

魚の組織培養系の確立と染色体

小島吉雄, 林 真, 上田高嘉 (関学大・理・生物)

Establishment of fish cell lines and chromosomes

YOSHIO OJIMA, MAKOTO HAYASHI, TAKAYOSHI UEDA

最近の哺乳動物を中心とする組織培養の技術は、めざましい発展をしつつある。その刺激をうけて、下等脊椎動物、特に魚類の組織培養技術もかなりの進歩はしたが、組織培養系を確立するまでには到らなかった。しかし、約2年間の経験を積み、このほどようやく培養系を確立することができたので報告する。材料は淡水魚の内、ギンブナ (*Carassius auratus langsdorfii*), ゲンゴロウブナ (*Carassius auratus cuvieri*), コイ (*Cyprinus carpio*), タイリクバラタナゴ (*Rhodeus ocellatus ocellatus*), シマドジョウ (*Cobitis biwae*), カダヤシ (*Gambusia affinis affinis*), およびコイとゲンゴロウブナとの雑種を用い、それらのウロコ、ヒレの表皮細胞および発眼胚の組織を初代培養の材料とした。培養は長いもので1年以上の継代を続けており(ギンブナ、タイリクバラタナゴ、シマドジョウ等)その他は約3ヶ月継代を続けている。培養液としては NaCl 7.5g, KCl 0.2g, NaHCO₃ 0.2g, CaCl₂ 0.2g, Glucose 1.0g, Eagle MEM のアミノ酸・ビタミンのみを4倍量, HEPES 3.57g (閉鎖系培養時のみ), Kanamycin 60mg/l, Phenol Red 6mg, G.D. Water up to 1 l. Fetal Calf Serum 15%になるよう用いた。1年以上経過した培養系の染色体は、本来3倍性のギンブナにおいてほとんど変化なく、また約3ヶ月経過の2倍性のものでは、3倍性および4倍性附近への染色体増加がみられた。これらの培養細胞を用いることにより、魚類の染色体研究にもC-, G-バンドをはじめとする分染技術を応用することも可能となった。

風圧空気乾燥標本による染色体間連結系の観察

高山 奨, 北尾泰一 (関西学院大・理・生物)

Interchromosomal connectives in blowing air dry preparations

SUSUMU TAKAYAMA, HIROKAZU KITAO

チャイニーズハムスターの株細胞、およびマウスの肺、腎臓の初代培養細胞を、コルヒチン、低張処理(主として、0.075M KCl 5~120分)、メタノール酢酸(3:1)固定ののち、スライドガラス上に滴下の際にブローワーで強く空気を吹きつけることにより、個々の染色体を様々な程度に引伸ばし、それらの配列を敢えて乱すことができる。こうして得られた中期および前中期の染色体間には明らかな連結系が観察される。この連結系は本来かなり細いもののようであるが、細胞質の残渣が付着したと思われる結果、しばしば甚だ顕著に認められることがある。また低張処理と風圧により正常の凝縮状態からほぐれて観察が容易になることもある。染色体間連結系は通常の空気乾燥標本においては、バックとして固定染色される細胞質物質とまぎらわしく観察が困難なことが多いが、風圧で細胞質のバックから染色体を分離することにより、非常に細い連結系でも存在を確認することが可能である。特に前中期の細長い染色体が風圧によって、不規則に屈折した形状は、明らかに連結系による結合で左右されていることが認められる。低張処理を全く施さない場合にも連結系は観察されるので、低張処理によって新たに生じたものではなく、本来染色体間に実在しているものと思われる。またトリプシン(0.01%, 30°C, 20分), RNase(0.1%, 37°C, 120分), DNase(0.004%, 30°C, 3時間)処理により影響を受けるので、この構造はタンパク質, RNA, DNAを含むものであると推定される。