

動物の減数分裂の理解

秋田大学教育学部生物学研究室

山本 穆彦

岡 睦夫*

畠山 忠季**

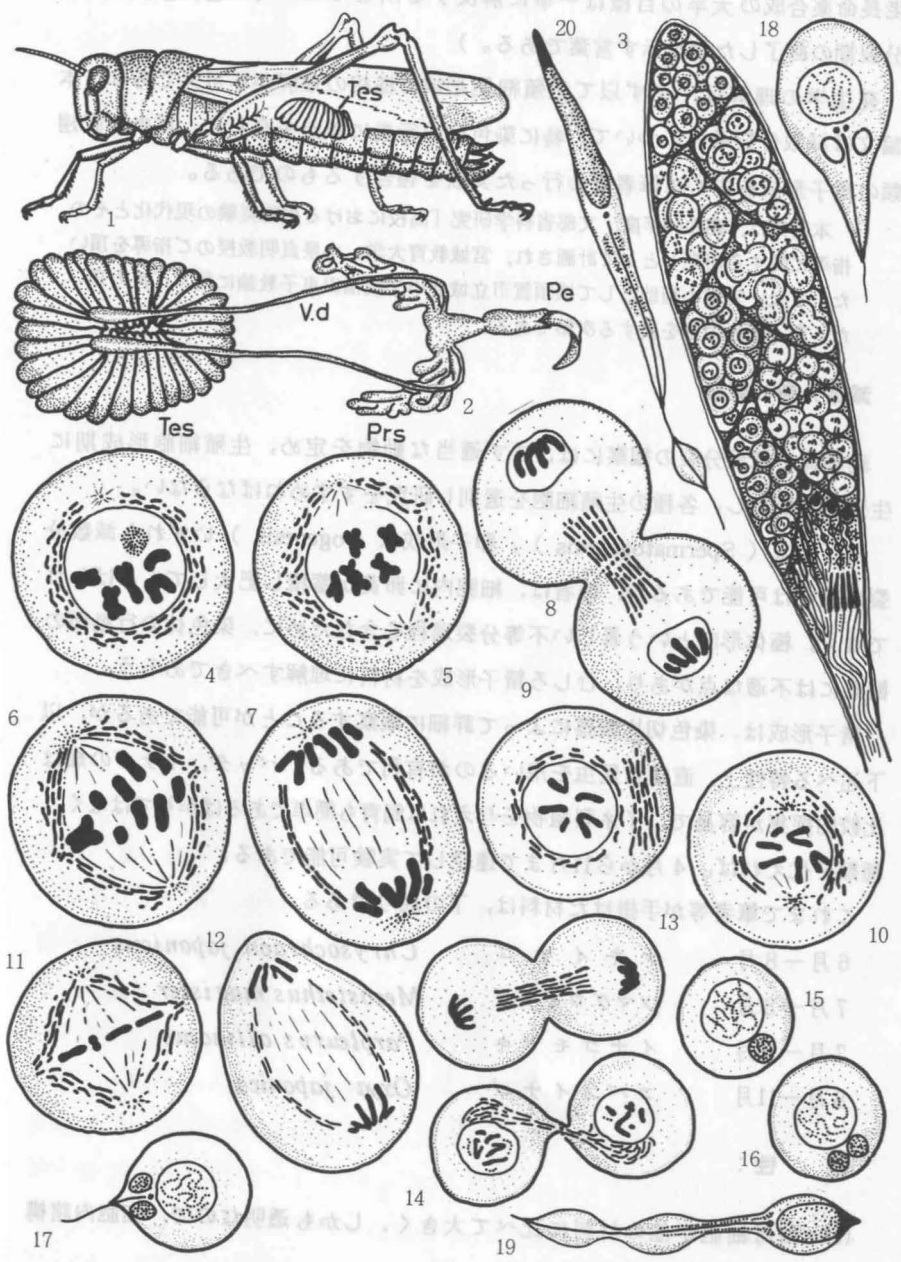
諸 論

細胞分裂は、体細胞分裂と減数分裂の2つに大別される。前者は、染色体が縦裂しそれらが娘細胞に均等に分配され、親細胞と等しい染色体組成を持った2嬢細胞を新成するが、減数分裂は配偶子形成を目的とし、体細胞分裂とは全く異なった過程を経て達成される。すなわち分裂過程の比較的早期に、母細胞核中で父方及び母方由来の相同染色体が互いに対合し、続いて各染色体が縦裂し四分子（Tetrad）を作る。次いで染色体は2回の連続する細胞分裂によって染色体数を半減し、精子又は卵子をつくる。生殖細胞形成は、初め原始生殖細胞が体細胞分裂の形式で増殖し、のち一定の休止期を経て、整然と減数分裂に切り換えられる。これらの機構は現在殆ど不明であり、体細胞分裂と減数分裂を実験的に任意にコントロールすることは不可能である。減数分裂の制御が人為的に可能となれば、秦の始皇帝の時代から人類の悲願であった、不

* 秋田県立秋田南高等学校

** 秋田県立花輪高等学校

説明図 1. 直翅目昆虫の精巣位置. 2. 雄性生殖器官の模式図, Tes: 精巣, Vd: 輸精管, Pro: 前立腺, Pe: ペニス. 3. 精巣小胞の縦断模式図. 4. 第一精母細胞移動期. 5. 同, 前中期. 6. 同, 中期より後期に入る. 7. 同, 後期. 8. 終期, 細胞分裂中. 9. 第2精母細胞. 10. 同, 前-中期. 11. 同, 中期. 12. 同, 後期. 13.~14. 終期一分裂期. 15.~16. 精(子)細胞, 副核がみえる. 17.~19. 精子に変態中の精(子)細胞.



老長命薬合成の大半の目標は一挙に解決する所となる。(「老」とは、減数分裂期の終了した相を示す言葉である。)

発生学の理解は、まず以て生殖細胞形成の様相の理解が不可欠であり、本論文は減数分裂過程について、特に染色体の行動に焦点を合わせ、昆虫の直翅類の精子形成を中心に筆者等の行った実験を報告するものである。

本研究は、昭和49年度、文部省科学研究「高校における生物実験の現代化とその指導に関する研究」として計画され、宮城教育大学、小泉貞明教授のご指導を頂いた。また、実験の補助として横須賀市立城北小学校福田恵子教諭に種々ご甚力頂いた。厚く感謝の意を表する次第である。

減数分裂の観察

動物体の減数分裂の観察には、まず適当な動物を定め、生殖細胞形成期に生殖巣を摘出し、各種の生殖細胞を選別し研究をすすめねばならない。

精子形成 (Spermatogenesis)、卵子形成 (Oogenesis) いずれも減数分裂の観察は可能であるが、後者は、細胞内に卵黄が蓄積し肥大してくるばかりでなく、極体形成という著しい不等分裂過程を含むために、染色体の行動面の観察には不適な点があり、むしろ精子形成を材料に理解すべきであろう。

精子形成は、染色切片観察によって詳細に観察することが可能であるが、以下述べる特性上、直翅目昆虫を用いるのが有利である。バッタ、イナゴの類は比較的採集が容易で、イネ科植物を与えれば飼育も簡単であるばかりではなく、種類を代えれば、4月から11月まで連続して実験可能である。

これまで筆者等が手掛けた材料は、下の通りである。

6月—8月	ナキイナゴ	<i>Chrysochraon japonicus</i>
7月—8月	ツマグロイナゴ	<i>Mecostethus magister</i>
7月—8月	イナゴモドキ	<i>Parpleurvs alliaceus</i>
8月—11月	コバネイナゴ	<i>Oxya japonica</i>

特 性：

- (1) 精母細胞が他の材料に比べて大きく、しかも透明なので、細胞内諸構造の検鏡に極めて有利である。

- (2) 本類の染色体は他種に比べて大型で、棒型、V型の染色体構造が一目瞭然で判別できる。
- (3) 染色体数は $2n = 17$ 又は 23 の種が多く、染色体数が少ないので観察が容易である。
- (4) 性決定は XO 型で、 X 染色体の鑑別は馴れば比較的容易である。
- (5) 前還元型である。
- (6) 精原細胞 (Spermatogonium) , 第1, 第2精母細胞 (First and second spermatocyte) , 精子細胞 (Spermatid) , 変態中の精子及び完熟した精子 (Spermatozoon) が、同一のプレパラートで一度に観察できる。

雌雄の鑑別：

雌の腹部末端器として、4本の突起が産卵管を構成している。雄は雌に比べて小型で、腹部末端器の構造の違いからは勿論慣れば大きさだけでも区別がつく。ただ、実験当日の朝に、新鮮なイネ科植物をあたえ、ケージを直射日光に数時間晒し、分裂頻度を高める必要がある。梅雨時期に採集すると、水分摂取量が過大なためか各種の精細胞の融合現象がおこり、多核の巨大細胞が観察される。

方 法：

雄個体の腹部背中側（尾端側）に眼科鉗を挿入し、尾端より胸部直前まで正中線に添って背甲を切開、切開面を開くと、腹部第3～第5節に、黄色楕円形の精巣がみえる。精巣は細網状の薄膜で被覆され、周辺には気管が密に分布し、淡褐色の気嚢が諸々に付随している。精巣薄膜を除去すると、多数の精巣小胞 (Testis follicle) がバナナの房状にかたまっているのがみえる。精巣小胞は、上端で2条の輸精管のいずれかに付着している (Fig 2) 。

精巣小胞は、小嚢室 (Cyst) と呼ばれる多数の小室から成り、各嚢室は、反輸精管側より輸精管側に向って、順に精原細胞—第1精母細胞—第2精母細胞—精子細胞—精子を含む (Fig. 3)。老熟するにつれて精子の占める割合が増加するので、成熟幼虫 (Nymphal stage) 期の個体を用いるのが望ましい。

§ 1. 押しつぶし法による減数分裂の観察

1 方 法

押しつぶし法は、Belling 1929 が、植物の花粉母細胞の研究に開発し、その後改良工夫され、現在種々の研究に利用されている。単純手軽で、全染色体をそのまま鏡下に観察することができるので、核型分析にも好適である。

方 法 まず、精巣を摘出し、これをピンセットで静かに水中に移し（水処理）、染色体の微細構造を浮き出させる。5～10分後、精巣小胞3～6本をスライドグラス上に取り、濾紙で余分の水分を拭って後、La Cour 1941の酢酸オルセイン液（Acetic orcein. 氷酢酸45ccに Orcein 1gを加え、徐々に加熱して溶解させる。溶解後濾過、水55ccを加える。）又はアセトオルセイン液1滴を精巣小胞上に滴下、5～10分間放置。染色終了後、カバーグラスをかけて上方から静かに押し潰す。

2 観 察

上述した処理により、分裂各期の各精細胞群を鏡で見ることができる。各細胞の核の体積比は、精原、第1、第2精母、精子細胞の順で、1:2:1:0.5である。（細胞の識別に多少の訓練を要する）。細胞体が最大で核内容が全数（ $2n$ ）であれば第1精母細胞。それより小型であれば精原細胞である。又、核がやや小型で染色体数が半数の細胞中、細胞体大なるものは第2精母細胞、小なるものは精子細胞である。精子細胞には、著名な副核（Nebenkern）と呼ばれる小球状構造が、細胞質中に1～2個存在するので、すぐ判別することができる。精子細胞は、以後精子に変態していくが、精子細胞を除く他の細胞は、分裂期の細胞であるから、核の状態によって、静止期（Resting stage）、前期（Prophase）、中期（Metaphase）、後期（Anaphase）、終期（Telophase）に分類される。これらの形態学的特徴を、第1精母細胞について説明すると次の通りである。

- (1) 静止期（Resting stage）この時期は細胞活動の旺盛な時期で、核分裂には未だ進入せず別名、間期ともいわれる。染色糸は未だに顕著な糸状構

造を示さず、一般に細網状構造を示す。

- (2) 前期 (Prophase). 第1精母細胞分裂は還元第1分裂に属し、父方及び母方の相同染色体は互いに対合して、いわゆるゲミニ (Gemini) をつくる。ゲミニの形成はかなり複雑な過程を踏むが、通常、次の5期に分ける。
- 細糸期 (Leptotene stage). 細糸期は体細胞分裂の前期に相等し、核内に細い核糸 (Nuclear threads) が充満し、長い繊細な条線 (染色糸又は螺旋糸) よりなる網状構造を示す。やがて2本の染色糸は部分的に並列し平行接合 (Parasynapsis) へと移行する。
 - 合糸期 (Zygotene stage). 本期は細糸期に比べて経過時間が短く、平行接合した染色糸が、全長に亘って対合する時期である。この対合をシナプス (Synapsis) という。対合した染色糸は、次第に太く明瞭になり、厚糸期へと移行する。
 - 厚糸期 (Pachytene stage). 対合した2本の染色糸は、その長さを減少しながら次第に太くなり、単一の染色体構造を示す。したがって、染色体数は見かけ上、半減してみえる。しかし、本期の染色体は相同染色体の各々が縦裂しているので、事実上は四重構造をしている。
 - 複糸期 (Diploten stage). ついで、相同染色体は複糸として観察されるようになる。厚糸期で単一紐状に凝縮した相同染色体は、本期では互いに離れ、いくつかの点で接着した状態となる。この点を、キアズマ (Chiasma) と呼ぶ。キアズマが染色体の中央にあれば、染色体は全体としてX字型、また、両端にあれば、O字型、3点では、8の字型を呈する。染色体自体には、縦裂が明瞭に認められる。
 - 移動期 (Diakinesis stage). 本期では、染色体は肥厚、短縮し最小となる。染色体の縦裂は殆ど見えなくなり、一見、コロッとした状態を示す (Fig 4)。やがて前中期 (Prometaphase) に入り核膜が消失して中期え移行する。本期は、形態学的に体細胞分裂と特に異なった像を示す。

前期の所要時間は20~50時間と長い。

- (3) 中期 (Metaphase). 本期では核膜が消失し、染色体は細胞の赤道面

に配列する (Fig 5)。この時、両極部の細胞質中に小さな星状体が見られる。星状体は、中心粒のまわりに放射状に形成されるもので、中心粒と染色体上にある動原体 (Kinetochore) 間は、紡錘系 (Spindle fiber) で連結される。星状体、紡錘体、及びその内部の染色体を総称して分裂装置 (Mitotic apparatus) と呼ぶが、酢酸オルセイン法では分裂装置は染まらない。中期の染色体は対合しているので半減して見えるが、実際は各染色体とも縦裂している。

中期の所要時間は1～数時間程度で比較のみじかい。

- (4) 後期 (Anaphase)。相同染色体は、後期に入るとそれぞれ反対極に移動し始める (Figs. 6 and 7)。染色体の移動は、外見的には恰も紡錘系の収縮によって索引されるように動原体部から両極に向かって分離し始める。極に近づくにつれて、染色体の縦裂構造が明瞭となる。しかし、嬢染色体の動原体部は次の分裂まで分離せず、染色体腕は動原体に収斂し結ばれている。

本期の所要時間は10分内外である。

- (5) 終期 (Telophase)。両極に移動した染色体群は、そのまま一群をなして凝縮する。その間、染色体群の周囲に核膜が再成される。体細胞分裂では、前期における染色体変化と逆の過程で静止核に復帰するが、減数分裂では、分離した染色体群が静止核まで完全に復帰することなしに次の第2分裂へと移行する。

核分裂終了後、第1精母細胞は分裂し、2嬢細胞を生じる。これが第2精母細胞で、以後第2分裂へと移行する (Figs, 9～14)。本分裂は体細胞分裂形式で、染色体が両細胞に2分される (Figs 15 and 16)。

§ 2. 染色体移動と精母細胞分裂の観察

従来、細胞分裂の観察は、固定染色標本で行われてきたが、これは一口で云えば死細胞の観察で、時々刻々と変化する、例えば染色体のダイナミックな変化を理解することは不可能であった。したがってこれらの変化の理解には、どうしても生きた細胞を鏡下に把え、その変化の過程を直接に観察することが必要である。このための理想的な材料が直翅目昆虫であるといえる。就中ナ

キイナゴは、精母細胞が大きく、慣れれば厚糸期末期以後の染色体の観察が生きたままで可能であり、初心者でも移動期の染色体を確認できる。ナキイナゴ雄の染色体は、 $2n = 17$ で、3対のV型染色体、5対の棒染色体、及び棒型のX染色体1を含む（動原体の観察には、イナゴモドキが優れている）。用いる生理食塩水としては、リンガーロックバルタの液が最も簡便である。

9%	NaCl	10 cc	}	左の原液を予じめ用意し、 実験にのぞんで、水、および重曹をまぜ、調整する。
1%	KCl	2 cc		
1%	CaCl ₂	2 cc		
10%	glucose	2 cc		
	NaHCO ₃	0.02 g		
	H ₂ O	100 cc		

1 方 法

前項と同様、精巣を生理塩類溶液中に摘出、ピンセットと針で精巣小胞をほぐす。別にカバーグラスを1枚用意し、あらかじめその表面に、極く薄く卵白アルブミンを塗布しておく（唾液でもよい）。次に、先の細いスポイトで、生理塩類溶液を1滴カバーグラスにとり、精巣小胞1～3本をその中に移す。

解剖顕微鏡下で精巣小胞を検すると、多数の小嚢室が見えるが、最も大型の細胞を含む小嚢室を、鋭い針先で破ると、第1精母細胞がスライド上に流れ出す。次にカバーグラスを逆さにし、静かにホロースライドの窪みの上に細胞懸濁液がくるようにカバーグラスをおき、その周囲を水でシールする。（この方法を、懸滴法 Hanging drop method という）。本法により、高倍率顕微鏡使用が可能となるので、移動期、中期、後期の第1精母細胞を見出し、以後連続観察を行えばよい。被検体を高温から防止するために、検鏡中以外は照明を切る。

2 観 察

静止期又は前期の精母細胞では、細胞質中に糸状のミトコンドリアが多数、核をとり囲んで存在するのが観察される（Figs. 4～6）。これらのミトコンドリアは、他の細胞諸構造の観察を妨げるように考えられるが、細胞核、その他の細胞内諸構造は、屈折率が殆ど細胞質と等しいので、生細胞での観察は殆ど

不可能である。したがってミトコンドリアの配列状態，行動などから逆に，核の輪郭や紡錘体の状態など，内部諸構造を推定することができる。

移動期の染色体は短く，肥厚しており，X型，8字型などを示すので，容易に検鏡できる。しかし，ミトコンドリアの配列からみると，核膜の隅取りが著明であるので，核膜が依然として存在していることがわかる。やがて，核膜は消失し始める。

その頃，両極部のミトコンドリアが紡錘体極を中心に放射状に配列し，小さな星状体を形成していることがわかる（Fig. 6）。位相差観察によれば，星状体は前期のはじめから，小さいながらも核膜周辺の細胞質内に1個出現し，ウニ卵割時の星状体とはほぼ同様な過程を経て，前中期の星状体へと移行することが知られている。続いて，核膜の消失は全域に及び，球状構造は消失する。しかし，ミトコンドリアが核域に侵入することはなく，旧核域はやがて楕円状又は紡錘状の構造を示すようになる。これが紡錘体である。紡錘体を取りまくミトコンドリアは，その長軸に沿って糸状に配列し，紡錘糸が紡錘体の長軸に沿って直線状に形成されることをうかがい知ることができる。

中期の細胞の観察を長時間続けたとしても，染色体の分離には尚かなりの時間を要するので，単に染色体移動の実態を理解するには，既に中期より後期に入り染色体分離を開始しつつある細胞を探し観察する方が能率的であろう。一度染色体移動が開始されると，その経過は速く，せいぜい10分程度で染色体の移動が完了する。生きた染色体で動原体の位置の弁別はかなり困難であるが，動原体部を先頭にして染色体の極移動が行われるので，大体の想像はつく。染色体の分離は，i型染色体は動原体部より分離する結果，当初T字を横にしたような形態を，V型染色体は，ひし型を呈する。この間，ミトコンドリアは紡錘体周囲に配列し，染色体の極分離後の紡錘体の中間域には，糸状のミトコンドリアが円筒状に配列し，簾状の構造をとる（Fig. 8）。生理塩類溶液に，少量のヤヌス緑（Janus Green）を溶解し生体染色を施すと，ミトコンドリアは青く染色され観察が容易となるが，以後の細胞の行動はやや異常となる。

分離した染色体が各々両極部に集合する頃，細胞体は両極方向にかなり引き

伸ばされて長楕円形となる。次いで、その赤道面付近から長軸に直角に分裂溝が進入し、約5分間で細胞分裂が完了し新しい2嬢細胞が作られる。筆者等の実験によれば、分裂面は必ずミトコンドリア束の中央を直角に横切り形成されることが判明した。第8図又は第14図に示すように、分裂直後の2嬢細胞は、ミトコンドリア束で串刺しの状態でしばらくとどまり、やがてミトコンドリア束の中央部分が切れ細胞は互いに分離する。

本法では精子の変態過程も観察できるが、紙面の都合で省略する。ただ、変態中の精子細胞の鞭毛に沿って、小滴状に細胞質の一部が排出放棄される姿が容易に観察できるので、精子の変態を理解する一助ともなる (Figs. 17~20) 。

§ 3. 染色体異常の誘起と異常染色体の行動の観察

染色体異常の観察は遺伝学の理解に極めて重要であるが、本材料では、その実態を容易に観察することができる。染色体異常は、X線照射(約200 r)、薬品処理(分裂阻害剤の注射—コルヒチン、コルセミド、アクリフラビン、フェニールウレタン……)、浸透圧、熱処理などで簡単に誘起することができるが、本稿では、比較的設備も少なくて済み簡単に染色体異常を観察し得る、熱処理法について述べる。

1 方 法

イナゴやバッタを小さな紙袋に入れ、40℃の定温器で3時間、又は45℃、20分処理。処理後、2に述べた方法で精母細胞の行動を観察する。

2 観 察

熱処理の結果、染色体の融合と切断が誘起する。(固定切片観察では、染色体の濃縮、配列の不整、融着、異常分離、切断、染色体基質の異常等が観察される。)

- (1) **染色体の融着** 熱処理の結果、染色体は正常のものに比べやや膨潤した状態で赤道面に配列するが、主として相同染色体同志、或は稀に隣接する染色体間で染色体融合がおこる。染色体融着の軽度のものは、分裂後期

に入ると動原体を先頭に極移動を始めるが、この際、相同染色体の後端が融合しているものは長い染色体橋 (Chromosomal bridge) を作る。融着の軽度のもは次いで橋が切れ、染色体分離を完了するが、強度のもは染色体分離が抑制され、結局、赤道面に不分離染色体が残り、終期を迎えると、それらはやがて一体化し凝縮して微小核 (Micronucleus) を作ることがある。

- (2) **染色体断片の行動** 熱処理を施した精母細胞の細胞質中にたまたま点状又は棒状の染色体断片 (Fragmented chromosome) が観察される。動原体を含まない染色体断片は、紡錘糸と連結することが不可能で、紡錘体外に排除され細胞質中にはみだし、分裂期間中異常の行動をとる。この時染色体断片をよく見ると、他の相同染色体と同様に縦裂しているのが観察される。

以上の結果から判断して、凡そ次のことが理解できよう。

熱処理法により融合した相同染色体が、後期になると動原体を先頭に染色体橋を作りながら両極に向かって分離、移動していくことは、極と動原体を結ぶ紡錘糸—これを特に牽引糸 (Traction fiber) 又は染色体糸 (Chromosomal fiber) という—の連絡がかなりしっかりしたもので、おそらく、この紡錘糸の収縮によって、染色体の極移動が成就するものであろうということ。

動原体を含まない染色体断片が紡錘体外に排除されるのは、中期における染色体の赤道面配列が、動原体と密接な関係を有すること。

染色体断片が縦裂して2分するのは、染色体の縦割れが染色体独自の性質に起因し、紡錘糸の牽引作用等、外力によって引き離されるものではないこと等を示唆している。

結 語

減数分裂は染色体の半減を目的とし、卵細胞及び精子を形成、やがてそれらを受精へと導く。受精は、卵の雌性前核と精子由来の雄性前核との融合をみちびき、親と違った遺伝素質を持つ多数の個体を作り、(Genetic recombination

遺伝的組換), 外圍環境とマッチした個体を生存繁榮させる。したがって, 生命現象の基礎は, 受精であるといっても過言ではあるまい。

減数分裂の特徴は, 卵および精子をつくる母細胞中で父方及び母方由来の組成・形態の相等しい染色糸が対合し, 相同染色体対を形成することで, これは体細胞分裂時における染色体の行動とは全く異質である。

本論文では, 比較的手軽に採集可能である直翅目昆虫, 特にイナゴやバッタ類の精母細胞を材料として, 従来, 高校の教科書等で単純安易に取り扱われてきた減数分裂の過程を, 直接自分の目を通して, 染色体の移動や細胞分裂の動きを学習させることを目的に研究を進めた。これは, 単に細胞分裂の理解にとどまらず, 生殖細胞形成という生命現象の重要なポイントを把握するものとして, その意義は極めて大きい。本実験を通じて減数分裂を正しく理解し, 受精の意味を弁え, 生物の個性性の理解へと発展しながら, 生命現象の精緻な営みを正しく認識することが可能となることであろう。

参 考 文 献

- YAMAMOTO, M, 1957 The effect of injury on the spermatocyte of grasshopper with a micro-needle. *Sci. Rept. Tohoku Univ. (Biol.)* **23**, 59-62.
- , 1960 The effect of X-ray irradiation on the spermatocyte of the grasshopper. *Ibid.*, **26**, 89-96.
- , 1964 The effect of ceutrifugal force on the spermatocyte of grasshopper with special refference to the structure of the spindle and the formation of the furrow. *Ibid.*, **30**, 171-178.
- , 1964 The effect of high temperature on the cell division of grasshopper spermatecyte. *Ibid.*, **30**, 179-186.