

氏名・(本籍)	ふじ 藤	しま 島	まさ 政	ひろ 博
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	理博第	589	号	
学位授与年月日	昭和53年	3月24日		
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当			
研究科専攻	東北大学大学院理学研究科 (博士課程) 生物学専攻			
学位論文題目	Paramecium caudatum の減数分裂 の研究			
論文審査委員	(主査) 教授 樋渡 宏一 教授 小西 和彦 助教授 竹内 拓司			

## 論 文 目 次

- I 序 論
- II 材料と方法
- III 結 果
  - 1) 接合過程初期の小核の形態変化
  - 2) 顕微分光測光法によるDNA量の測定
  - 3) オートラジオグラフィーによる<sup>3</sup>H-thymidine取り込みの観察
  - 4) オートラジオグラフィーによる<sup>3</sup>H-deoxyuridine monophosphate取り込みの観察
  - 5) Pre-meiotic S期移植核に対する減数分裂期細胞質の影響
  - 6) G<sub>1</sub> 期移植核に対する減数分裂期細胞質の影響
- IV 考 察
- V 要 約
- VI 文 献
- VII 図, 表の説明
- VIII 図, 表
- 付 参考論文

# 論文内容要旨

## I 序論

ゾウリムシ, *P. caudatum* は, 相補的な接合型の細胞をまぜて接合対を形成させることで多数の細胞に同調して減数分裂を誘導でき, その観察は, 固定染色した標本ではもちろん生細胞においても減数分裂の全時期を顕微鏡で容易に観察できる。さらに, 細胞の長さが200~250 $\mu\text{m}$ と大きいのでマイクロマニピュレーションも可能な材料である。このように, ゾウリムシは減数分裂の研究材料としての長所を多く持つが, 特に, 容易な方法で短時間で減数分裂期に入らせる事ができるので, 減数分裂の誘導機構の研究に適した材料である。ところで, 分裂期細胞の細胞質中には間期核を分裂期化させる細胞質要因が存在する事が, 培養細胞の細胞融合 (Johnson & Rao, 1970; Matsui et al, 1971) や両生類の卵母細胞を使った核移植実験 (Gurdon, 1968; Ziegler & Masui, 1973) で報告されている。もし, 減数分裂期の細胞質中に, 間期核に減数分裂を誘起する細胞質要因があるなら, 間期核を減数分裂期の細胞に移植する事により, 移植核に減数分裂を誘起できる事が期待される。筆者は, 間期核に減数分裂を誘起する細胞質要因の直接的把握と誘起の機構解析を目的とし, ゾウリムシでは初めて小核の移植技術の開発に成功し, この技術を用いて, 間期移植核に対する減数分裂期細胞質の影響を調べた。

## II 材料と方法

*P. caudatum*, syngen 3 と syngen 1 の相補的接合型の株, 及び *P. aurelia*, syngen 4 の stock 51 を使用し, 顕微分光測光法によるDNA量の測定, 及び  $^3\text{H}$ -thymidine,  $^3\text{H}$ -deoxyuridine monophosphate (dUMP) を使ったオートラジオグラフィ, さらに Koizumi (1974) のマイクロマニピュレーションの方法を用いて, *P. caudatum* の小核の移植を行なった。

## III 結果

*P. caudatum* の相補的接合型の細胞をまぜてから, 25 $^{\circ}\text{C}$ で6時間以内に観察される小核の形態変化をその特徴から5つのstageに分類した。顕微分光測光法による各stageの小核のDNA量の測定, 及び  $^3\text{H}$ -thymidine,  $^3\text{H}$ -dUMP 取り込みの観察結果から, stage I の小核は $G_1$ 期, stage II が pre-meiotic S期, stage III~V が減数分裂前期である事が判明した。これら前期核の形態は減数分裂でのみ観察される形態で, mitosis では観察されていない。したがって, 小核に stage III 以後の形態変化を誘導できた時, 減数分裂に入った事がわかる。次に, 間期移植核に対する減数分裂期細胞質の影響を調べた。移植核として pre-

meiotic S期核とG<sub>1</sub>期核を用いた。Pre-meiotic S期核は、定常期の細胞に移植し、細胞を緩衝液に incubate しておくと、減数分裂も mitosis も行なわず細胞内に保持されるが、その細胞を培養液に移して分裂増殖させると、移植核は宿主の細胞分裂に伴ない mitosis を行なった。その結果、移植核由来の小核を保持した細胞からなるクローンを得る事ができた。その細胞を相補的な接合型の細胞と接合させると、移植核由来の小核は、正常な接合過程で観察される減数分裂を含めた受精核形成のための核変化を行なった。これらの事実から、Pre-meiotic S期核をかなり intact な状態で移植できるという事と、Pre-meiotic S期核は減数分裂期直前の時期の核であるが、mitosis を行なえるので、まだ減数分裂にコミットしていない核である事が確かめられた。一方、Pre-meiotic S期核を減数分裂前期の stage IV の小核を持つ細胞に移植すると、移植核は正常な減数分裂前期に観察される stage III, IV の形態変化を示した。すなわち、減数分裂期細胞に移植した間期核を減数分裂期に入らせる事に成功した。同様に、G<sub>1</sub>期移植核に対する減数分裂期細胞質の影響を調べた。移植核の中には、本来のG<sub>1</sub>期核よりも長い形態を示した例が認められたが、pre-meiotic S期移植核で観察された変化ほど顕著な形態変化は認められなかった。

#### IV 考 察

減数分裂期の細胞に移植した間期核を減数分裂期に入らせる事ができたのは本報が最初である。本実験結果は、減数分裂前期細胞の細胞質に、間期移植核を減数分裂期に入らせる要因が存在する可能性を示唆する。筆者は、減数分裂の第1分裂中期、第2分裂中期の細胞を recipient とし、pre-meiotic S期移植核に対する影響も調べたが、減数分裂前期の形態変化を示した移植核は観察されなかった。この結果は、減数分裂期の時期が異なると移植核に及ぼす影響も異なる可能性を意味する。しかし、第1分裂中期以後の細胞を recipient として使うと、移植核と recipient 自身の小核との区別が困難になるので、移植核の形態変化を追跡できない。この問題は、移植核か recipient の核を予めアイソトープでラベルし、オートラジオグラフィで移植核に起こる変化を調べる事でできるであろう。この方法で、間期移植核を最も高い頻度で減数分裂期に移行させる事のできる recipient の時期を明らかにする事ができるはずである。その時期の細胞質を間期核を持つ細胞に移植し、間期核が減数分裂期に入るかどうかを確かめる事で、前述の、間期核を減数分裂期に入らせる細胞質要因の存在を証明できる事が期待される。

## 論文審査の結果の要旨

減数分裂は真核生物一般に見られる重要な現象であるが、ゾウリムシを含む繊毛虫類は、減数分裂の研究に極めて適した材料である。

この研究はゾウリムシを用いて減数分裂の誘導の機構を解明することを目的としている。

先ず顕微分光測光法および  $^3\text{H}$ -チミジン、 $^3\text{H}$ -ウリジン 1 燐酸を用いたオートラジオグラフーにより、減数分裂前DNA合成期が接合後の小核変化の Stage II にあることを明らかにし、ゾウリムシは  $G_1$  期で接合過程に入ることを証明した。

次いで顕微注射法を用いて小核および細胞質の移植を試み、減数分裂前DNA合成期の小核は栄養期の細胞に移植すると通常の有糸分裂を行うこと、他方この核を減数分裂前期の細胞に移植すると減数分裂を行うことを明らかにした。さらに  $G_1$  期小核を減数分裂前期の細胞に移植した場合も減数分裂様形態変化を行うことも観察している。

また減数分裂前期の細胞質を  $G_1$  期細胞に注射することにより低率ではあるが栄養期の細胞に減数分裂様形態変化を誘導することにも成功している。

以上の研究は減数分裂の研究に重要な貢献をしただけでなく、はじめて小核の移植に成功した点において画期的なものである。

この研究は藤島が自立して研究を行う高度の学識と研究能力を有することを示している。よって理学博士の学位論文として合格と認める。