

原 著

## *Pleodorina Californica* における細胞分化

美 祢 弘 子

川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床栄養学科

(平成3年8月23日受理)

### Cell Differentiation in *Pleodorina Californica*

Hiroko MINE

*Department of Clinical Nutrition, Faculty of Medical Professions*

*Kawasaki University of Medical Welfare*

*Kurashiki, 701-01, Japan*

*(Received on Aug. 23, 1991)*

**Key words** : *Pleodorina californica*, cell differentiation, somatic cell, reproductive cell, differentiation rate

#### 要 約

*Pleodorina californica* の様々な成熟段階にある colony から reproductive cell を取り出して培養することにより、2 ( $2^1$ ), 4 ( $2^2$ ), 8 ( $2^3$ ), 16 ( $2^4$ ), 32 ( $2^5$ ), 64 ( $2^6$ ), 128 ( $2^7$ ) の7種類の構成細胞数からなる娘 colony を得ることができた。2, 4, 8, および16細胞からなる colony は自然にはほとんどみられず、今回の処置によりはじめてつくり出せた。colony 中の細胞の somatic cell と reproductive cell への細胞分化は少数の細胞数からなる colony においても多数の細胞数からなる colony におけるのと同様に明瞭であった。

7種類の構成細胞数からなる colony における somatic cell と reproductive cell の比率を調べて比較した。両者の比率は固定したものではなく、同一の構成細胞数からなる colony においても様々な値をとり、構成細胞数の違いに依存して異なる分布を示した。

#### Abstract

We could obtain colonies of different cell numbers such as 2 ( $2^1$ ), 4 ( $2^2$ ), 8 ( $2^3$ ), 16 ( $2^4$ ), 32 ( $2^5$ ), 64 ( $2^6$ ), and 128 ( $2^7$ ) by isolation and cultivation of reproductive cells in different maturation stages from their mother colonies. Colonies with small cell numbers, such as 2, 4, 8, and 16 are rarely seen in natural but were brought about by this treatment for the first time. Cells in the colonies of small constituting cell numbers differentiated clearly

into somatic cells and reproductive cells as well as in the colonies of large cell numbers.

Ratios of somatic cells and reproductive cells in these colonies of 7 different constituting cell numbers were calculated and compared. It was clearly shown that the differentiation rate was not fixed but varied even in colonies with same cell numbers. And the rates were distributed differentially depending on the composing cell number of the colonies.

### はじめに

*Pleodorina californica* は colony を形成する緑藻の一種である。colony を構成する細胞は2種類に分化しており、これらが中空の colony の表面一層に規則正しく埋め込まれている。走光性を示す colony の前半球には somatic cell (S cell) が、後半球には reproductive cell (R cell) が配列している。<sup>1),2)</sup>R cell は細胞分裂能を有し、娘 colony を形成できる。S cell は細胞分裂能を欠いている。

*P. californica* の colony を構成する細胞数は通常128 ( $2^7$ ) か64 ( $2^6$ ) であり、ごくまれに32 ( $2^5$ ) や16 ( $2^4$ ) のものも存在する。このように規則的な細胞数をとるのは、R cell が同調する細胞分裂をおこなって(1~7回、R cell の成熟の度合いに依存する)娘 colony を形成することによる。今回著者は未熟な R cell を強制的に分裂させて天然ではあまりみられない少数の構成細胞数からなる colony {32 ( $2^5$ ), 16 ( $2^4$ ),

8 ( $2^3$ ), 4 ( $2^2$ ), 2 ( $2^1$ )} を任意に作りだすことに成功した。そこで、これら構成細胞数の異なる7種類の colony における S cell と R cell の比率を調べて比較した。

### 材料と方法

実験には *Pleodorina californica* Shaw<sup>1)</sup> を使用した。培地は Volvox 培地<sup>3)</sup> (Table 1) を用い、20C で16時間明所 (3,000ルクス)、8時間暗所の明暗周期で静置培養した。

様々の成熟段階の colony を金属メッシュ (100メッシュ~400メッシュ) を用いて集め、ゆるめガラスホモジェナイザーで軽くつぶして R cell を colony 外に取り出した。ばらばらになった R cell は Volvox 培地で培養すると、ただちに細胞分裂を開始した。未熟で小型の R cell からは少数の構成細胞数からなる colony が、成熟した R cell からは多数の構成細胞からなる colony が生じた。このようにして、2, 4, 8, 16, 32, 64, および128の7種類の構成細胞数か

Table 1 Composition of Volvox medium

Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4 H <sub>2</sub> O	118mg
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	40mg
Na <sub>2</sub> · glycerophosphate · 5 H <sub>2</sub> O	50mg
KCl	50mg
Glycylglycine	500mg
Biotin	10μg
Vitamine B <sub>12</sub>	10μg
FeCl <sub>3</sub> · 6 H <sub>2</sub> O	582μg
MnCl <sub>2</sub> · 4 H <sub>2</sub> O	246μg
ZnCl <sub>2</sub>	30μg
CoCl <sub>2</sub> · 6 H <sub>2</sub> O	12μg
Na <sub>2</sub> · MoO <sub>4</sub>	24μg
Na <sub>2</sub> · EDTA	4.5mg

distilled water 1,000ml (pH7.0)

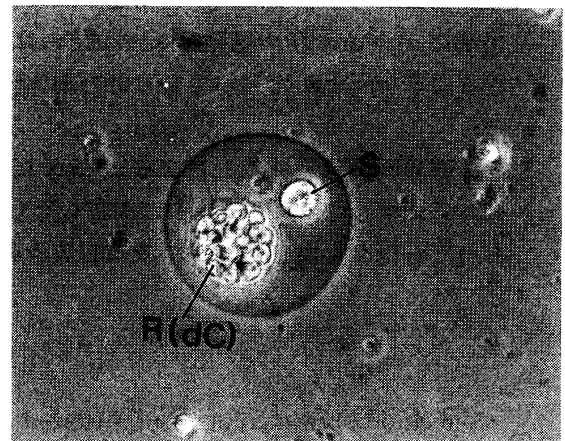


Fig. 1 2-cells-colony of *Pleodorina californica*  
S=somatic cell  
R (dC)=reproductive cell (daughter colony)

らなる colony を任意に得ることができた. S cell は colony 外に取り出しても全く細胞分裂をおこなわなかった.

colony を構成する細胞数および colony 中の S cell と R cell の比率は, 光学顕微鏡下で直接計測, 判定して求めた.

S cell は R cell に比較して小型であるばかり

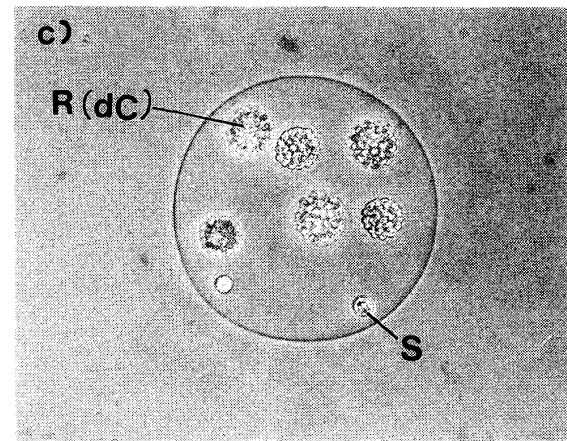
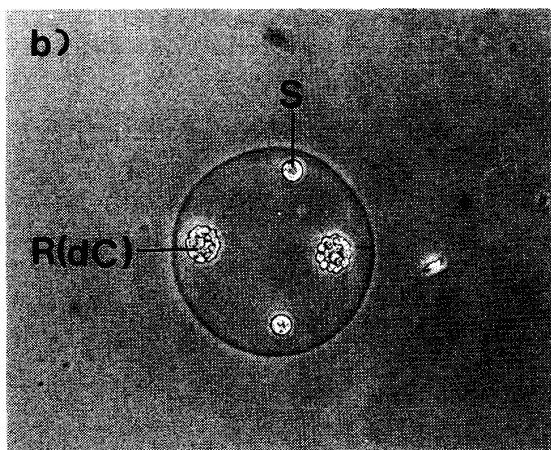
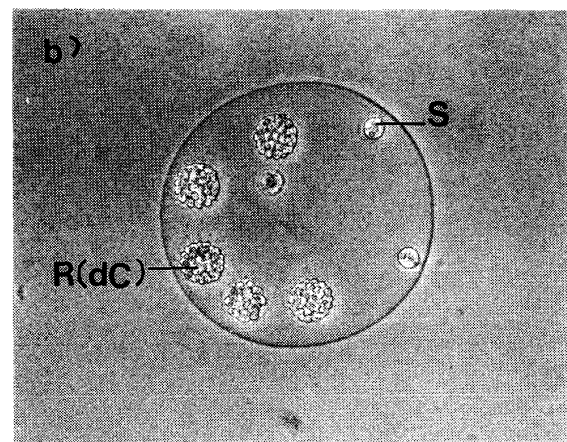
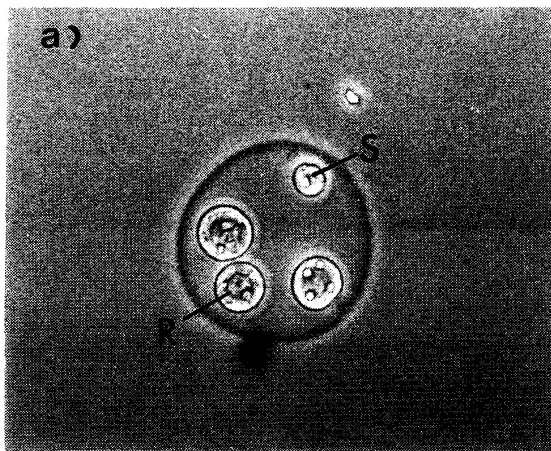
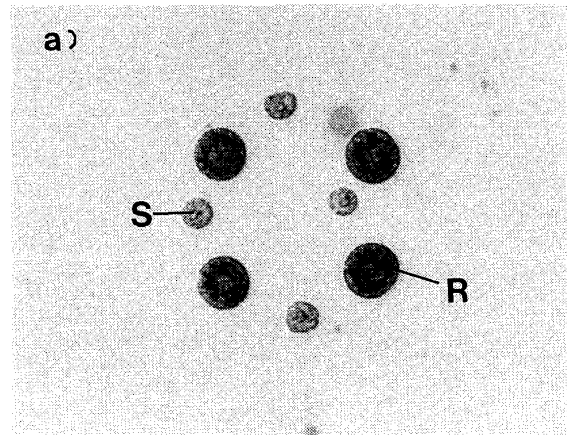


Fig. 2 4-cells-colonies of *Pleodorina californica*

a) somatic cell : reproductive cell = 1 : 3

b) somatic cell : reproductive cell = 2 : 2

S=somatic cell

R=reproductive cell

R(dC)=reproductive cell (daughter colony)

Fig. 3 8-cells-colonies of *Pleodorina californica*

a) somatic cell : reproductive cell = 4 : 4

b) somatic cell : reproductive cell = 3 : 5

c) somatic cell : reproductive cell = 2 : 6

S=somatic cell

R=reproductive cell

R(dC)=reproductive cell (daughter colony)

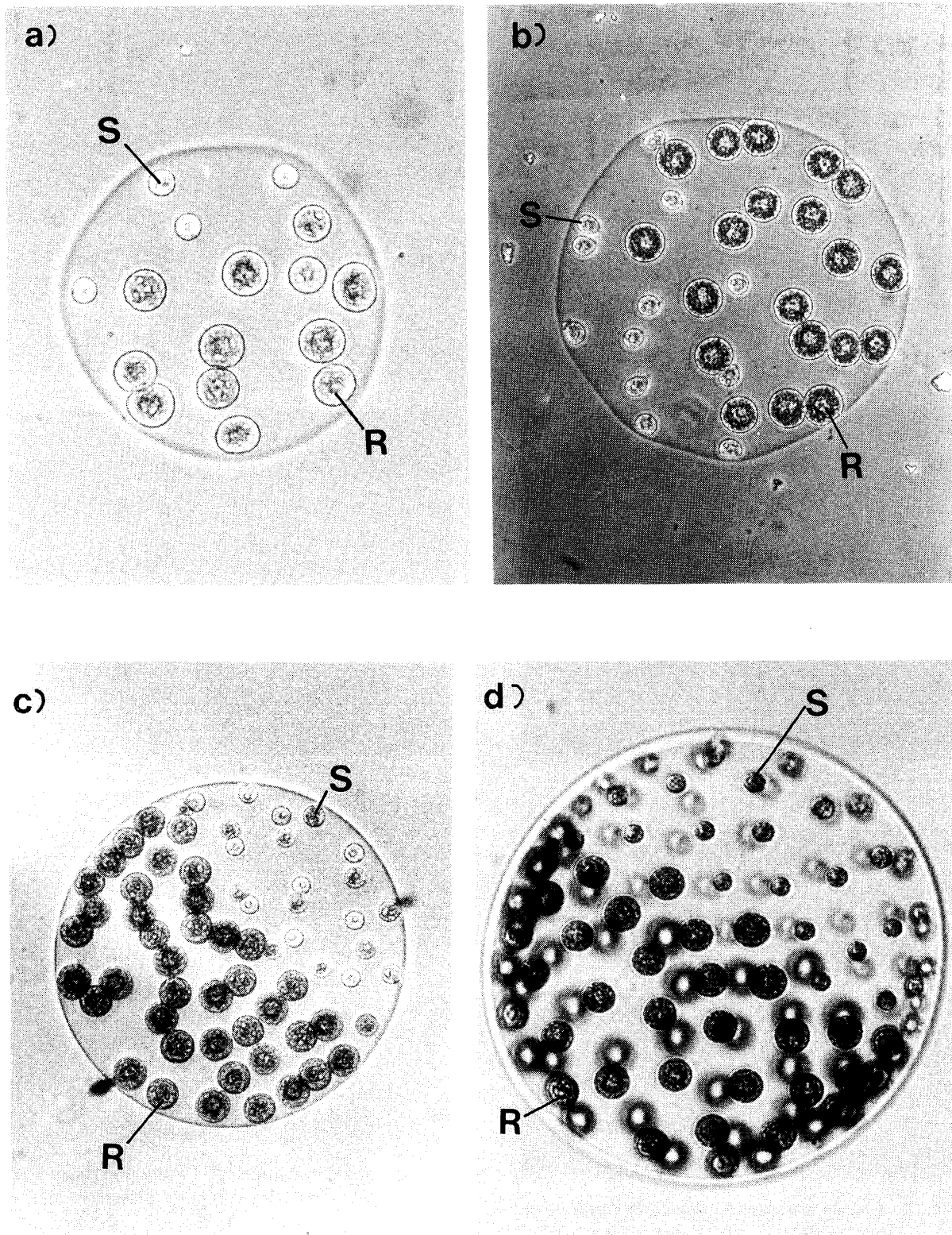


Fig. 4 Colonies of *Pleodorina californica*

a) 16-cells-colony, somatic cell : reproductive cell = 4 : 12

b) 32-cells-colony, somatic cell : reproductive cell = 12 : 20

c) 64-cells-colony, somatic cell : reproductive cell = 22 : 42

d) 128-cells-colony

S=somatic cell

R=reproductive cell

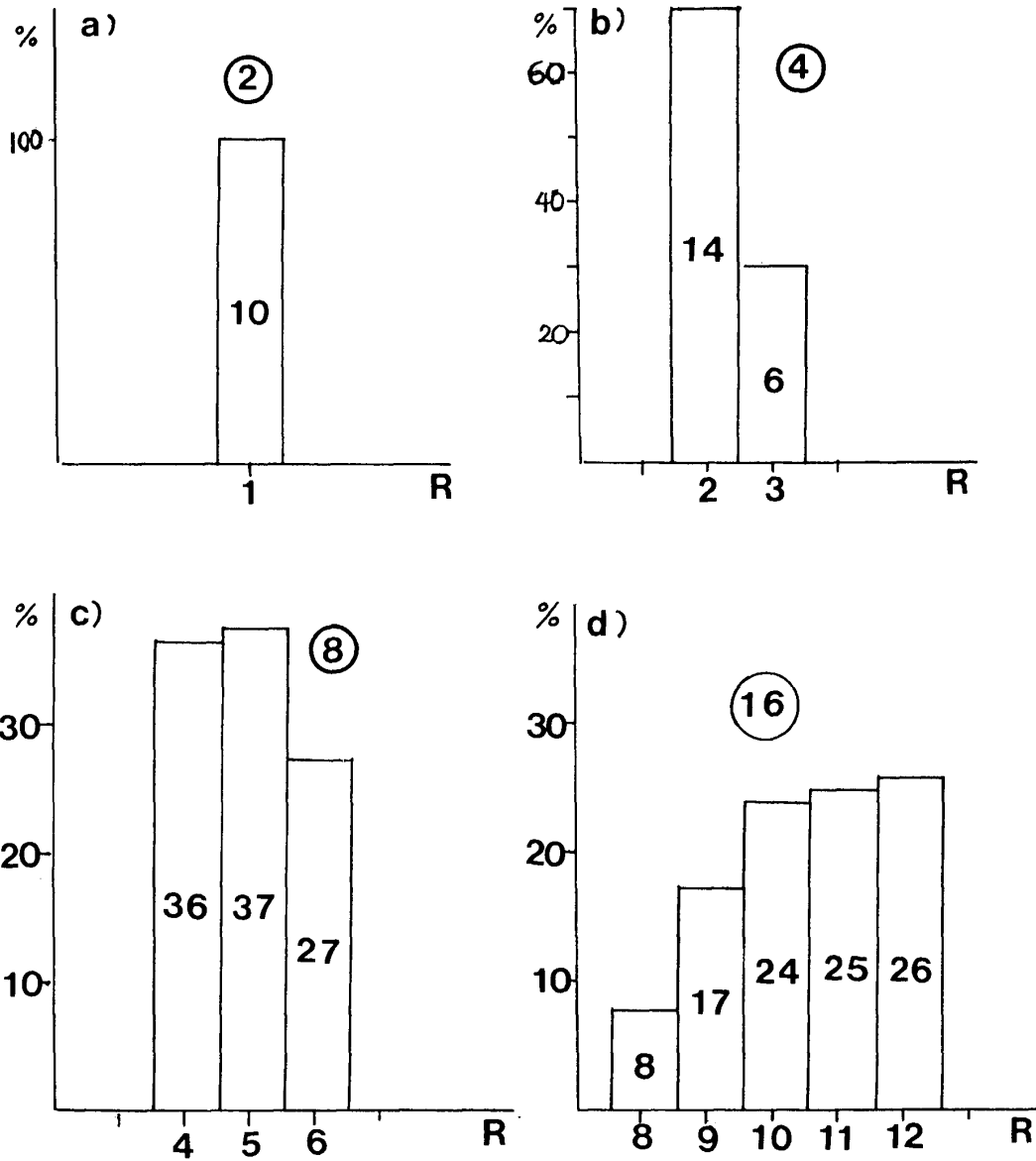


Fig. 5 Distributions of the number of reproductive cell within a colony of *Pleodorina californica*  
 a) 2-cells-colony  
 b) 4-cells-colony  
 c) 8-cells-colony  
 d) 16-cells-colony  
 horizontal axis=numbers of reproductive cell in a colony  
 vertical axis=percentages of the colonies  
 number in a column=measured number of colonies

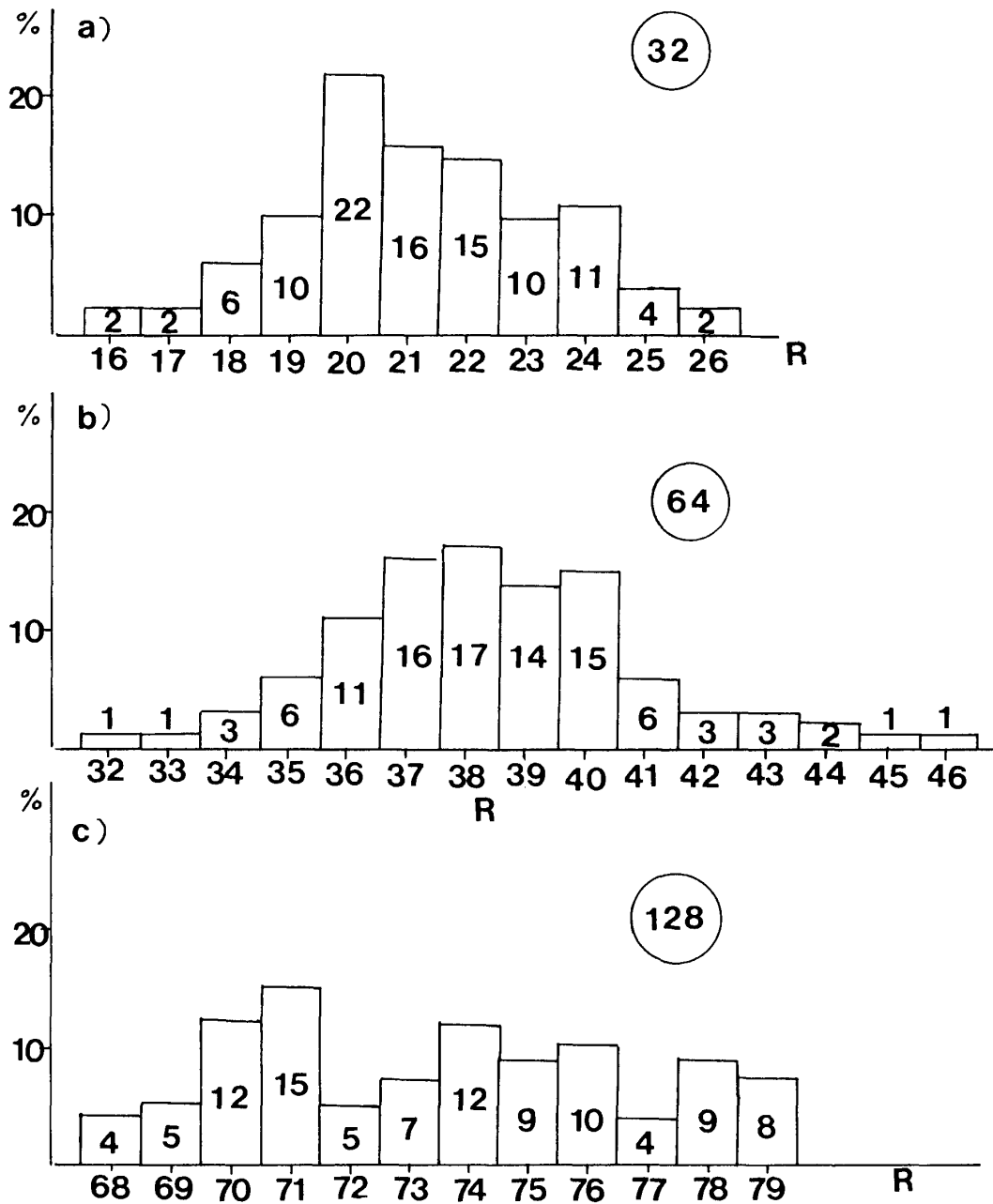


Fig. 6 Distributions of the numbers of reproductive cell within a colony of *Pleodorina californica*  
 a) 32-cells-colony  
 b) 64-cells-colony  
 c) 128-cells-colony  
 horizontal axis=numbers of reproductive cell in a colony  
 vertical axis=percentages of the colonies  
 number in a column=measured number of colonies

でなく, R cell には存在しない眼点を持つため, 両者の鑑別は容易であった. 2, 4, 8 などの少数の細胞からなる colony の場合には R cell が分裂してできあがった娘 colony と S cell の比率を調べた.

8, 16, 32, 64, および128の5種類の colony はそれぞれ100個体について S cell と R cell の比率を調べたが, 2細胞 colony は10個体, 4細胞 colony は20個体しか両者の比率を調べることができなかった.

### 結 果

自然ではほとんどみられず, 今回の処置ではじめて得られた2細胞, 4細胞および8細胞 colony は S cell と R cell の比率の異なるものをすべて示した. 2細胞 colony では調べた10個体のすべてにおいて S cell と R cell が1個ずつ存在した (Fig. 1). 4細胞 colony では S cell : R cell が1 : 3のもの2 : 2のものが存在した (Fig. 2). 8細胞 colony では S cell : R cell が2 : 6, 3 : 5および4 : 4の3種類が存在した (Fig. 3).

16, 32, 64および128細胞 colony については代表的な細胞分化の比率のものを示した (Fig. 4). 16, 32, および64細胞の colony はカバーガラスで押しつぶして平らになったものを, 128細胞 colony は立体的なものを示した.

次にこれら7種類の構成細胞数からなる colony の S cell と R cell の比率を調べ, 分布を棒グラフで示した. 横軸は colony 中の R cell 数を, 縦軸は colony 数を%で示した. 2細胞 colony については10個体を調べたところ, すべて R cell が1であった (Fig. 5, a). 4細胞 colony については20個体を調べたところ, R cell が2個のものが70%, 3個のものが30%であった (Fig. 5, b). 8~128の5種類の構成細胞数の colony については, それぞれ100個体ずつ調べた. 8細胞 colony では R cell が4個のものが36%, 5個のものが37%, 6個のものが27%であった (Fig. 5, c). 16細胞 colony では R cell が8個のものが8%, 9個のものが17%, 10個のものが24%, 11個のものが25%, 12個のものが26%であった (Fig. 5, d). 32細胞 colony

Table 2 Ratios of reproductive cells within colonies of *Pleodorina californica*.

No. of Cells within a colony	REPRODUCTIVE CELL (%)		
	Min.	Max.	Aver.
2	50.0	50.0	50.0
4	50.0	75.0	57.5
8	50.0	75.0	65.4
16	50.0	75.0	65.3
32	50.0	81.3	66.1
64	50.0	71.9	66.0
128	53.1	61.7	57.5

では R cell は16~26の11種類の数を示し, colony 数は2%~22%であった (Fig. 6, a). 64細胞 colony では R cell は32~46の15種類の数を示し, colony 数は1~17%であった (Fig. 6, b). 128細胞 colony では R cell は68~79の12種類の数を示し, colony 数は4~15%であった (Fig. 6, c).

Fig. 5 および Fig. 6 の実測値に基づいて, 各構成細胞数からなる colony において R cell が占める割合 (%) の最小値 (Min.), 最大値 (Max.) および平均値 (Aver.) をまとめた (Table 2). この結果, 2細胞 colony の場合を除く6種類の構成細胞からなる colony において, R cell は50~75%を占め, 平均すると約60%を占めることが明らかとなった.

### 考 察

colony 形成をおこなう緑藻のなかで, *Pleodorina* よりもはるかに多数の構成細胞からなる colony をつくる *Volvox* では, *Pleodorina* と同様に S cell と R cell の細胞分化がみられる.<sup>4)5)</sup> これに対して *Pleodorina* より構成細胞数の少ない colony を形成する *Gonium* (16細胞 colony),<sup>6)</sup> *Pandorina* (16細胞 colony),<sup>7)</sup> および *Eudorina* (32細胞 colony)<sup>8)</sup> ではいずれも細胞分化はみられない. すなわち, colony を構成するすべての細胞が細胞分裂能 (*Pleodorina* における R cell の役割) と眼点 (*Pleodorina* において S cell に局在) を合わせ持つ.<sup>9)</sup> 今回著

者が未熟な R cell を強制的に分裂させて作り出した *Pleodorina* の少数細胞から構成されている colony において明瞭な細胞分化がみられたことは非常に興味深い。

*Pleodorina californica* の colony 構成細胞数と細胞分化の比率の関係については、すでに Gerisch<sup>2)</sup>の報告がある。しかしながら、Gerisch は128細胞 colony 10個体、64細胞 colony 25個

体、および32細胞 colony 25個体についてしか調べていない。今回著者は7種類の構成細胞からなる数多くの colony について解析することができた。

今後は *Pleodorina californica* の形態形成の過程をていねいに追跡して、特異的な細胞分化の比率がどのようにして決定されるかを調べてゆく予定である。

#### 文 献

- 1) Shaw, W. R. (1894) *Pleodorina*, a new genus of the Volvocineae. Bot. Gaz **19**, 279—284.
- 2) Gerisch, G. (1959) Die Zelldifferenzierung bei *Pleodorina californica* und die Organisation der Phytomonadinenkolonien. Arch. Protistenk. **104**, 292—358.
- 3) Darden, W. H. Jr. (1966) Sexual differentiation in *Volvox aureus*. J. Protozool. **13**, 239—255.
- 4) Bock, F. (1926) Experimentelle Untersuchungen an kolonielbildenden Volvocaceen. Arch. Protistenk. **56**, 321—356.
- 5) Starr, R. C. (1968) Cellular differentiation in *Volvox* Proc. Natn. Acad. Sci. **59**, 1082—1088.
- 6) Stein, J. R. (1958) A morphological and genetic study of *Gonium pectorale*. Am. J. Bot. **45**, 664—672.
- 7) Coleman, A. W. (1959) Sexual isolation in *Pandorina morum*. J. Protozool. **6**, 249—264.
- 8) Goldstein, M. (1964) Speciation and mating behavior in *Eudorina*. J. Protozool. **11**, 317—344.
- 9) 生島伸茂, 丸山節子 (1964) *Volvox* における形態形成. 実験形態学誌, **18**, 1—16.