

ゾウリムシの接合における核変化の生細胞観察

菅井 俊郎, 野村 明子 (茨城大・理学部・生物科学)

Living cell observation of nuclear change during conjugation of
Paramecium caudatum

Toshiro SUGAI and Akiko NOMURA (College of Science, Ibaraki University)

SUMMARY

Living cell observation of the ciliate, *Tetrahymena*, *Paramecium*, and *Euplotes* has shown novel nuclear behavior. Using transparent living cells, conjugation of *Paramecium caudatum* was reinvestigated to verify nuclear events which had been found mainly in fixed cells and to discover new phenomena. By observing non-flattened, slowly swimming cells using phase-contrast and fluorescence microscopy, many new nuclear phenomena and positionings were identified. The macronucleus (MAC) moved to the dorsal side immediately after pairing. At the start of meiosis, one side of the micronucleus (MIC) protruded although chromatin kept spherical and condensed at the opposite side. The interphase MIC of every division interval was spindle shaped and has unevenly distributed chromatin. MAC anlagen, MIC and MAC fragments all gathered around the anterior contractile vacuole (CV). The CV served as distribution apparatus for MAC anlagen during division of the exconjugant. A normal table of conjugation was made.

[目的] これまで繊毛虫のテトラヒメナの透明化した細胞の生細胞観察により、細胞分裂と有性生殖である接合過程で始めて核の形態と位置決めを明らかにした。同様にゾウリムシ (*Paramecium caudatum*, *P. aurelia*) 細胞も透明化し、核の形態と細胞分裂時の核の分裂様式を明らかにした。位相差、微分干渉および蛍光を使った生細胞観察は強力な研究方法である。

ゾウリムシ (*P. caudatum*) の接合過程は、古くから良く研究され、核変化も詳しく記載されている^{1, 2)}。これらの現象を生きた接合対で確認することは重要である。さらに新しい現象が見出されるかもしれない。それで、透明な細胞に接合を誘導出来る条件と観察方法も検討し、接合中の核の位置と形態変化を調べた。

[方法] *P. caudatum* の株は、筑波大学の高橋三保子博士から分与された多数の野外採集株の中から、核を観察しやすいものを選択した。その株の自系接合の子孫から相補的な接合型を得た。Syngen は不明である。細胞は、ドリル液を使用しないで、ワラ (10~20 g/l) で培養した。

核の形と位置は、遠心や強いピペット操作、その他の細胞に加える力により簡単に変わるので、観察まで穏やかに扱い、主に遊泳中の細胞を観察した。観察には位相差を用い、核の蛍光観察は DNA を Hoechst33342 で染色して行った。

[結果] 接合でも、細胞に力を加えると核の位置は移動し、大核の形も変形することがわかった。カバーガラスで細胞の遊泳を停止させると、正常な観察は

不可能であった。生きた接合対で見られる核の形と位置をそのまま固定できるか調べた。ホルマリン、パラホルムアルデヒド、ブアン、ピクリン酸、ピクリン酸+ホルマリンなどの固定液を調べたが、いずれも大核の形が変形し、位置も移動した。それで、観察は全て生細胞で行った。

口部装置に付着している紡錘形の大核は、接合が始まると、*paroral union* 形成前に口部装置より離れ、背中側に移動した。前後に二つある収縮胞のうち、前の収縮胞に大核が付着した。減数分裂核の最初に、クロマチンが強く凝縮してから核膜が変形して片側に突出し、その後にクロマチンが伸長した。生殖核の間期は紡錘形であり、核内のクロマチンの分布は不均一であった。さらに複数の生殖核は一定の位置にあり移動する時は並んでから移動する。

断片化する大核は、クロマチンが太い紐状になってから、核自体が引き延ばされ、一定サイズに切断される。接合後期にある複数の核、つまり大核原基、小核、大核断片は細胞の前部に収縮胞に近い部域に移動し、そこに集合した。最初に大核原基、ついで小核、最後に大核断片が移動した。一方食胞は散在または細胞後部に分布していた。その後の細胞分裂時には収縮胞が分配装置になっていた。この

他にも多くの現象が見出された。全体をまとめた時期の表（発生段階表）を作成した。

【考察】 接合時の核変化を生細胞で観察すると、今まで知られていない現象が多数見出された。ゾウリムシの生細胞観察は今までなされて来たが、細胞はあまり透明ではないため、細胞をカバーガラスで扁平にしないと核が観察できない。今回は透明な細胞を使ったため、扁平にしなくてもある程度観察できた。また、遠心やピペット操作自体が *artifact* を誘導することが今まで不明であった。核交換、受精や受精後第3分裂の時期に核の位置が決まっていることが知られているが、今回の観察では、その他のほとんどの時期で核の位置は決まっており、収縮胞が大きな役割を果たしていることが示唆された。さらに小核内のクロマチンの形も予想外に変化に富むことがわかった。今回の観察はおおまかなもので、さらに詳しく経時的に観察する必要がある。

【文献】

- 1) 見上一幸 (2007) 単細胞生物の性と生殖, in 「性と生殖」, pp10-41, 培風館.
- 2) Raikov, I. B. (1982) *The Protozoan Nucleus*, Springer.