

総 説

カサノリの巨大核*

石川 依久子

大阪大学教養部生物学教室 (560 豊中市待兼山 1-1)

SHIHIRA-ISHIKAWA, I. 1982. Gigantic primary nucleus in *Acetabularia*. Jap. J. Phycol. 30: 241-255.

The research on gigantic primary nucleus in *Acetabularia* has advanced since last 50 years both physiologically and cytologically. The physiological studies originated from Hämmerling's concept of 'morphogenetic substance(s)' stated that this substance(s) is released from primary nucleus and is capable to express genetic information. The aim of physiological studies is to prove biochemically what morphogenetic substance is and to know the mechanism of gene expression in *Acetabularia*. The cytological works started due to the interest in ploidy and division of primary nucleus.

Recently, owing to the advancement of electron microscopy, these two branches of studies were joined. The production of rRNA in nucleolus was shown visually. Moreover, the release of rRNA from nucleus was mostly elucidated as a result of full observation of perinuclear zone.

However, the gigantic primary nucleus still poses various unsolved problems. The location of messenger RNA in the primary nucleus is still not fully known, though lampbrush chromosomes were found there. Meiosis has neither been confirmed under microscope, although its occurrence in primary nucleus has been proved by determining DNA content.

The young gigantic primary nucleus in a young stalk, measuring 8-10 mm in length, might release all information necessary for cap morphogenesis, as well as rRNA. After some pause, probably the division of primary nucleus would take place following the completion of cap. Besides that there is another possibility that the primary nucleus might release some small nuclei soon after the release of information. The above hypothesis will be presented through the author's observations.

Ikuko Shihira-Ishikawa, Department of Biology, College of General Education, Osaka University, Toyonaka-shi, Osaka, 560 Japan.

I. 巨大核研究の足跡

1877年に初めて de BARY and STRASBURGER によって, *Acetabularia mediterranea* が記載され, 1895年には SOLMS-LAUBACH によるカサノリのモノグラフがリンネ学会から出された (Figs. 1)。SOLMS-LAUBACH は核を観察したが, それは cyst 形成に際して現われる white spot としてであり, 子嚢 (傘のひだ) 内に散在する多核ステージの核であった。

その後30年を経てドイツの植物学者 HÄMMERLING

が *A. mediterranea* を培養し, 詳細にその形態学的・生理学的挙動を観察した。そして1931年カサノリが巨大な卵形の核 (Fig. 2) を1つ, その単細胞藻体の基部に持つことを発表し, 同時に藻体と核との特異な係わり合について多くの観察結果を報告した (HÄMMERLING 1931, 1953, 1963a, b)。この様にカサノリの巨大核の研究は HÄMMERLING によってその第一歩が踏み出された。

* 文部省科学研究費補助金 No. 564226 による。

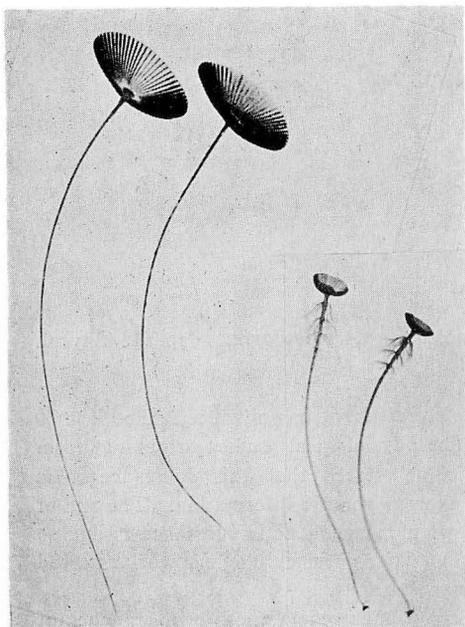


Fig. 1. *Acetabularia rynkyuensis* (left) and *A. calyculus* (right). $\times 1$.

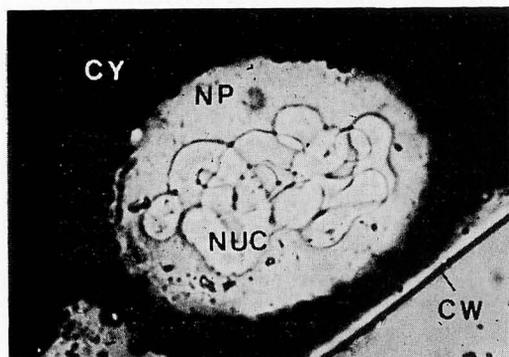


Fig. 2. Gigantic primary nucleus of *A. calyculus*. NP: nucleoplasm, NUC: nucleolus, CY: cytoplasm, CW: cell wall. $\times 450$.

A. カサノリの形態形成物質 (Morphogenetic substance, M.S.)

1. その発見

HÄMMERLING はまず傘形成以前の茎部を切断し、核を含む仮根部を取除いた。無核藻体片は直ちに切断面に細胞膜を再生しその後週間も生き続けたが、やがてその先端に正常な傘を形成した (Fig. 3a)。しかもその傘は種特異性を維持しているので傘の形成及びその形は、遺伝子の存在しないはずの場において遺伝的支配を受けているとしか考えられなかった。

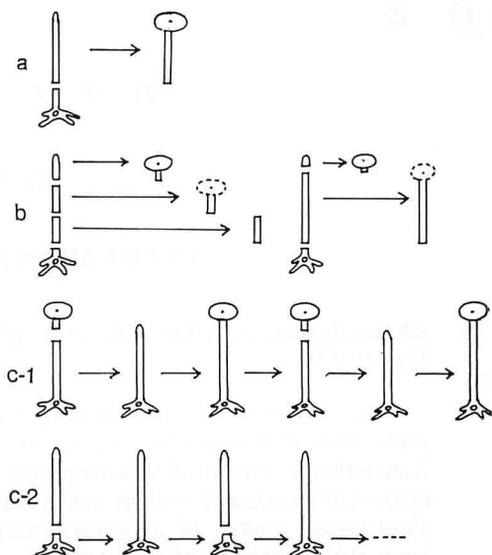


Fig. 3. Illustration of HÄMMERLING'S early works.

HÄMMERLING はこの核なしの再生現象を説明するために“morphogenetic substance (形態形成物質、以後 M.S. と略す)”を想定した。M.S. は核で合成され、細胞質に放出され、長時間細胞質中に維持される。HÄMMERLING は更に、カサノリ藻体の茎部を切断し、異った部分や異った長さの切片を培養して傘形成能を比較した結果、M.S. は生長点のある頂端に最も多く、仮根に向って漸次少くなることを見出した (apico-basal gradient) (Fig. 3b)。一方、傘を切除除去すると茎部は傘を再生するが、再生した傘をもう一度切断しても再び傘を形成すること (Fig. 3c-1)、また、核を含む仮根部は茎部を除去しても繰り返し茎部を再生すること (Fig. 3c-2) から、M.S. は必要に応じて核から随時放出されることを明らかにした (HÄMMERLING 1934, 1943)。

この物質の存在は有名な接ぎ木実験によって一層明らかとなった (Fig. 4) (HÄMMERLING 1940)。*A. mediterranea* と *A. crenulata* による有名な種間接ぎ木は1940年におこなわれた。カサノリの茎部を切断し、2本の茎部を海水中で速やかに繋ぎ合わせると細胞質が融合して一藻体として生き続ける様になる。従って異った2種以上のカサノリの仮根部を接続させると異種由来の2つ以上の核をもった細胞を人工的に作ることが出来る。*A. mediterranea* と *A. crenulata* は其々形態の異った傘を形成する。*A. mediterranea* は先端の丸い子嚢群が平板状に配列した皿型の傘であ

るが、*A. crenulata* は隣りあった子嚢が離ればなれになりやすく子嚢の先端は尖っている。1) この両者の仮根部を繋ぎ合わせると接続点から基部を再生し、その頂端に *A. mediterranea* と *A. crenulata* の中間型の傘を生じた。2) *A. crenulata* の仮根部2個と *A. mediterranea* の仮根部1個を繋ぎ合わせると *A. crenulata* に近い中間型の傘を生じた。3) *A. mediterranea* の仮根部と *A. crenulata* の基部(無核片)を繋ぎ合わせると中間型かやや *A. mediterranea* に近い傘を生じた。しかし、この傘を切断してもう一度傘をつくらせると明らかに *A. mediterranea* の傘であった。また、稀に何段も傘を作ることがあるが、終りに近づく程純粋な *A. mediterranea* の傘になることが見られた。接ぎ木実験から、傘の形態は核と核由来の M.S. の存在関係によることが明らかとなり、次のような考察がなされた (HÄMMERLING 1953)。a) 種特異性をもつ M.S. が核でつくられる； b) 2種由来の核同志の接ぎ木で中間型の傘をつくることは、両核由来の2種の M.S. が一定の割合を保っていることを意味する； c) 2種のカサノリを用いた三核接ぎ木で二核が存在する種に近い中間型傘を作ることは M.S. の割合が核の数に依存することを意味する； d) 単核接ぎ木では無核片に存在していた M.S. と新たに核から放出された異種の M.S. の量の競り合いとなって中間型を生じるが、やがて既存の M.S. の減少に伴って新たな核からの M.S. が優勢となり、無核片基部の先端に異種の傘を生じるようになる。

これらの結果から次のような仮説が引出された。

遺伝子の支配を受けてある化学物質が核で合成され細胞質に送り出される。細胞質中でこの化学物質は一定の形態を作り出す代謝系を導いていく。しかもその化学物質は同一種カサノリの異株はもとより他種カサノリの細胞質に送っても効果的にこれを利用することが出来る。今日、バクテリアで導かれたセントラルドグマが近代遺伝学説の基礎として理解されているが、HÄMMERLING はその1/4世紀も前に既にカサノリの接ぎ木実験を通じて核の遺伝情報が細胞質へ移行することを証明していた。

その後 HÄMMERLING は弟子らと共にオートラジオグラフによって M.S. を追求した (STICH *et al.* 1953)。培地から取込ませた ^{32}P は直ちにその著しい量が巨大核に入り、やがて活発に細胞質に放出されていくのを観察した。彼の弟子である SCHWEIGER らはシュミット・タンホイザー法により藻体片の RNA 量を測定した。RNA は基部先端に多かった。核がある

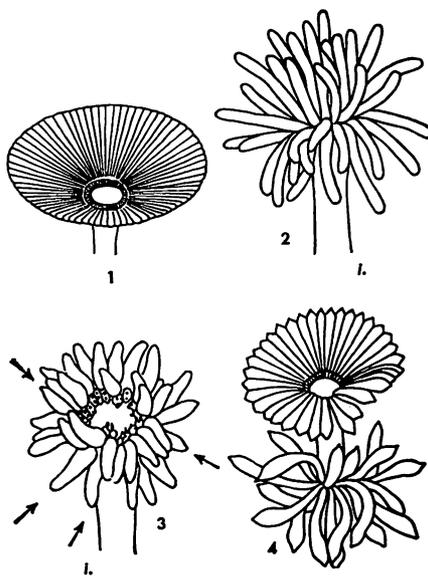


Fig. 4. Shape of caps as an indicator of nuclear information in HAMMERLING's interspecific graft experiments. 1. Normal cap of *A. mediterranea*; 2. Intermediate cap of *A. mediterranea* and *A. crenulata*. Thallus possesses two nuclei belonging to each species; 3. Intermediate cap form close to *A. crenulata*. Thallus contains two cren-nuclei and only one med-nuclei; 4. Two normal caps of *A. crenulata*. (HÄMMERLING 1953)

場合にはこの RNA は常に少しづつ増加していたが核を含む仮根部を切断除去するとその増加は直ちに停止した (Fig. 5)。一方、有核片を10日間暗所に置くと RNA 量は著しく低下したが、10日目にこの有核片を更に切断して核部を除去し、この無核片を光照射すると無核片先端に RNA が増加した (SCHWEIGER *et al.* 1961)。暗期には核から RNA 前駆体(?)が放出されて基部先端に集積するが、これが光照射をうけて cytoplasmic RNA になると HÄMMERLING は考えた (1963a)。この RNA の挙動は作業仮説として設けられた M.S. の挙動と一致するので M.S.=RNA という結論に到達した (Fig. 6)。

2. M.S. は mRNA か

HÄMMERLING の実験が蛋白質合成に結びつくに至ったのは、もう一人のバイオニア、ベルギーの発生学者 BRACHET の存在なくしてはあり得なかった。BRACHET は1940年頃動物細胞内における核酸と蛋白質合成の関連を示唆していた。彼は HÄMMERLING の接

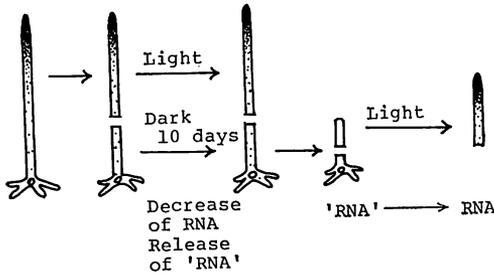


Fig. 5. Schweiger's early work shown in a diagram.

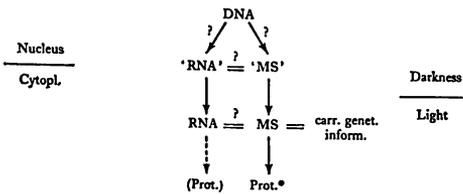


Fig. 6. Tentative sheme by HÄMMERLING of the possible relations between morphogenetic substances and RNA and their precursors. 'RNA': substances released from the nucleus and inducing cytoplasmic RNA synthesis. RNA: RNA synthesized in the cytoplasm, which is assumed to obtain genetic information via 'RNA'. 'MS': precursors of morphogenetic substances released from the nucleus. MS: active morphogenetic substances. The parallels between the left and the right side of the scheme depend on the results of independent studies.

ぎ木実験に強い関心を抱き、1955年に CHANTRENNE と共に M.S. の生化学的解析に全力を投じることになった。彼等は初め、無核片を培養して蛋白質合成能を測ったが、無核片内において合成される蛋白質は1ヶ月後には2倍にもなることを知って驚いた。しかも合成された蛋白質の中には、いくつかの酵素も含まれていた。一酵素一遺伝子由来であるという BEADLE の説に従えば明らかに奇妙なことである。一体、遺伝子の存在しない無核片の細胞質中で起るそのような蛋白質合成が何を意味するのか全くわからなかった (BRACHET 1970)。

「M.S. は安定な RNA かもしれない」と BRACHET が考え始したのは1957年頃からであった。赤血球の無核細胞との類似性に気づいたためである。この RNA は核で作られ、細胞質中に移行し、極めて安定な形で貯えられている。そして長い間、核の遺伝情報を維持し

た後、特異的な蛋白質合成を誘導する。この推測は、大腸菌によるメッセンジャー RNA 説が脚光を浴びた2~3年も前のことであった。BRACHET は mRNA という名前を付けてはなかったが考え方は全く同じであった。ただ一つ異なる点はカサノリの "mRNA" は著しく長寿命であった。今日真核細胞の mRNA は原核細胞の mRNA に比べて安定したものであることは分っているが、カサノリの遺伝情報は最も長い場合には3ヶ月も細胞質内に維持されているのである (SCHWEIGER *et al.* 1977)。BRACHET はその後、阻害剤を用いて M.S. が mRNA であることを間接的に証明することに努めたが、バクテリアや赤血球の mRNA とは比べようもないほど複雑であった。何故ならカサノリは多くの自律性の高い葉緑体をもっている。無核片内であっても葉緑体 DNA は複製され、RNA 及び葉緑体蛋白が合成されるからである (BRACHET 1967)。彼自身が述べている様に、その後十数年、M.S.=mRNA 説は単に傍証に支えられた仮説として生き続けた。

3. M.S. の生化学的証明

この様にしてカサノリの遺伝物質の生理学的研究は西ドイツの HÄMMERLING 系とベルギーの BRACHET 系の研究者が支流を荷って今日に至った。HÄMMERLING の直系の弟子である SCHWEIGER がその後 M.S. の研究を受け次ぎ1973~75年に、KLOPPSTECH とともにカサノリの藻体からリボソーム RNA とメッセンジャー RNA を取り出すことに成功した。確かにその mRNA は M.S. と一致した挙動を示した。然し、彼らの行なった証明も依然として間接的なものであり、mRNA と M.S. が同一物質であるという最終的結論が得られた訳ではない。

a. メッセンジャー RNA

KLOPPSTECH and SCHWEIGER は1975年に *A. mediterranea* から poly (A) RNA フラクションを単離することに成功した(1975a)。(多くの真核細胞の mRNA は 3' 末端に50~200個の poly (A) 構造が存在する)。巨大核存在下で RNA 前駆物質は poly (A) RNA にとり込まれるが核を除去すると取込まれなくなることから poly (A) RNA は核中で合成されることが証明された (Fig. 7)。分子量は $0.5\sim 3\times 10^6$ ダルトンと推定され、平均70のヌクレオチド鎖である。核内で合成された poly (A) RNA はただちに細胞質に移動した。最終的には poly (A) RNA は細胞全体に広がり HÄMMERLING が M.S. で推定した様な頂端

から下部へ向けての濃度勾配が見られた (SCHWEIGER 1977)。

その後この poly (A) RNA による蛋白合成の誘導が cell free 系で実証され、mRNA であることはほぼ確かであるとされた。KLOPPSTECH (1976) らは発芽小麦から得られた cell free 系を用い、これにカサノリからとった poly (A) RNA を加えて90分インキュベートし、 ^{35}S -メチオニンのポリペプチドへの取込みを測定した (Table 1)。対照としてタバコモザイクウイルス RNA またはウサギからとったグロビン mRNA を加えて、其々の場合におけるポリペプチドへの ^{35}S の取込みを比較した。カサノリの poly (A) RNA は明らかに取込みを促進させたが、効率はグロブリン mRNA の1/2程であった。発芽小麦の系では既にいろいろな mRNA の蛋白合成の実験が行なわれているが、大きい mRNA は蛋白合成の効率がわるい。カサノリにおける効率のわるさも分子量を反映しているものと考えられた。

その後、細胞数を殖やして poly (A) RNA 量を増していくと ^{35}S -メチオニンのポリペプチドへの取込みは細胞数に対応してふえ蛋白合成の誘導を裏付けた (Fig. 8)。しかし、これらの実験はメンブランフィルター上での poly (A) RNA の能力で測られたもので

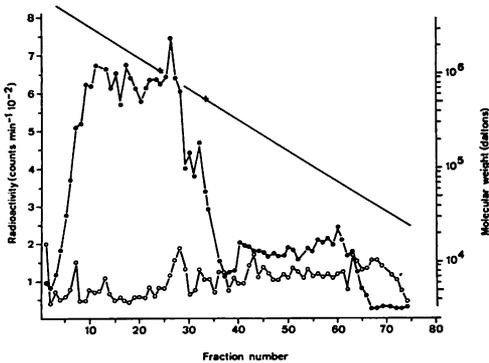


Fig. 7. Synthesis of polyadenylated RNA in nucleate and anucleate cells. Two hundred cells were ligated and enucleated 78h prior to incubation with ^3H -uridine. Two hundred nucleate cells of the same culture were used as control. The RNA was extracted and purified by adsorption to oligo (dT) cellulose. After polyacrylamide gel electrophoresis, 1.16 mm slice of gel have been estimated for radioactivity. Cross-bar indicates the positions of *E. coli* 23S and 16S RNA. —○— nucleate cells, —●— anucleate cells. (KLOPPSTECH and SCHWEIGER 1975)

Table 1. Incorporation of ^{35}S -methionine into polypeptides. The indicated amounts of RNA were added to the cell-free system. The reaction was stopped after 90 min of incubation. The counts represent the TCA insoluble fraction of 40 μl reaction mixture. In the experiments 2 through 4 the incorporation values have been corrected for incorporation which takes place in the absence of added RNA. (KLOPPSTECH *et al.* 1976)

species	RNA added μg per 40 μl	incorporation of ^{35}S -methionine (counts \times min $^{-1}$ \times 10 $^{-4}$)
1 no	—	3.2
TMV RNA	3.6	329
2 TMV RNA	3.6	189
globin mRNA	1.0	117
3 TMV RNA	3.6	277
poly (A) RNA from <i>Acetabularia</i>	*	62
4 TMV RNA	3.6	190
mengo virus RNA	2.0	0.8
mengo virus RNA	10.0	0.1

*equivalent to 400 cells

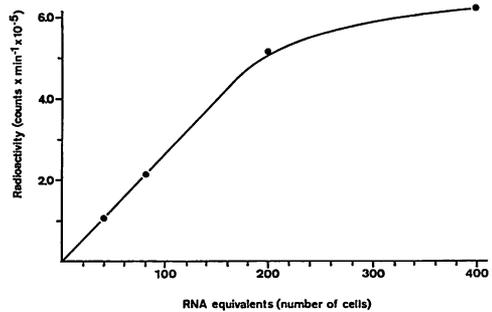


Fig. 8. Poly (A) RNA depending incorporation of ^{35}S -methionine into polypeptides. Poly (A) RNA from *Acetabularia* equivalent to the number of cells was added to the assay. After an incubation of 90 min the radioactivity was determined in the TCA insoluble fraction. (KLOPPSTECH and SCHWEIGER 1976)

あり *in vivo* で同様のことが起っているという実証はない。

b. リボソーム RNA

カサノリの細胞質中に存在する 80S リボソームは mRNA と同様、KLOPPSTECH と SCHWEIGER (1973) によって示された。明らかに巨大核存在下でのみ ^3H -

uridine は 80S リボソームの RNA に取込まれることから、巨大核の中で合成され、細胞質に移動したものであることが推定された。細胞質中での 80S リボソームの存在は一様な分布を示し、とりわけ頂端部に多いということはなかった (KLOPPSTECH *et al.* 1975b)。 ^3H -uridine で 22 時間ラベルしたのち藻体を培養し、3 日後と 24 日後に藻体を上部と下部に分け其々の 80S リボソーム中の放射能活性を測定すると Fig. 9 のような分布を示し、リボソームが 1 日に 2~4 mm づつ核から頂端に向かって移動することが観測された。又、rRNA は約 80 日間の極端に遅い半減期で代謝回転することが分った。更に KLOPPSTECH らの計算によると巨大核当り毎秒 4×10^7 ヌクレオチドが rRNA に重合されていることになる。情報解説に当るポリメラーゼの数は電顕観察によりシストロン当り約 100 個と観察されている (HAMKOLO and MILLER 1973) ので、これに基づいて計算すると 1 個のポリメラーゼは毎秒 10^5 ヌクレオチドを重合することになる。この値はバクテリアに比べると 10^{4-5} 倍も高い。巨大核は後に述べる様に電顕観察によると大量に増幅されたリボソーム DNA をもっているため rRNA シストロンの数は非常に多い。上記の計算から、少なくとも 10^4 以上の rDNA (=rRNA シストロン) を保持しており、1 個の核内で同時に解読が行なわれていると解釈される (SHWEIGER 1977)。

80S リボソーム生産の速度は藻体の状態によって変わる。例えば、基部を切断除去して有核の仮根に基部の再形成を起させる場合、rRNA の合成速度は一時的に増加する。Fig. 10 に示される様に、切断後 3 日目に ^3H -uridine のリボソームへの取込みは最高になる。この時の合成速度は切断前の 20 倍にも達する。一方、葉緑体 rRNA の合成速度もまた変化するが細胞質 rRNA より遅れて、6 日目にピークに達する。このような合成速度の促進はシストロン当りのポリメラーゼの数の増加によるものだろうか、又はポリメラーゼの合成速度が増加した結果であろうか。電顕観察によると 1 シストロン上のポリメラーゼ分子は互いに極めて接近しており、それ以上数が増加することは考え難い。一方、合成速度の増加を否定することはできないが、それまで合成速度を制限していた物質の急激な増加あるいは律速していたステップの活性化が見出されない限り全く根拠はない。可能性のある一つの考え方は余剰の rRNA シストロンを初めから持っていたということであり、眠っていた rRNA シストロンが解読され始めたということである。電顕観察によると明ら

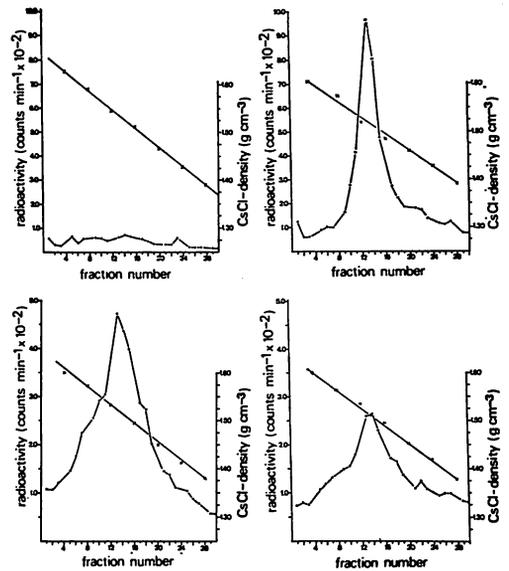


Fig. 9. Intracellular transportation of 80S ribosomes in *A. major*. Cells were labelled for 22 hours with ^3H -uridine and incubated for 3 days (left side) and 24 days (right side) respectively in "cold" medium. Cells were homogenized and subjected to sucrose density gradient centrifugation, the 80S peak was isolated and after fixation recentrifuged in CsCl gradient. Upper curves: Apical fragment, lower curves: basal fragments. (KLOPPSTECH and SCHWEIGER 1975)

かに解読されていないシストロン (spacer) が多数みられる (後述) (BERGER *et al.* 1975a, b)。然し実際には、20倍にも達する rRNA を生産するだけの眠った rRNA シストロンが存在するかというと、計算上絶対に不足であると言わざるを得ない (SCHWEIGER 1977)。もう一つの可能性として、rDNA の増幅がある。SCHWEIGER は計算上からこの可能性が最も強いと述べている。即ち藻体の再生にあたって急速に rDNA を増幅し、rRNA シストロンを殖やしてリボソーム生産を促進させるという説である。

カサノリの rRNA と mRNA の存在は証明されたが、rRNA 上で poly (A) RNA が蛋白合成を誘導するという *in vivo* の証明はない。蛋白合成の活性が藻体の頂端で高く下端で低いという報告はいくつかある (D'EMILIO *et al.* 1977)。最近、D'EMILIO らは藻体上部での蛋白合成の一部は細胞質中で *de novo* 合成される mRNA によることを見出し、単離葉緑体

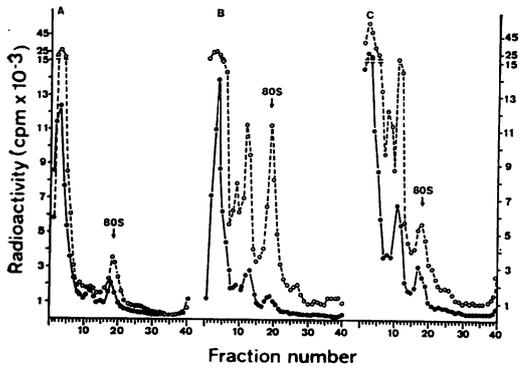


Fig. 10. Incorporation of ^3H -uridine into ribosomes during regeneration of *A. mediterranea* cells. Cells were labelled for 24 hours with ^3H -uridine 0 (left), 3 (middle) and 6 (right) days after cell surgery in "cold" medium. The position of the 80S ribosomes is marked. The two subunits of the 70S organelle ribosomes show maximum activity on day 6. (KLOPPSTECH and SCHWEIGER 1973)

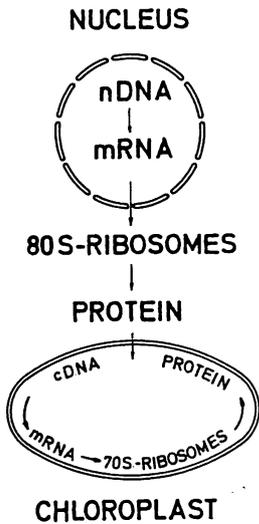


Fig. 11. Schema illustrating the intergenomic co-operation in the synthesis of chloroplast proteins. (D'EMILIO *et al.* 1979)

の蛋白合成能が頂端で高く下部で低いことを報告している。(Fig. 11 参照)

B. 巨大核の核相と倍数性

HÄMMERLING や BRACHET と並ぶもう一人の古典的カサノリ研究者は SCHULZE である。SCHULZE は1939年 *A. mediterranea* と *A. wettsteinii* の細

胞学的研究を行い、その生活環と核相の詳細な観察を発表した。HÄMMERLING をはじめとして初期のカサノリ研究者達は長い間この SCHULZE による細胞学的観察の上に立って研究を進めて来た。

1. 生活環

接合子に1個存在していた一次核は藻体の成長に伴って増大し、仮根内で巨大核となる。傘が完成して数週間たつと巨大核は崩壊して二次核を形成する。小さな二次核は有糸分裂しながら原形質流動によって茎部を上昇して傘(子嚢)に入る。

子嚢の細胞質中に、二次核は分散して配置され white spot として認められる様になるが、やがて細胞質が各々の核を包み込んで cyst を形成する。cyst の中では配偶子形成までに10回余りの核分裂が繰り返されるが *A. mediterranea* では数回の分裂を経たのち20~30核となって休眠期に入る (PUISEUX-DAO 1966)。cyst から放出された無数の同型配偶子は接合して $2n$ 体となり直ちに発芽を開始する。

2. 減数分裂はいつ起るか

SCHULZE (1939) は *A. mediterranea* の cyst 中で減数分裂が起っているらしい図を示しており、減数分裂は配偶子形成の最後の核分裂で起るとし、核分裂後期には10個の対をなした染色体が存在し、 $2n=20$ であると報告した (Fig. 13)。cyst 内の染色体像は核サイクルの全過程を通じて最もはっきりしているの

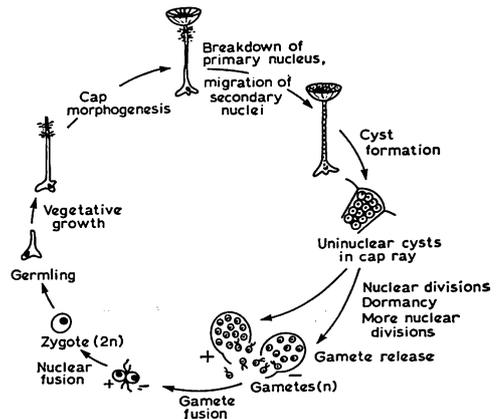


Fig. 12. Life-cycle of *A. mediterranea*. Not drawn to scale. Gametes are about $10\ \mu\text{m}$ diameter; mature cell is $25\text{--}30\ \text{mm}$ long with cap of diameter $6\text{--}10\ \text{mm}$; cysts are $100\text{--}200\ \mu\text{m}$ diameter. (GREEN 1976)

SCHULZE の後も多くの研究者がこの時期の染色体数に挑戦している。PUISEUX-DAO (1966) は $2n=8\sim 10$ と結論し、WOODCOCK (1973) らは最も少ない場合で 10, 多い場合で 20 と述べている。藪らは前中期で 20 と教えている (YABU *et al.* 1981)。

いづれにしてもカサノリの生活環は配偶子である短期間を除いて複相であると SCHULZE は結論した。従って巨大核は $2n$ であり mitosis によって $2n$ の二次核を放出することになる。その後, cyst 内で起る減数分裂を肯定する報告も 2, 3 出されているが (PUISEUX-DAO, 1970, WOODCOCK *et al.* 1973), 1973 年の GREEN の反論以来 SCHULZE の説は修正されて現在に至っている。

GREEN (1973) は同一 cyst 内に生じる配偶子の mating type に着目し, 各々の cyst を単離してそれから生じる配偶子の接合能力を調べた。もし, それまでの説の様に減数分裂が cyst の中で起るとすれば, 同一 cyst 内で配偶子は 2 つの mating type をもちうるので cyst 内の配偶子同志の接合によって複相の藻体をつくる事が出来る筈である。然し実験の結果, 一個の cyst からは発芽体は得られなかった。即ち cyst 内の配偶子は同一 mating type であることが証明され, cyst 内での減数分裂は否定された。cyst 形成開始に当って, 二次核が細胞壁に包まれる前に既に単相になっていなければならない (GREEN 1973)。Koop (1975) は Feulgen 染色した核の DNA 量を微分光測定法で測り, cyst 内の一核は配偶子の核と

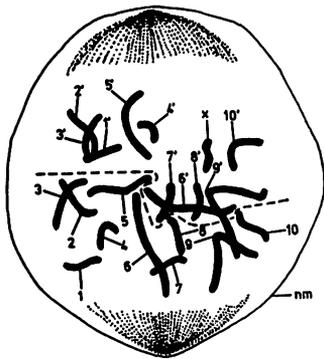


Fig. 13. The first nuclear division in cyst of *A. mediterranea*. Chromosomes in the two putative anaphase groups are numbered 1 to 10, and 1' to 10', respectively. The border between the two possible anaphase groups is indicated by the broken line. nm: nuclear membrane. (after SCHULZE 1939) (Koop 1979).

同じ DNA 量をもち, 接合子は配偶子の 2 倍量の DNA をもつことを報告した。また Koop は巨大核から分離して間もない, 仮根内の二次核は 80% が単相であると述べた。(筆者も基生研黒岩, 西林両氏の協力を得て UV 測光により基部内の二次核と配偶子の核がほぼ同量の DNA をもつことを確認した)。

減数分裂が起りうる可能性は cyst から巨大核に移ることになった。然しながら, *A. mediterranea* の巨大核での核分裂像は電頭はもとより光頭ですらその長い研究史の中で殆ど明らかにされていない。

SCHULZE は 1939 年の論文の中で巨大核から二次核が放出される図を示しているが, これは人工像としか考えられない。巨大核は観察途上で屢々つぶされ, 破れ目から核質と球形になった核小体が押出されることがある。SCHULZE の図は恐らくその様なものである。それ以来, 巨大核からの二次核放出は全くとらえられていなかった。最近 Koop はカサノリの発達過程を映画で追い 1978 年に巨大核の分裂像を発表した。Koop (1979) によると巨大核全面に及ぶ紡錘糸をもった巨大な核分裂像が示された (Fig. 15)。然しこれは *A. cliftoni* におけるものであって, 同時に行なわれた *A. mediterranea* の観察ではこれ程明瞭な像は示されていない。一体, この分裂像がどの位の頻度で現れたかは一切述べられていない。この様な巨大な分裂像がカサノリ属共通の現象として正常に見られるとすれば, 今まで数多い研究者達が見逃していたのだろうか。接合子の発芽後まもない一次核は明らかにホイルゲン染色される網目状のクロマチンをもっているが, 藻体の成長と共に一次核は 2500 倍にも巨大化する



Fig. 14. Division of the primary nucleus in *A. mediterranea*. (after SCHULZE 1939) (PUISEUX-DAO 1969).

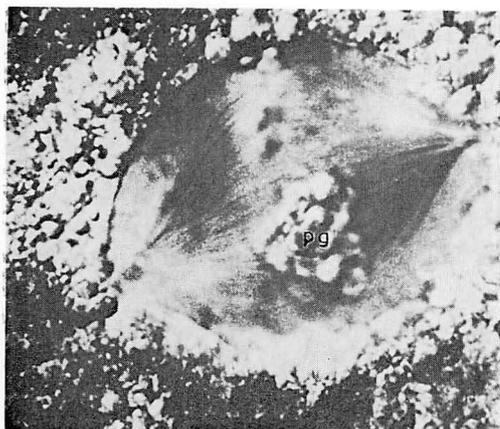


Fig. 15. Intranuclear spindle in a dividing nucleus of *A. cliftonii*. $\times 1200$. pg: polyphosphate granules. (Koop *et al.* 1979)

のでやがて染色体が見えなくなり、ホイルゲン染色はネガティブになる。巨大核内の染色体観察が困難な理由である。いずれにしても、この Koop によって示された像を全面的にカサノリ属の一般性として捉えない方がよいかも知れない。

3. 巨大核は倍数性か

PUISEUX-DAO (1970) は *cymopolia* や *Batophora* の観察からカサノリもその巨大核は endomitosis によって polyploidy になっているだろうと推測した。polyploid 説を推し進めたものは核サイズの増大、核小体の増大及び巨大核 DNA へのチミジンの取込みであった。巨大化した一次核の中に存在する巨大な核小体は endomitosis によって数を増す染色体に対応して増加したものと考えられた。VIRTY (1965) は巨大核内での DNA の複製を調べるため ^3H -thymidine の取込みをみた。彼女は大部分が RNase-sensitive フラクションに入るが、同時にいくらかの DNase-sensitive な取込みも一次核増大過程で起ることを確認した。巨大核が倍数性であるという証明はそれ以外にはなかったが、1978年に SPRING らはかなり正確な技術でこれを否定し、SCHULZE が40年前に述べたように一次核はやはり $2n$ であることを証明した。彼はまず propidium iodine で蛍光染色した gamete と zygote の DNA を cytofluorometry で測定し、其々1核当り 0.92 pg と 1.85 pg とであることを示した。次に数百個の巨大核を単離して固定し、ガスクロマトグラフィで DNA 量を測定した。DNA 量は巨大核当り 2.6 pg であった。この数は $2n$ よりいくら

か多かったがこれに近いものであり polyploidy の可能性は否定された。巨大核は $2n$ と断定された。然し二次核形成以前のどこかで起っていなければならない meiosis は依然として明らかでない。

II. 現在の巨大核研究

巨大核研究の足跡には2つの流れがあった。一つは生理学的・生化学的側面からの遺伝物質の挙動の追求であり、もう一つは、形態学的・細胞学的側面からの遺伝物質の所在に関する研究であった。過去の研究はその両者が異った専門分野の研究者によって別々の歩みを経て来たが電顕による微細構造の観察によって、生理学的側面と形態学的側面との合流がなされ、新しい細胞遺伝学の対象となった。

A. 巨大核の構造と機能

1. 核小体 (仁) : rRNA 生成の場

発芽後2~3週間たった藻体の一次核を蛍光顕微鏡で観察すると網目状に広がった染色糸の他に DNA の塊 (DNA-body) が観察される (石川未発表)。染色体上での特定部位、NOR (nucleolar organizer) が活性化されて増幅を行ないその結果生じた核小体シストロンの塊である。一次核の増大と共にこの DNA-body から rDNA (リボゾーム DNA) の一本鎖が解け出して核質に広がり、この rDNA の上に rRNA 前駆体がつくられる (transcription)。核小体は rDNA を軸とした大量の rRNA 前駆体の集りであり、これが絡み合っ出来たのが、ソーセージ様の巨大な核小体 (仁) である (Fig. 2)。核小体はある場合には核質の50%以上を占める場合もあるが老化すると何個かのサブユニットに分れて球状になってしまう。

核小体は電顕でその断面を見ると三層から成っている (Fig. 16)。①電子線を透過する中心部の空洞部分、ここには疎らな繊維質が見られる、②中間の層で繊維質がもつれ合い同時に無数の顆粒が詰まって見える、③外側の cortex と呼ばれる部分で直径 $50\mu\text{m}$ 程の顆粒で満されている (SPRING 1974)。

実体顕微鏡下で核小体を取り出し、低張液、0.1 mM sodium borate buffer に移して10~15分インキュベートしたのち酢酸ウラニウムで染色し、メッシュの上に広げて電顕でみると Fig. 17 に示される様な羽状の核小体構造が観察される (MILLAR *et al.* 1969)。軸をなす rDNA と活発に解読しつつある pre-rRNA

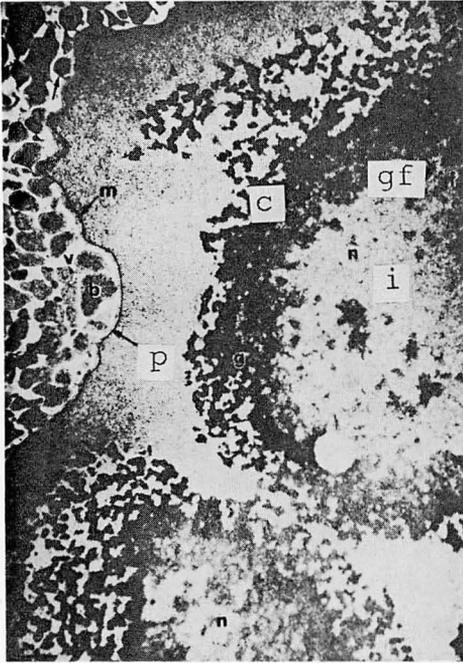


Fig. 16. Aspect of the nucleus of *A. mediterranea*. nuc: nucleolus, C: cortex zone, gf: granulofibrillar zone, i: internal zone, m: nuclear membrane, p: perinuclear cytoplasmic layer, b: perinuclear body, v: vacuole. $\times 40000$ (Photo. from PUISEUX-DAO 1970)



Fig. 17. Extended part of the nucleolar sub-unit. The regular arrangement of fibril-covered ("matrix") and fibril-free ("spacer") regions on the axes. (SPRING *et al.* 1974)

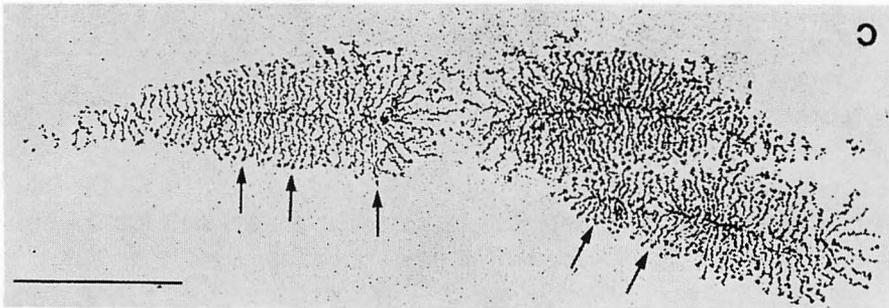


Fig. 18. The normal, extremely dense packing of insertion points of the lateral fibrils, which show terminal dense knobs (indicated by the arrowheads). The bar indicates $1 \mu\text{m}$ (SPRING *et al.* 1974)

の羽状形態 (matrix unit) と、spacer と呼ばれる解読されない rDNA 部分から成っている。1つの羽状部は100~115の繊維状構造が軸から出ており1シストロン上に100~115の活性化された RNA ポリメラーゼが rDNA の暗号解読を行なっていることが分る。羽状構造を拡大すると、各々の pre-RNA 鎖の先端に顆粒が付着している様に見える (Fig. 18)。これは pre-rRNA の先端が巻き込みを始めていることを意味し、

1シストロンが解読されると一個の rRNA 粒子が形成される。核小体は単離操作の途中で直径 5~10 μm の球形のサブユニットに分かれる傾向がある。その数は核によって異なり一定ではない。130~160という報告もあるが30と数えている報告もある。1サブユニット当りの羽状形態 (matrix unit) は120~150存在し、横に並んでかたまっているか又は渦巻き状に配列されているらしい。この様な核小体の形態は両性類の卵母

細胞の核に見られるものと同じであり、又大きな matrix unit の塊はコオロギやゲンゴローなどの昆虫のものに類似している。

形成された rRNA は電子密度の高い顆粒となって核小体の cortex 部分を構成する。これらが真核細胞一般の rRNA 形成の図式にならって 26S と 18S リボソーム RNA となって細胞質内で 80S リボソームを形成するであろうことは前述のように生化学的証明がある。いずれにしても巨大核で生成された rRNA は細胞質に移動しなければならない。この過程を追う電顕観察はいくつかある。SPRING ら (1974) は cortex を構成する顆粒より少し大きい顆粒 (50 nm) が核小体の cortex zone の近くに散在し、それらが核孔で見られるものと同じであることを指摘している。BOLOUKHÈRE (1970) は核小体の崩壊にあたって繊維質部分が消失することを示し、その一部は凝縮して cortex zone になるが、一部は球体をつくって離れて行くことを示唆した。又同時に顆粒状の電子密度の高い球体も現われた。それらの球体は核質の中を移動し、核膜に近づくと互に合体して目の粗い繊維質からなる新しいタイプの球体となって核膜の内側に隣接するという。この2種の球体 (spheroid globule) は FRANKE らも見ており、形態の存在としては信憑性があるが、これが rRNA の transmission であるという確証はない (Fig. 19)。

2. ランプブラシ染色体

SPRING らは1975年に位相差顕微鏡により巨大核中にランプブラシ染色体らしい構造を見出し、1978年に

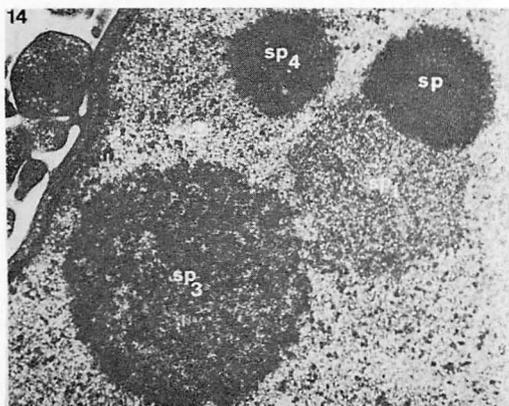


Fig. 19. When the spherules (sp_1 and sp_2) are located near the nuclear membrane (mn) they are in contact with two new types of spherules characterized by a coarser fibred texture (sp_3 and sp_4). $\times 18000$ (BOLOUKHÈRE 1970)

は明らかにランプブラシ染色体として典型的なループ構造をもつ染色体像を発表した。SPRING らの用いた手法は MÜLLER (1974) にならってスライドガラス上に単離した巨大核をのせ、核内容をスライドガラス面に広げて顕微鏡観察を行なったものである (Fig. 20)。

藻体の成長に伴って経時的に核を破壊し、無核藻体を培養し、その後の形態形成を観察すると、成長、輪生枝形成及び傘形成の情報は全て巨大核が完成してから1週間以内に細胞質中に完全に揃わなければならないことになる (石川未発表)。従って巨大核は卵母細胞の核と同様、短期間に大量の mRNA を生産し、細胞質に送り出さなければならない筈である。巨大核内にランプブラシ染色体が形成されることは充分期待されることであった。

両生類や脊椎動物の卵母細胞で見られて来たランプブラシ染色体はキアズマで連結した2本の染色分体で構成されている。然し、巨大核のランプブラシ染色体は一本の染色体から成っている様に観察される (Fig. 20参照)。もし、交叉した2本の染色分体から成るとすれば、巨大核もまた卵母細胞と同じ様に減数分裂の場であることが裏書きされる。然し、一方では藻体と卵母細胞が必ずしも同一挙動をとらなければならない必然性はない。ランプブラシ染色体は減数分裂前期に出現するという既存の観念を越えた現象であってもかまわない。

SPRING ら (1978) は更に、平均20本のランプブラシ染色体のうちのいくつかは末端域で核小体ユニットと絡っていることを示し、核小体と染色体との関連性、

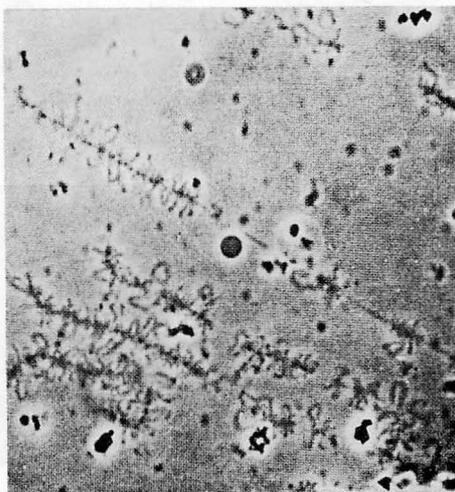


Fig. 20. Lampbrush-type chromosomes in primary nucleus. $\times 630$ (SPRING *et al.* 1978)

即ち染色体上の NOR 部位の存在を明らかにした。又 SPRING ら (1974) は展開した核小体サンプル (前述) 中に、長い matrix unit が多くみられることを指摘している。これらは MILLER ら (1972) が両性類の卵母細胞のランブラスン染色体で記載したループ上の transcription 像と似ていることから、単に大きさの見地から、mRNA 前駆体の混在と考えられることを仄めかしている。然し、核小体 matrix unit の付き合ったものである可能性も否定していない。

3. 接合糸複合体 (Synaptonemal complex)

一次核の増大と共に核小体もまた増大しつつある頃、TICKHOMIROVA らは細長い構造体が巨大核内に現われるのを電顕で捉え、接合子複合体であるかもしれないと報告した (Fig. 21)。接合子複合体は減数分裂にあたって 2 本の相同染色体の対合に見られる高度に組織化された構造である。接合子複合体は哺乳類をはじめ、両生類、昆虫および植物の減数分裂で観察されている。彼らの発表した電顕像は典型的な接合糸複合体の形態とはいえない。又、SPRING らはこれを探したが見つからなかったと報告しており、末だその存在は確定的なものではない。然しこれが事実であるとするならば巨大核内での減数分裂は早晩明らかになると思われる。

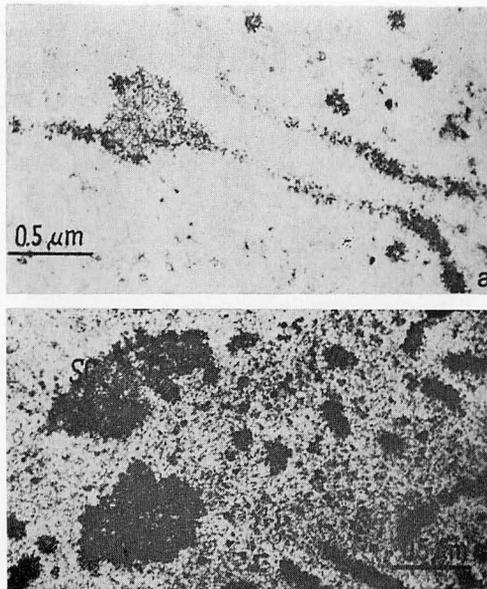


Fig. 21. Chromosomes (a) and synaptonemal complex (b) in the nucleoplasm. SC: synaptonemal complex. (TICKHOMIROVA *et al.* 1979)

4. 巨大核と細胞質の境界領域

巨大核は藻体全体に広がる巨大液胞の基部末端に隣接して存在する。核膜の外側は薄い細胞質の層が囲み、更にその外側に perinuclear zone と呼ばれる網目状または島状に入り組んだ細胞質の層がある (Fig. 22)。島状の細胞質は細い連絡路 (junction) で互に通じている。核膜には $1 \mu\text{m}^2$ 当り 70~80 の核孔があり外域と通じている。核孔には輪形に配列した 8 個の顆粒とその中心にやや大きい 1 個の中心粒が見られる。これらを pore complex と呼ぶ。核の内外への物質の移動にこの pore complex が関与しているものと思われる。核内部には核膜に接近してこの中心粒と類似した顆粒が見られ、pore complex を経て細胞質にこの顆粒が移動することが考えられる。然し、perinuclear zone ではあまり多くの顆粒を見掛ないことから、移動顆粒はこの zone を速い速度で通過していくのではないかと考えられている。前述の spheroid globule もまた核孔を通過する物質かもしれない。spheroid globule から繊維状の糸が pore complex に伸びている電顕像が報告されている。核膜の外側の細胞質層に出ると移動物質は perinuclear zone の連絡路を通過しなければならない。連絡路の内部に網目状の繊維

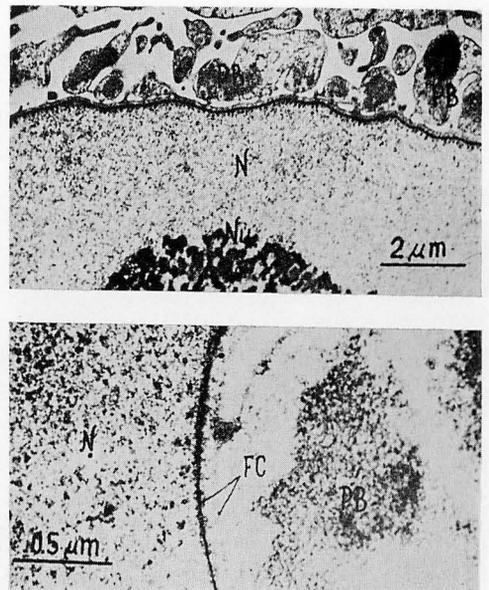


Fig. 22. Perinuclear area of the nucleus in an *Acetabularia* measuring 8 mm in length. PB: perinuclear dense body, n: nucleus, Nu: nucleolus, FC: frontier complex (perinuclear cytoplasm) (TICKHOMIROVA *et al.* 1979)

が観察されたり、ときには顆粒が観察されたりするので巨大核からの物質の移動がこの連結路を介していることはほぼ間違いない。この狭い連結路が核と細胞質の物質移動を制御する場である可能性もある。

近年、perinuclear zone にみられる perinuclear dense body (PB) と略す) に注目が集った (Fig. 22)。PB は、*A. mediterranea* の藻体が 8 mm に達した頃 (発芽後約 2 ヶ月)、perinuclear zone の出現と同時に現われる (FRANKE *et al.* 1974, TICKHOMIROVA 1979)。PB の数は藻体が分化するとき、即ち輪生枝や傘を形成するとき多くなる傾向がある。³H-uridine を用いたオートラジオグラフでは核質の中にあったと同じような分布で PB 中に銀粒子が現われ、核質から放出された物質であることが裏付けられた (TICKHOMIROVA 1979)。PB は、ウラニルアセテートやアクリジンオレンジでクロマチンと同じように染色される。従って PB の中には多分 DNA が存在するであろうことが推測された。確かに切片の DNase 処理で PB が消えたという報告がある。perinuclear zone の外れの辺りに見られる PB では屢々、繊維状の層と顆粒状の層とに分かれているように観察され同時にその周辺にリボソーム様の顆粒が見られた。この無数の(約 2000 個という報告もある。FRANKE 1974) PB は核外に放出された核小体で、核外で独自にリボソーム形成を行っているのではないだろうかという、既成概念からはみだした推測もなされている (BERGER *et al.* 1975)。

perinuclear zone は細胞の age や状態によって様相を異にする。藻体の分化が著しい時期には核膜に隣接する細胞質層は薄くなり、物質移動を促しているかにみえる。然し、傘形成が完了すると、この層は厚くなって、それ以上の物質移動を阻止するかに見える。*A. mediterranea* ではこの細胞質層の肥厚を巨大核分裂の前触れとする説もある。

perinuclear zone を通過した核物質は、いうまでもなく細胞質流動によって全細胞域に運搬されていく。

B. 巨大核と細胞質の相互関係

過去の巨大核の研究は、専ら核の細胞質支配という見地から進められた。然し、細胞質もまた、核に影響を与えることは十分推測されることであり、一細胞内における細胞質と細胞核の相互関係が現在の問題点の 1 つとなっている。核膜を境として transcription の場と translation の場との間にどのような制御システ

ムが働き、どのようなシグナルが受け渡されるか、巨大核の今後の課題である。

十分成長した藻体から、巨大核を取出し、単離核と無核藻体について、其々の自律性をまず考えてみる。SCHWEIGER ら (1975) によれば単離核は核緩衝液中でも 24 時間はその機能を失わずに生存する能力をもっており、異環境下でもかなりの自律性があることが証明された。然し一方、無核藻体(細胞質)は海水中で充分生き続け、既に述べた様に、極めて自律的な次のような要素を含んでいる。①成長と形態形成に必要なすべての component を貯えている、②細胞分化のための情報は既に核から全部受取っている。(従って連続的に起る形態形成は核から順次放出される mRNA によるものではない)、③必要量のタンパク質を、必要に応じて合成する。(多くの酵素が無核細胞質中で合成されることが証明されている：アルカリフォスファターゼは核除去後 10 日たってから増加し始めた。細胞壁の合成に関与する UDPG ピロフォスフォリラーゼは無核細胞質内で傘形成の開始に先がけて増加するがその増加は puromycin で阻害された。)

1. 核の細胞質支配：

この様に十分成長した藻体の細胞質は既に、核の支配を離れて独自の形態形成を進めていく能力をもつ。種間接ぎ木や核移植により、後から挿入された異種の核は mRNA を介して細胞質に働きかけこれを自らの支配の場に変えてしまう。SCHWEIGER らは異種核の細胞質支配を分子レベルで捉えようとゲル電気泳動法で核移植前後のアイソザイムを比較した。藻体ホモジェネートの泳動パターンは明らかに種によって違いが見られたが核交換後 2~3 週間たつと移植された核依存のパターンに変化した。実験対照となったラクトース脱水素酵素とリンゴ酸脱水素酵素は明らかに、核に依存して、アイソザイムの泳動パターンが変化した (SCHWEIGER 1975)。種々の葉緑体膜タンパクや、葉緑体リボソーム蛋白が細胞核ゲノムにコードされていることが証明されている。カサノリの葉緑体も本来、自身のゲノムをもち、transcription や translation に必要な酵素系をもっているにも拘らず、多くの部分は巨大核の支配を受けていることは明らかである。従って移植された異種核は、自身の情報で既存の葉緑体を支配することができる。

2. 細胞質の核支配：

HÄMMERLING は初期の実験で傘をもった藻体から

傘を除去すると巨大核が小さくなることを報告した。この藻体は再び傘を形成し、のちに cyst 形成をすることから傘除去により核が若返ったことを示唆している。また age の異なる同一種藻体の接ぎ木では、若い藻体の仮根部と傘を形成した藻体の茎部をつなぐと仮根内の若い核は急速に老化して二次核を形成し、逆に傘を形成した藻体の仮根部を若い藻体の茎部につなぐと老化していた核は若返り、若い藻体茎部が傘をつくるまで二次核形成を遅らせることが観察された。近年、BERGER ら (1975c) は電顕を用いてこの巨大核の老化と若返りにおける形態的变化を詳細に調べた。Fig. 23に示すように若い核は核周辺細胞質の層が極めて薄く、核小体はソーセージ形につながっているが、老化した核ではその層が著しく厚くなり、核小体は1個の球体に凝縮し空隙をもつようになる。これらの形態を指標として、核移植後、経時的に形態変化を追うと、明らかに若い細胞質は老化核を若返らせ、老化細胞質は、若い核を老化させた。このような細胞質の核支配がどのような細胞質要素によって引起されるのか、物質的解明はなされていない。

巨大核という語は外見上の通称にすぎない。正確には成長した一次核と呼ぶべきであろう。藻体が8~10 mm に達したころ、(*A. mediterranea* では発芽後2ヶ月、筆者の培養する *A. calyculus* では5週間) 一次核は大略直径 40~50 μm となり、内部に典型的な核小体が形成される。その後一次核は更に大きさを増し傘形成が近くなると (*A. mediterranea* では発芽後8~10ヶ月、*A. calyculus* では7~8週間)、100~120 μm となり巨大核と呼ぶにふさわしい特異な存在となる。*A. mediterranea* では藻体が8~10 mm の

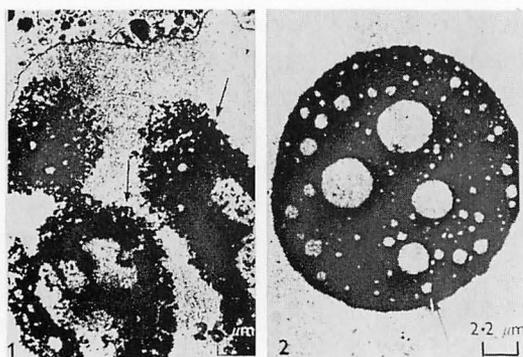


Fig. 23. Nucleoli of young (1) and old (2) cells in *A. mediterranea*.

頃、核周辺に perinuclear zone が発達し、この頃の核内部にランブラン染色体ができるらしい。*A. calyculus* ではこの頃から、核を破壊しても無核藻体が傘形成能をもつようになる。成長した一次核は、典型的な巨大核の半分の直径になったころ、すでに、傘形成に至るまでの形態形成能 (rRNA と mRNA) をすべて細胞質に受渡してしまうのかも知れない。然し、それならば、その後の一次核、いわゆる巨大核は何をしているのだろうか。一次核は藻体が破損したとき再生をもたらす能力は持っているし、又それ自身若返る力も持っていることを述べた。然し細胞質に異常が起きない限り余剰の rRNA をつくり続ける必要はなさそうだ。核質内に染色体 (DNA) を保持して数週間のあいだ二次核形成の指令を待っているのかもしれない。

今迄の研究を総括すると、このような仮説が出来ない訳ではない。しかし筆者は最近その様な仮説の筋書きに合わない事実がぶつかってしまった。*A. calyculus* では意外なことに、巨大核と共存して小さな核様の粒子が観察された。また巨大核は筆者の手法による限り、傘形成以前に消えさるものも多かった。それらの事実が *A. calyculus* の一定培養条件下での特異現象か、あるいは仮説の筋書きを書き換えなければならないものか、現在では、着実な観察をつづける以外に解答は得られないと思っている。

草稿に当って御意見を頂いた敵佐耕三先生並びにカサノリ研究の恩師である新崎盛敏先生に感謝申し上げます。

引用文献

- BARY, A. de and STRASBURGER, E. 1877. Bot. Ztg. 35: 713-755.
 BERGER, S. and SCHWEIGER, H.G. 1975a. Mol. Gen. Genet. 139: 269-275.
 BERGER, S. and SCHWEIGER, H.G. 1975b. In RUISEUX-DAO (ed.), Molecular biology of nucleocytoplasmic relationships. p. 243-250. Elsevier Scie. Publ. Comp., Amsterdam.
 BERGER, S. and SCHWEIGER, H.G. 1975c. J. Cell Sci. 17: 517-529.
 BOLOUKHÈRE, M. 1970. In J. BRACHET and S. BONOTTO (eds.), Biology of *Acetabularia*. p. 145-175. Acad. Press N. Y., London.
 BRACHET, J. 1957. Biochemical Cytology. Acad. Press N. Y., London.
 BRACHET, J. 1967. Nature 18: 650-655.
 BRACHET, J. 1970. Preface In RUISEUX-DAO, S. (ed.), *Acetabularia* and Cell Biology.

- Logos Press Limited.
- D'EMILIO, M. A. and BONOTTO, S. 1977. *J. Phycol.* 13 Suppl.: 17.
- D'EMILIO, M. A., *et al.*, 1970. In BONOTTO, S., KEFELI, V. and RUISEUX-DAO, S. (eds.), *Developmental Biology of Acetabularia* p. 269-282. Elsevier/North Holland Biom. Press, Amsterdam, N. Y., Oxford.
- FRANKE, W. W., *et al.*, 1974. *Protoplasma* 82: 249-282.
- GREEN, B. R. 1973. *Phycologia* 12: 233-235.
- HAMKALO, B. A. and MILLER Jr. O. J. 1973. *Ann. Rev. Biochem.* 42: 379-396.
- HÄMMERLING, J. 1931. *Biol. Zbl.* 51: 633-647.
- HÄMMERLING, J. 1934. *Naturwissenschaften* 22: 829-836.
- HÄMMERLING, J. 1940. *Note Ist. Biol. mar. Rovigno* 2: 1.
- HÄMMERLING, J. 1943. *Zeit. Indukt. Abstamm. u. Vererbungslehre* 81: 84-113.
- HÄMMERLING, J. 1953. *Intern. Rev. Cytol.* 2: 475-498.
- HÄMMERLING, J. 1963a. *Symposia Soc. Exptl. Biol.* 17: 127-137.
- HÄMMERLING, J. 1963b. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 14: 65-92.
- KLOPPSTECH, K. and SCHWEIGER, H. G. 1973. *Differentiation* 1: 331-337.
- KLOPPSTECH, K. and SCHWEIGER, H. G. 1975b. *Protoplasma* 83: 27-40.
- KLOPPSTECH, K. and SCHWEIGER, H. G. 1976. *Cytobiologie* 13: 394-400.
- KOOP, H. U., 1975. *Protoplasma* 85: 109-114.
- KOOP, H. U., 1979 *Protoplasma* 100: 353-366.
- KOOP, H. U., *et al.*, 1979. *Differentiation* 14: 135-146.
- MILLER, O. L. and BEATTY, B. R. 1969. *Science* 164: 955-957.
- MILLER, O. L. *et al.*, 1972. In BIGGERS, J. D. and A. W. SCHUETZ (eds.), *Oogenesis*. p. 119-128. Park Press Baltimore and Butterworths, London.
- MULLER, W. P. 1974. *Chromosoma* 47: 283-296.
- PUISEUX-DAO, S. 1966. In M. B. E. GODWARD (ed.) *The chromosomes of the algae*. p. 52-77. Edward Arnold publishers Ltd.
- PUISEUX-DAO, S. 1970. *Acetabularia* and cell biology. Logos Press Limited.
- SCHULZE, K. L. 1939. *Arch. Protistenk.* 92: 179-225.
- SCHWEIGER, H. G. und BREMER, H. J. 1961. *Bioch. Bioph. Acta.* 51: 50-59.
- SCHWEIGER, H. G. *et al.*, 1975. In PUISEUX-DAO, S. (ed.) *Molecular biology of nucleocytoplasmic relationships*. p. 203-215. Elsevier, Amsterdam, N. Y.
- SCHWEIGER, H. G. 1977. In L. BOGORAD and J. H. WEIL (eds.) *Nucleic acids and protein synthesis in plants*. p. 65-83. Plenum Publ. Corp. N. Y.
- SCHWEIGER, H. G. and SCHWEIGER, M. 1977. *Int. Rev. Cytology* 51: 315-342.
- SOLMS-LAUBACH, H. 1895. *Trans. Linn. Soc. London Bot.*, II 5-39.
- SPRING, H., *et al.*, 1974. *Cytobiologie* 10: 1-65.
- SPRING, H., *et al.*, 1978. *Expl. Cell. Res.* 114: 203-215.
- STICH, H. and HÄMMERLING, J. 1953. *Z. Naturforsch.* 8b: 329-333.
- TICKOMIROVA, L. A., *et al.*, 1979. In S. BONOTTO, V. KEFELI and S. PUISEUX-DAO (eds.) *Developmental biology of Acetabularia*. p. 103-113. Elsevier/North Holland Biom. Press.
- VIRTY, F. de 1965. *Bull. Soc. Chem. Biol.* 47: 1325-1351.
- WOODCOCK, C. C. L. and MILLER, G. L. 1973. *Protoplasma* 77: 313-329.
- YABU, H. AND SHIHIRA-ISHIKAWA I. 1981. *Jap. J. Phycol.* 29: 259-261.