態学的手法に基づいた古典的概念から脱皮し、《発生と形態形成に関与する要因の分析と統一原理の追求》という意図のもとに、発生生物学として新たな発展をしつつあります。その結果、医学、薬学、農学などの分野との関連を深め、時とともにますます多くの研究者の関心を呼んでおります。

ひるがえって、わが国の発生生物学関連分野の現状をみますと、多くの研究が行なわれておりながら、研究者は動物学、植物学、医学、薬学、農学といった系統別の学会に分散されており、集中的な研究交流の場が設けられておられない状態であります。そこで、発生生物学の今後における発展性から、またこの分野における諸外国の現状からみまして、わが国の発生生物学関係者がそれぞれの所属学会を超えて単一の研究交流の場を持つことは是非必要であろうと考えられます。

このような次第で、私達有志は、このたび日本発生生物学会の設立について同意に達し、そのための諸準備を進めてまいりました(別記参照)。私達といたしましては、この際新しい学会へ、より広い層から参加を強く希望しております。幸にして、この趣旨に御賛同下さいますならば、関係者の方々に積極的に御入会をおすすめ戴き、わが国における発生生物学の発展のためにお力をたまわりますよう念願する次第であります。

昭和43年3月1日

発 起 人 一 同

天 野 実	川 上 泉	○ 尾 里 健二 郎
朝 山 新 一	川 村 智 治 郎	○ 奥 村 秀 夫
茅 野 春 雄	木 戸 哲 二	○ 小 野 記 彦
○ 団 勝 磨	腰 原 英 利	○ 佐 藤 七 郎
○ 江 上 信 雄	黒 田 行 昭	○ 沢 藤 忠 雄
○ 江 口 吾 朗	黒 住 一 昌	○ 沢 野 十 蔵
○ 福 田 宗 一	牧 野 佐 二 郎	○ 妹 尾 左 知 丸
○ 藤 井 隆 也	○ 前 川 文 夫	○ 相 山 正 雄
○ 古 谷 雅 樹	○ 前 田 靖 男	○ 高 井 俊 夫
○ 林 一 郎	○ 丸 山 工 作	○ 高 野 喜 一
○ 林 基 之	○ 毛 利 秀 雄	○ 高 田 健 三
○ 波 磨 雄 次 郎	元 村 義 彰	○ 田 原 博 脾
○ 原 田 市 太 郎	村 上 氏 悟	○ 竹 内 郁 夫
○ 長 谷 榮 二	中 村 治 広	○ 竹 内 正 幸
○ 平 井 越 郎	西 村 秀 雄	○ 坪 由 宏
○ 日 高 敏 隆	沼 野 井 春 雄	○ 山 名 清 隆
○ 市 川 純 彦	○ 織 田 秀 実	○ 柳 田 友 道
○ 石 田 寿 老	○ 丘 英 通	○ 柳 島 直 彦
○ 石 崎 宏 矩	○ 岡 田 克 弘	○ 八 巻 敏 夫
○ 金 谷 晴 夫	○ 岡 田 節 人	○ 山 本 時 男
○ 加 藤 憲 一	○ 岡 田 善 雄	○ 安 増 郁 夫
加 藤 哲 也	岡 崎 令 治	

(アルファベット順、○印は実行委員)

日本発生生物学会会則 (1968年5月18日 設立総会にて承認)

本 則

- 第1条 本会は日本発生生物学会 (Japanese Society of Developmental Biologists : 略称はJSDB) という。
- 第2条 本会は発生生物学の進歩と普及をはかることを目的とする。
- 第3条 本会はその目的を達成するために次の事業を行なう。
1. 和文誌および欧文誌の刊行
 2. 大会の開催
 3. その他本会の目的達成に必要な事業
- 第4条 本会の会員は通常会員・賛助会員の2通りとする。
1. 通常会員は本会の趣旨に賛同し、所定の手続を経て、通常会員費を納めたもので、和文誌および欧文誌、あるいはいずれか一方の配布を受ける。また、大会での研究発表の申し込みをすることができる。総会の議事に参加することができる。
 2. 賛助会員は本会の趣旨に賛同し、本会の承認を受け、所定の賛助会員費を納めた個人または法人で、希望により和文誌および欧文誌の配布を受けることができる。
- 第5条 本会には次の役員をおく。
- 会長1名・運営委員若干名・幹事若干名 (うち幹事長1名)・和文誌編集委員若干名 (うち編集主幹1名)・欧文誌編集委員若干名 (うち編集主幹1名)・会計監査2名
1. 会長は本会を代表し、会務を統べる。任期は2年とし、連続3期つとめることはできない。
 2. 会長および運営委員は運営委員会を構成し、本会の要務を審議し会の運営にあたる。運営委員会は会長・3名以上の運営委員・30名以上の通常委員のいずれかの要請により開かれる。運営委員の任期は2年とし連続3期をつとめることはできない。
 3. 幹事長および幹事は会長を助けて庶務・会計などの日常の会務を処理する。
 4. 会計監査は前年度の決算を監査する。
 5. 和文誌および欧文誌の編集主幹および編集委員はそれぞれの編集委員会を構成し、おのおのの編集に関しての一切の責任を負う。編集主幹および編集委員の任期は3年とする。
- 第6条 本会の会計年度は4月1日に始まり翌年の3月31日に終る。
- 第7条 本会は原則として年1回定時総会を開き、会務を協議し、議決する。なお会長が必要と認めたときには、臨時総会を開くことができる。
- 第8条 本会は定時総会のとき大会を開き研究発表などを行なう。大会には大会委員長1名と大会委員若干名をおく。大会委員長は会長が委嘱し、大会委員は大会委員長が委嘱する。大会の運営は大会委員長の責任において行なう。
- 第9条 通常会員が会費を1年以上滞納したときには除名することができる。
- 第10条 本会は地方支部をおくことができる。
- 第11条 本会の会則の本則および付則の変更は総会において協議し、出席会員の3分の2以上の同意を得なければならない。

付 則

- 第1条 本会の事務所は京都大学理学部植物学教室におく。
- 第2条 会費は次の通りとする。
1. 通常会員のうち、和文誌および欧文誌の配布を希望するものは年額3,000円を、和文誌あるいは欧文誌のみ配布を希望するものは年額1,600円を年度始めに納入する。
 2. 賛助会員の賛助会員費は年額10,000円以上とする。
- 第3条 会長および運営委員の選出方法は次の通り定める。
1. 会長および運営委員 (14名) は、通常会員の中から通常会員の投票により選出される。その際、運営委員会はそれぞれ若干名の候補者を推薦することがある。
 2. 選挙の管理は運営委員会が委嘱した選挙管理委員 (5名) が行なう。
- 第4条 幹事長および幹事は会長が委嘱し、運営委員会の承認をうける。
- 第5条 和文誌および欧文誌の編集主幹は運営委員会が委嘱する。それぞれの編集委員は9名とし、まず運営委員会が3名を選び、残り6名は編集主幹が指名する。
- 第6条 会計監査は運営委員会の議を経て会長が委嘱する。
- 第7条 運営委員会は少なくとも10年毎に、広く会員の意見を聞き、本会のあり方に関して根本的な再検討を加えねばならない。
- 第8条 本会則は昭和43年5月18日より施行する。

付 記

和文誌および欧文誌の誌名は、それぞれさしあたって発生生物学誌 (Japanese Journal of Developmental Biology : 略称は Jap. J. Devel. Biol.) および Embryologiaとする。



申し合わせ事項

1. 毎年4月1日から総会までの会の運営は会長の責任による暫定予算によって執行し、その会計年度の子算とともに総会で承認を受ける。
 2. この会則が総会において議決され、運営委員会が発足するまでの間運営委員会の機能は設立準備委員会が代行する。
- (2は運営委員会発足とともに自然取消し項目となる)

編集後記

巻頭言にある通り、旧実験形態学誌は、日本発生物学会の和文誌として新しく生まれ変わることになり、誌名を発生物学誌と改めた。ただし、号ナンバーのみは実験形態学誌の輯ナンバーを踏襲して、第22号とした。

発生物学会の会則に従って出発した、発生物学誌の編集委員会は、今その編集方針を熟慮検討中である。新しいことが真によいことであるためには、その計画は慎重の上にも慎重でなければならない。その故に、本号のみは、急いで新方針を打ち出すことなく、実験形態学誌の編集方針をおおむね踏襲し、市川衛・加藤憲一・石崎宏矩が暫定的編集委員として、変則的ではあるがその編集作業にあたった。

内容は、発生物学会設立総会にひきつづいて行なわれた記念講演会の講演要旨、昭和42年動植物学会合同シンポジウム「細胞分化の基礎過程」の講演要旨、発生物学会第1回全国大会講演要旨である。大会講演要旨は、従来の刷上り1頁の限定を破り、1頁もしくは2頁とし、その選択は著者にゆだねられた。

第23号からは、新編集委員によって、名実ともに新学会の和文誌としてふさわしいものになる予定である。御期待を乞うとともに、会員諸氏の御協力による滑らかな発展を祈ってやまない。

昭和43年12月20日

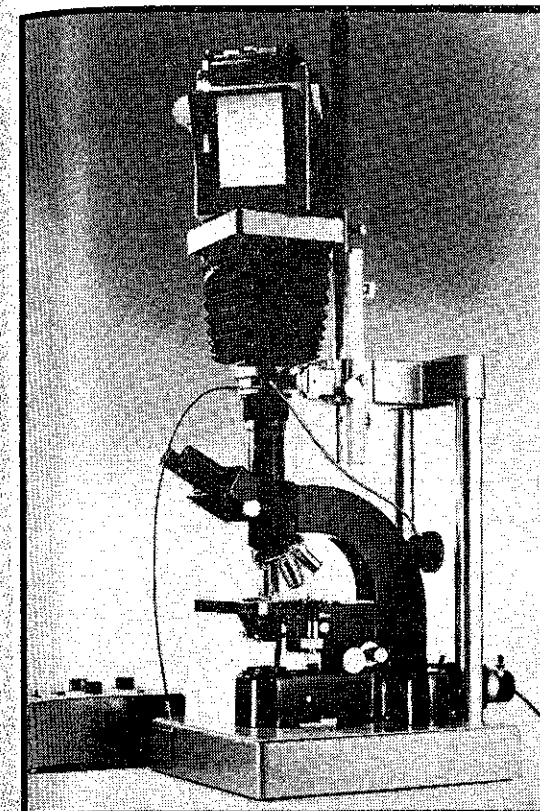
発生物学誌第22号編集委員会（市川衛記）

発生物学誌
第22号

昭和43年12月25日印刷
昭和43年12月30日発行

1,500
定価2,500円

編集者	京都市左京区北白川追分町 京都大学理学部植物学教室内 発生物学誌第22号編集委員会 代表者 市川 衛
発行者・発行所	京都市左京区北白川追分町 京都大学理学部植物学教室内 日本発生物学会 会長 団 勝 磨
印刷所	京都市上京区寺之内通小川西入 山代印刷株式会社 山代 多三郎



ライツ 4×5"判 全自動カメラ



35mm全自動カメラ《ORTHOMAT》に続いてライツが発表した、4×5" (9×12cm) 判のミクロ・マクロ撮影用全自動露光カメラ

- ★全てのライツ顕微鏡およびマクロ撮影装置に取付可能
- ★全トランジスター式電子制御装置。測光用フォトマル付
- ★視野を見ながら部分露光可能。露出決定は正確で、蛇腹の長さ、接眼鏡の種類、照明システムの種別に影響を受けない
- ★通常のシート・フィルム、乾板、ボラロイド使用。感光度ASA 6~10700 (DIN 9~41)
- ★マッドガラス・スクリーン付レフ・ボックスは回転式
- ★シャッターは独立懸架で振動がなく、倍率・露出時間に関係なく尖鋭な撮影

基礎組合せ一式 ￥600,000
アリストフォト基台 ￥78,600

西独ライツ社 株式 シュミット 東京 291・6661
日本総代理店 会社 大阪 202・5886
名古屋 561・5935

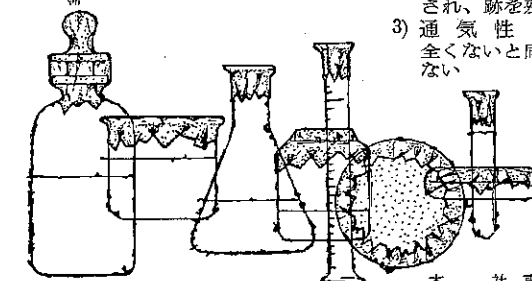
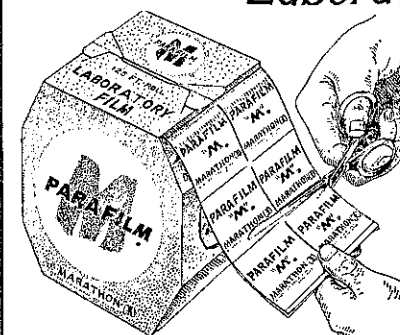
Laboratory Service Center

ご存じでしょうか？

ガラス容器の密栓に

PARAFILMを!!

- 特長：1) 柔軟性
容器の形如何にかかわらず密栓出来る
- 2) 密着性
そのままで密着し、しかも容易にはがされ、跡を残さない
- 3) 通気性
全くないと同時に試料への影響も全くない



一文献サンプルの
用意が御座いますー

アメリカン・キャン
日本代理店 三光純薬株式会社

本社 東京都中央区日本橋本町4~9
TEL (270) 6961~7 (代表)

支社 大阪市東区高麗橋詰町30-1
TEL (942) 1521~2

福岡営業所 福岡市舞鶴町3-8
TEL (74) 3626・7267

理 化 学 機 器 計 測 器
試 験 機 一 式

設 計 製 作 及 び 修 理

旭 理 研 工 業 社

大 阪 市 都 島 区 都 島 中 通 6-62 (06) 921-0 6 6 9
名 古 屋 市 昭 和 区 川 名 本 町 3-20 (052) 751-6 8 2 3

遂に完成した Schoeller Bleck Mann 鋼（オースター
リー銅材）を使用した
“研明社のミクロトーム・ナイフ”
世界に完たる 切れ味を お試し下さい。

製 造 品 名

研明社の ミクロトーム・ナイフ
九大式 高級削み革砥
ミクロトーム刀研磨剤 ペスター
ミクロトーム刀研磨用鞘
橋本式交流電気脱灰器
九大磨研式写真撮影装置

取 扱 商 品

アメリカンオプティカル社製各種ミクロトーム・ナイフ
AO. スペンサー各種ミクロトーム
AO. スペンサーミクロトーム・ナイフ自動研磨機
医学研究用器械器具の設計製作

株 式
会 社

福 岡 研 明 社

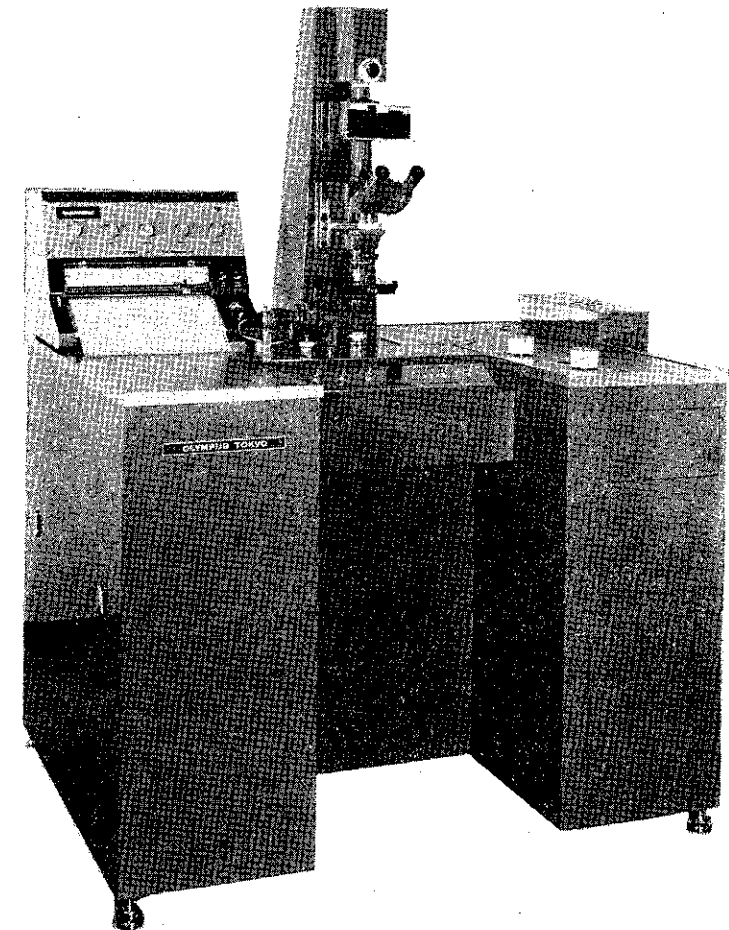
福 岡 市 箱 崎 東 新 町 二 丁 目
T E L 093-65-1519・5516
出 張 所 東 京 ・ 大 阪



Olympus

ダブルビーム式顕微分光光度計

DMSP-I



リファレンス側にも顕微鏡光学系を組みこんだ本格的なダブル
ビーム式顕微分光光度計です。

普通の分光光度計では測定できないような微小試料、例えば生
物細胞、繊維、微結晶などについて、分光吸収特性の測定や吸
収物質の定量に適しています。

●光源：タングステン灯および重水素放電灯またはキセノンラ
ンプ●分光器：石英30°プリズムによるリトロ型ダブルモノク
ロメーター●波長範囲：240～700mμ●顕微鏡レンズ：非球面反
射対物鏡

オリンパス光学工業株式会社
101 東京都千代田区神田小川町3の7 ☎(294)4411