

単離分裂装置の染色体運動系

酒井彦一, 木村一郎 (東大理・生物化学), 濱口みやこ, 平本幸男 (東大工・理・生物)

Chromosome motion in isolated mitotic apparatus
HIKOICHI SAKAI, ICHIRO KIMURA, MIYAKO
HAMAGUCHI, YUKIO HIRAMOTO

ウニ卵の第一分裂後期の始め頃に分裂装置を単離し, *in vitro* での娘染色体の極方向への運動を調べた。分裂装置の単離溶液は, 1 M グリセロール, 5 mM MES, 1 mM EGTA, 1.1 mM $MgSO_4$, 1 mM ATP, 0.2 mM GTP, 5 mM アスコルビン酸, 2.5 mM グルタチオン, 3 μ M cAMP に, 最終濃度 0.5 mg/ml のブタ脳チューブリンを添加し, pH を 6.7 として使用した。この溶液中では単離した分裂装置の染色体運動はおこらない。チューブリン濃度を 1 mg/ml に増すと, 星状体の囲りに脳微小管よりなる透明なゲル層ができる。これは, 温度を下げたり, クロロマーキュリフェニルスルホン酸を微量加えると消失する。

単離した分裂装置に KF を最終濃度 0.3 M 添加すると, 後期の娘染色体は極方向に 0.5 μ m/min の初速度で移動を開始し, 数分以後には速度が低下するのが観察される。すなわち, 運動の 2 相性がみられる。この場合, 紡錘体の長さは変化せず, 染色体-極間が短縮する。しかし, 極までは移動せず, 紡錘体中央と極の間の中間附近で停止する。*in vitro* の後期染色体運動 (anaphase A) を微分干渉顕微鏡を用いた 16 mm フィルムで解析すると, 同じく 2 相性を示すので, グリセロール法で単離した分裂装置は後期染色体の運動性構造をよく保持えていると思われる。この *in vitro* の染色体運動は, 外からチューブリンを添加しないとおこらない。また, ATP-Mg に特異的である。コルヒチンや Ca^{2+} は, 夫々 5, 10 μ M で運動を阻害する。分裂装置内には vanadate (ダイニンの選択的阻害剤) で阻害をうける ATPase が含まれており, 染色体運動には微小管とダイニン様 ATPase が密接なかかわり合いをもつものと思われる。

ウニの無核卵片における周期的変化

池田満里子 (慶応大・生物), 中島陽子 (千葉県ガンセンター)

Cytoplasmic cyclic changes in cell division of sea urchin eggs
MARIKO IKEDA, YOKO NAKAJIMA

細胞には細胞質由来の変化と核由来の変化が各々存在し, 両者が coupling することで細胞分裂がおこると考えている。細胞質のみの変化をみだす目的で, 主としてバフンウニで無核卵片をつくり, これを実験材料とした。受精したウニ卵の細胞分裂では形態的・生化学的・生理学的方法により細胞周期にともなう諸変化がとらえられている。そのなかから透明層の厚さ・0.6 M KCl 溶性蛋白の SH 基量・膜張力について検討した。また無核卵片を電顕観察した。結果 1) 未受精卵を蔗糖または Ficoll の濃度勾配 (0.65 M ~ 0.45 M) 中で遠心 (5,600 g \times 25 分ついで 11,000 g \times 2 分) すると, 核を含む軽い部分と核のない重い部分とに二分される。無核片は電顕的に主として mitochondria と yolk を含む表層粒が表層にならぶ。酪酸海水で付活すると, 受精膜透明層があらわれ, 卵表層に pigment vacuoles が並び受精卵のそれと変わりなかった。2) Dan and Ono のいう透明層肥厚は Kojima (1960) が報告している如く無核卵片で顕著に周期的にみられる。その際卵の rounding-up が必ずある。3) 0.6 M KCl 溶性蛋白中の SH 基量は常に 2) の透明層の厚くなる時期に最高値を示し周期的に変動する。4) 膜張力 (1975 年大会で報告) は分裂前に最高値を示す受精卵と同様の変化を周期的にくり返す。以上述べた透明層・SH 量・膜張力の変化は約 40~45 分の間隔をおいておこるが, これ受精卵の分裂時間に相当する。以上の結果から細胞質には核に関係なく, 細胞分裂にともなう変化が存在する, またこの変化は核に無関係に始動されるといえる。