

大森長朗*・宮崎志津子*: ウミトラノオの胚発生機構の解析 II 幼胚の分裂と仮根細胞の形成について

Takeo OHMORI* and Shizuko MIYAZAKI*: An analysis of
embryogeny in *Sargassum thunbergii* II

On the segmentation of embryo and the formation of rhizoid cell.

ウミトラノオの胚発生については、田原¹⁾がすでに報告している。ホンダワラ属の胚発生に伴う転写や翻訳の機構を明らかにした研究は少なく、中沢²⁻⁴⁾が若干の報告をしているに過ぎない。著者の一人、大森は前報において、ウミトラノオの受精卵における不用の7核退化の現象には、RNA・蛋白合成が関係していることを報告した。本研究ではこの引き続きとして、核退化以後の胚発生の展開とRNA・蛋白合成との関連を明らかにする目的で、阻害剤を用いた実験を行ったので、その結果を報告する。

材料および方法

本研究には、1974年6月22日に岡山県玉野市渋川において採集されたウミトラノオ (*Sargassum thunbergii*) を用いた。採集後、雌雄の株を選別し大型容器中で飼育した。6月24日には卵が放出されたので人工受精を行った。受精卵の培養には直径60mmの小型シャーレを用い、一つのシャーレには受精卵の附着している生殖器托を3~4個入れておいた。培養液は濾過海水、actinomycin D 海水溶液 (7.9×10^{-5} mole)** および puromycin 海水溶液 (2.1×10^{-4} mole)*** の三種を用い、各溶液は小型シャーレに7ml ずつ入れられた。培養は室温 (23.3°C) で行った。

実験結果

1. 濾過海水中における幼胚の発生

ウミトラノオの成熟未受精卵には、8箇の核が存在する。受精後10~16時間で、受精に関与しなかった7核は退化消滅し、第一分割壁が形成されて卵は上下の2細胞に分けられる。受精後20~21時間経過した頃に、下部の細胞から仮根細胞が切り出される。さらに、ほとんど同時に上部細胞は、第一分割壁に対し垂直に走る膜により仕切られて2

* 山陽学園短期大学 (703 岡山市平井 2180)

Sanyo-Gakuen Junior College, Hirai, Okayama, 703 Japan.

** 7.9×10^{-5} mole = 100 μ g/ml.

*** 2.1×10^{-4} mole = 100 μ g/ml.

Bull. Jap. Soc. Phycol., 24: 20-24, March 1976.

等分される。受精後77時間を経過する頃には、幼胚の体部は細分されると共に、仮根細胞からは8本の仮根が伸び出すようになる。受精40時間後における観察では、84.4%のものが発生を示した。残りの15.6%のものは未受精卵と考えられる。






2. 幼胚の各発生段階における actinomycin D および puromycin の影響

濾過海水で培養したウミトラノオの幼胚を受精後3, 6, 9, 12, 15および18の各時間に取り出して、actinomycin D 海水溶液または puromycin 海水溶液に移して培養を続けた。受精40時間後に観察を行い、その結果を Table 1, 2 に示した。

i) Actinomycin D 溶液による処理

受精後3~12時間、濾過海水中で培養したのちに actinomycin D 溶液に移した場合には、幼胚は第一分割壁の形成に続いて仮根細胞を切り出すが、それ以後の発生は示さなかった。このことから、第一分割壁の形成と仮根細胞の切り出しのために必要なRNAの合成は、受精後3時間以内にほぼ完了していると考えられる。

Table 1. Effect of actinomycin D on the development of embryos in *Sargassum thunbergii*.

						Total
Sea Water (SW)	number 2	number 1	number 1	number 103	number 4	111
	% 1.8	% 0.9	% 0.9	% 92.8	% 3.6	100.0
3hr SW → Act.D	number 16	number 39	number 0	number 0	number 20	75
	% 21.3	% 52.0	% 0.0	% 0.0	% 26.7	100.0
6hr SW → Act.D	number 12	number 51	number 0	number 0	number 23	86
	% 14.0	% 59.3	% 0.0	% 0.0	% 26.7	100.0
9hr SW → Act.D	number 12	number 37	number 0	number 0	number 24	73
	% 16.4	% 50.7	% 0.0	% 0.0	% 32.9	100.0
12hr SW → Act.D	number 8	number 35	number 0	number 0	number 30	73
	% 11.0	% 47.9	% 0.0	% 0.0	% 41.1	100.0
15hr SW → Act.D	number 11	number 30	number 3	number 0	number 33	77
	% 14.3	% 39.0	% 3.9	% 0.0	% 42.9	100.0
18hr SW → Act.D	number 8	number 10	number 55	number 0	number 12	85
	% 9.4	% 11.8	% 64.7	% 0.0	% 14.1	100.0

* Abnormal embryos






受精後15~18時間、海水で培養した後 actinomycin D 処理を行ったものでは、仮根細胞切り出しの段階より一つ発生が進んで、幼胚の体部が細分されるようになる。しかも、これ以上の発生の進行は見られなかった。15時間海水で培養した後に処理液に移したものでは、幼胚の体部が細分されたものは3.9%であったが、18時間海水で培養したものでは、64.7%と著しく増加した。このことから、幼胚体部を細分するために必要なRNAは、受精後15時間頃から18時間にかけて合成されていると思われる。

一方、受精直後から一定時間(3~18時間) actinomycin D 溶液中で培養した後、濾過海水に戻した場合には、第一分割壁の入ったものは全く見られなかった。

ii) Puromycin 溶液による処理

受精後3~6時間、濾過海水で培養したのち、puromycin 溶液に移して培養を続けた場合には、受精卵は全く発生しなかった。しかし受精後9時間、濾過海水で培養したものでは、18.4%のもので第一分割壁の形成が見られ、残りのものは未発生のままであった。受精12時間後に puromycin 処理を行った場合には、その割合が32.8%にまで増加

Table 2. Effect of puromycin on the development of embryos
in *Sargassum thunbergii*.

						* total
Sea Water (SW)	number 2	1	1	103	4	111
	% 1.8	0.9	0.9	92.8	3.6	100.0
3hr SW → Pur.	number 0	0	0	0	0	0
	% 0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6hr SW → Pur.	number 0	0	0	0	0	0
	% 0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
9hr SW → Pur.	number 25	0	0	0	2	27
	% 92.6	0.0	0.0	0.0	7.4	100.0
12hr SW → Pur.	number 31	21	0	0	4	56
	% 55.4	37.5	0.0	0.0	7.1	100.0
15hr SW → Pur.	number 29	41	0	0	8	78
	% 37.2	52.6	0.0	0.0	10.3	100.0
18hr SW → Pur.	number 19	39	2	0	11	71
	% 26.8	54.9	2.8	0.0	15.5	100.0

* Abnormal embryos

し、15時間後に処理した場合には、61.8%にまで増加した。これらの幼胚はこれ以上の発生を示さず、仮根細胞の分割に至ったものはなかった。第一分割壁を形成するために必要な蛋白質は、受精後6時間を過ぎた頃から合成されていると考えられる。また12時間濾過海水で培養したものでは、仮根細胞を切り出した幼胚は、発生卵の37.5%であった。受精後、濾過海水で15~18時間培養した後、puromycin 処理を行った場合には、それぞれ52.6%および54.9%であった。これらの幼胚はこれ以上の発生を示さなかった。18時間海水で培養したものでは、幼胚の体部が細分された個体が2.8%ではあるが観察された。これらのことから、仮根細胞切り出しのための蛋白質は受精後9時間を経過した後には合成され始め、受精後15時間までにはほぼ完了していることがわかる。幼胚体部を細分するための蛋白質合成は、受精後18時間頃から開始されていることが考えられる。

考 察

本実験により、ウミトラノオの受精卵においては第一分割壁の形成および仮根細胞の切り出しには、それに関与するRNAの合成が必要であり、それらのRNAは受精後3時間までに合成をほぼ完了するという結果が得られた。大森は、ウミトラノオの受精卵における不用の7核退化と第一分割壁形成のために必要なRNAは、受精前から受精後2時間までに合成されることを報告している。仮根細胞が切り出された後に、幼胚の体部が細分されていくが、これにもRNAの合成が関与しており、このRNAは仮根細胞を切り出すためのRNA合成よりもずっと遅れて、受精後15時間頃から18時間にかけて合成されていることが確認された。

さらに第一分割壁の形成、仮根細胞の切り出しおよび幼胚の体部の細分の各過程にも、それぞれの蛋白質の合成が必要であることが明らかになった。第一分割壁形成のために必要な蛋白質は、受精後6時間を経過した後には合成されていることが確認された。大森⁵⁾は受精直後から2または5時間 puromycin 溶液に卵を浸した後、濾過海水に移し変えて培養を行った結果、受精卵における核退化と第一分割壁形成に関する蛋白質の合成は、受精後2時間頃からすでに開始されていると報告している。これらの実験結果を合わせ考えると、ウミトラノオの受精卵の第一分割壁形成に必要な蛋白質は、受精後2時間から数時間にわたって合成されていると考えられる。

仮根細胞切り出しのための蛋白質の合成は、少し遅れて受精後9~15時間に行われ、幼胚の体部を細分するための蛋白質の合成は、さらに遅れて受精後18時間頃から始まることが確認された。

Summary

Fertilized eggs of *Sargassum thunbergii* were transferred from sea water to

the sea water solution containing 7.9×10^{-5} mole actinomycin D or sea water solution containing 2.1×10^{-4} mole puromycin at various developmental stages. From the observation at 40 hours after fertilization, the following phenomena were observed.

1. RNA syntheses required for the formation of the first segmentation wall and of the rhizoid cell are completed by 3 hours after fertilization.

2. RNA required for further divisions of the embryo is synthesized at 15 to 18 hours after fertilization.

3. Protein required for the formation of the first segmentation wall begins to be synthesized from 2 hours after fertilization.

4. Protein required for the formation of the rhizoid cell is synthesized at 9 to 15 hours after fertilization, and protein for further divisions of the embryo begins to be synthesized from 18 hours after fertilization.

引用文献

- 1) TAHARA, M. (1929) Rhizoid formation in the embryo of *Turbinaria*(?) *fusiformis* YENDO and *Sargassum thunbergii* O'KUNTZE. Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ., Biol., 4: 1-6.
- 2) NAKAZAWA, S. (1951) Invalid stratification to the egg polarity in *Coccophora* and *Sargassum*. Sci. Rep. Tohoku Univ., Biol., 19: 73-78.
- 3) NAKAZAWA, S. (1955) Staining embryos of *Sargassum confusum* AG., a brown alga. Bull. Mar. Biol. Stat. Asamushi Tohoku Univ., 7: 147-151.
- 4) NAKAZAWA, S. (1959) General mechanism of the polarity determination in some furoid eggs. Naturw. Berlin, 9: 333-334.
- 5) 大森長朗 (1975) ウミトラノオの胚発生機構の解析 I. 受精卵の核退化について. 藻類, 23: 93-98.