

## テトラヒメナの大核ゲノムの分布はランダムではない

遠藤 政城, 菅井 俊郎 (茨城大・理・自然機能)

Non-random distribution of macronuclear genome in *Tetrahymena thermophila*

Masaki ENDO and Toshiro SUGAI

(Department of Materials and Biological Sciences, Faculty of Science, Ibaraki University)

## SUMMARY

The macronucleus of *Tetrahymena* has 200–300 different DNA molecules, or chromosomes. Each chromosome is amplified to 45 copies. It is believed that the position of each chromosome within the macronucleus is random. We reported previously the presence of globular chromatin during macronuclear division which contains 1C amount of DNA. We have developed a method to make cells with a very small macronucleus which contains about 1C amount of DNA. These cells could grow and divide, suggesting that the macronuclear genome is clustered within the macronucleus.

**[目的]** テトラヒメナ や ゾウリムシの大核は、接合中に小核より形成されるので、大核は小核の高次倍数体だと考えられていた。 *P. aurelia* の接合過程で、旧大核が20–40個以上に断片化し、この内の1個から新しい大核が再生する。 Sonneborn (1947) は、この現象から大核内に2nのsubnucleiの存在を提唱した。しかし実証されてはいない。

テトラヒメナの大核のクロマチンは、ユークロマチンとchromatin bodyと呼ばれるヘテロクロマチンから成る。分裂中の大核内に、chromatin bodyよりも大きな塊状のクロマチンが出現する事が知られていた。 Nilsson (1970) は、無小核の *T. pyriformis* でこの塊状のクロマチンはsubnucleiだと報告した。しかし現在では、小核から大核が形成される際、染色体の一部が削除され、再編成されるので、小核ゲノムと大核ゲノムは大きく異なり、このsubnuclei説は否定されている。

Seyfert(1979)は、小核を持つ種類 *T. pyriformis* HSM で、この塊状のクロマチンの大きさは不均一で数種類あると報告した。以前、我々は分裂中の大核内に1CのDNAを含む均一な大きさで球状のクロマチンの存在を報告した。この球状クロマチンは大核ゲノムそのものなのか？ それとも、そこに含まれる染色体の種類はランダムなのであろうか？ 今回、大核

を不均等分裂させ、およそ大核ゲノム1個相当のDNA量を持つ細胞を作成する方法を開発した。

**[材料と方法]** 株は *T. thermophila* strain B を使用した。対数増殖期の細胞を軽い飢餓状態にしてから接合型の異なる細胞を混合し細胞分裂を誘導した。観察は主に位相差顕微鏡を用い、DNAはHoechst33342、またはDAPIで染色し蛍光顕微鏡で観察した。DNA量の測定は蛍光像を撮影しPhotoshop CS2で加工し、Image J (NIH image) で行った。

**[結果と考察]** (1) 小さい大核を持つ細胞の作成、および分裂誘導後の各時期の出現時間と頻度：分裂途中の棒状の形態をした大核を持つ細胞を、微小管重合阻害剤の一種であるBenomyl (1 $\mu$ g/ml) で処理した後、3300gで4分間遠心した。分裂途中の棒状の大核を不均等分裂させ、小さい大核を持つ細胞を作成する方法を開発した。棒状の形態をした大核を持つ細胞の頻度が最も高かったのは、接合型の異なる細胞を混合してから80分後だった。

(2) 小さい大核のDNA量：間期の小核は凝縮している為、正確なDNA量を測定出来ない。そこで減数分裂初期のクロマチンがほぐれた4Cの小核と比較して、小さい大核のDNA量を、小核のC値に換算し

た。小さい大核のDNA量は、およそ1Cだった。

(3) 観察した小さい大核を持つ細胞の単離：カバーガラスの両端に、切断したスライドガラスを貼り（裏返して観察する為）、中央部分に薄い枠を作った。この枠内に0.6% Agaroseの層を作成し、この上に約15個の細胞を置いた。カバーガラスを裏返し、顕微鏡で観察した。目的の細胞を見つけたら、その付近に印を付け、再び裏返し、実体顕微鏡で観察して目的の細胞をマクロピペットで回収し、培地に移した。

(4) 小さい大核を持つ細胞の増殖結果：小さい大核を持つ細胞を顕微鏡で確認し14個単離した結果、その内12個の細胞が増殖した。

大核ゲノム1個程度のDNA量を含む小さい大核を

持つ細胞が増殖した事から、核内では大核ゲノムはそれぞれまとまって存在し、これが大核分裂の時に球状クロマチンを形成するのかもしれない。また、大核染色体にはセントロメアが存在せず、分裂の際にランダムに分配される（Orias and Flacks:1975）という報告がある。我々の結論と彼らの結論とを繋げるモデルが必要と思われる。

#### [文献]

- 1) Nilsson, J.R. (1970) *J. Protozool.*, 17 : 539-548
- 2) Orias, E., and Flacks, M. (1975) *Genetics* 79 : 187-206
- 3) Seyfert, H.M. (1979) *J. Protozool.*, 26 : 66-74
- 4) Sonneborn, T.M. (1947) *Adv. Genet.* 1 : 263-358