

## ヤエヤマサソリにおける単為的胚発生開始に先立つ 雌性生殖細胞核 DNA 量の変化

山崎 一憲・丸尾 文昭・岩井 裕希子・牧岡 俊樹

**Kazunori YAMAZAKI, Fumiaki MARUO, Yukiko IWAI<sup>1)</sup> and Toshiki MAKIOKA:  
Changes in nuclear DNA contents of female germ cells prior to the parthenogenetic  
embryogenesis in the viviparous scorpion, *Liocheles australasiae* (Fabricius) (Scorpiones,  
Ischnuridae)\***

*Institute of Biological Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki 305–8572, Japan*

<sup>1)</sup>*Present address: Genome Asymmetry Group DOI BIOASYMMETRY PROJECT ERATO, JST, Tsukuba  
Research Consortium, Tokodai 5–9–9, Tsukuba, Ibaraki 300–2635, Japan*

ヤエヤマサソリ *Liocheles australasiae* は胎生であり、マレー半島および沖縄県西表島に生息する個体群は、雌性産生単為生殖で繁殖することが知られている (Makioka and Koike, 1984, 1985; Makioka, 1992a, 1993)。これまでの組織学的な観察から、ヤエヤマサソリ卵母細胞の減数分裂は次のように進行すると考えられている：一次卵母細胞は減数第一分裂をして二次卵母細胞と第一極体になり、二次卵母細胞の核は減数第二分裂により、卵核と第二極体の核とに分かれ、さらに、卵核と第二極体の核とが再び融合することにより染色体数が回復し、卵が発生を開始する (Yamazaki *et al.*, 1997)。しかしながら、この核相の半減や回復の過程は十分に確認されていないので、本研究では、この検証のために、ヤエヤマサソリの卵母細胞の減数分裂過程における核の DNA 量の変化を調べ、考察した。

### 材料と方法

材料としたヤエヤマサソリは沖縄県西表島で採集し、28℃の温度条件下で飼育した。卵母細胞は、若虫出産後約18日目に、次の発生開始のため、減数第一分裂中期に入るので (Yamazaki *et al.*, 1998)、減数分裂中期以後の核 DNA 量の測定には出産後18日目以後の個体のよく発達した卵母細胞を用いた。また、亜成体および最終脱皮直後の成体および若虫出産後から18日目までの個体から得たいろいろな発達段階の卵母細胞も用いた。卵母細胞は、卵巣管から突出した卵巣盲囊中で成長・発生するので、卵巣盲囊ごとパラホルムアルデヒドで固定、Oli Green™ (Molecular Probes) で染色し、共焦点レーザー स्क्यान顕微鏡 [Confocal Laser Scan Microscope (CLSM) LSM410: Carl Zeiss] で観察した。観察画像はコンピューターに取り込み、測定ソフト NIH Image 1.61 (National Institutes of Health, U.S.A.) を用いて DNA 量を測定した。また、コントロールとして卵巣盲囊上皮細胞 (体細胞) の核 DNA 量を測定し、その値 (C 値) を2Cとして、それに対する卵母細胞および卵母細胞由来の核の C 値を求めた。

### 結果および考察

CLSM での観察の結果、卵巣盲囊の濾胞腔中に、時間を追って次の七つの状態の卵母細胞、成熟卵、極体、および胚のそれぞれの核を観察することができた。第一に一次卵母細胞の核のみが存在する状態、第二に減数第一分裂中期の核が存在する状態、第三に二次卵母細胞の核と第一極体の核が存在する状態、第四に成熟卵の核と3個の第二極体の核が存在する状態、第五に卵割開始前の胚と第一極体の核が存在する状態、第六に2細胞期胚と第一極体の核が存在する状態、そして第七に2細胞期胚と第一極体由来の第二極体の核が二つ存在する状態である。今回の方法では細胞膜や核膜を観察することができなかったが、卵巣盲囊中の同一濾胞中に見られた

\* Abstract of paper read at the 34th Annual Meeting of Arthropodan Embryological Society of Japan, May 21–22, 1998 (Mikawa, Aichi).

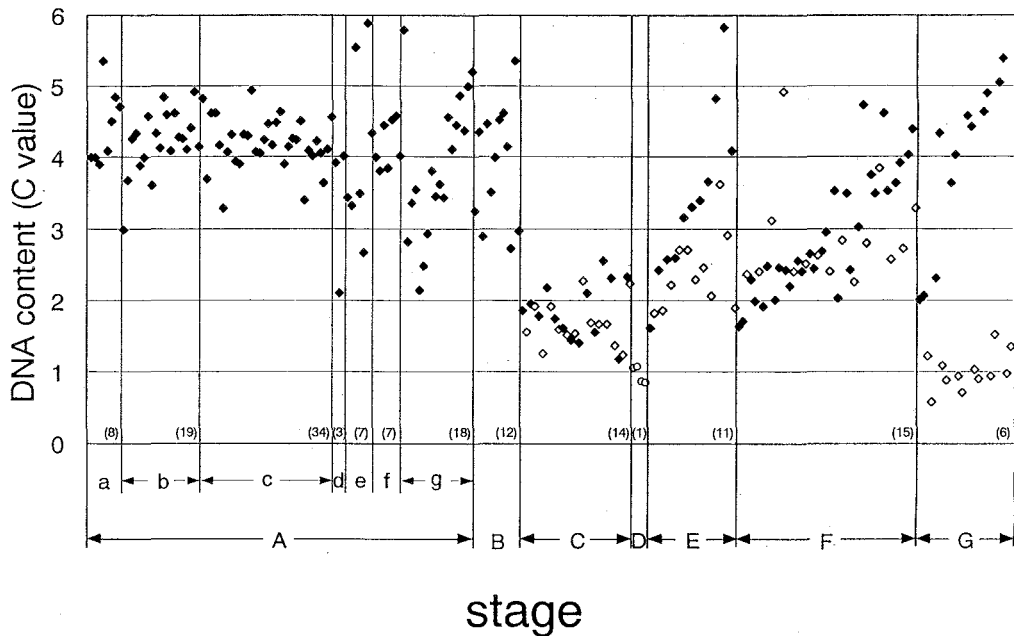


Fig. 1 Nuclear DNA contents of female germ cells and blastomeres. Solid and open squares respectively indicate the nuclei of oocytes or embryos and the nuclei of polar bodies. A. Prophase of 1st maturation division. a: early prophase nuclei of young primary oocytes within small ovarian diverticula, b: nuclei of largest oocytes in sub-adult females, c: nuclei of largest oocytes in newly molted adults, d: nuclei of largest oocytes in females 6 days after the last parturition, e: nuclei of largest oocytes in females 7 days after the last parturition, f: nuclei of largest oocytes in females 12 days after the last parturition, g: nuclei of largest oocytes in females 18 days after the last parturition. B. Metaphase of 1st maturation division. C. Telophase of 1st maturation division. D. Completion of 2nd maturation division. Four nuclei shown by open circles are an egg nucleus and three secondary polar nuclei derived from a primary oocyte nucleus. E. Embryos before 1st cleavage. F. Two cell-stage embryos, each of which has a single 1st polar body. G. Two cell-stage embryos, each of which has two 2nd polar bodies derived from a 1st polar body. The number of samples for each stage is parenthesized.

核の数、大きさおよび位置からそれらが何の核であるかを推定した。それぞれの核のDNA量を測定した結果、次のようなC値を得た (Fig. 1)。

まず一次卵母細胞の核では4C (出産後18日目の一次卵母細胞の核のほかに、亜成体、最終脱皮直後の成体、出産後6日目、出産後7日目、出産後12日目のそれぞれにおける一次卵母細胞の核、さらに発達した卵巣盲嚢に含まれるごく若い一次卵母細胞だけでなく、未発達な卵巣盲嚢に含まれる一次卵母細胞の核すべてにおいて4C)、減数第一分裂中期の核では4C、二次卵母細胞および第一極体の核ではそれぞれ2C、そして成熟卵の核と3個の第二極体の核が存在する状態ではそれぞれの核は1C、胚発生開始前の胚および2細胞期胚の核では2Cおよび4C、その時の第一極体は2C、第一極体由来する二つの第二極体の核はそれぞれ1Cであった。

卵巣盲嚢に入る以前および未発達な卵巣盲嚢中のごく若い一次卵母細胞の核において、DNA量はすでに倍加して4Cになっていた。このことは、減数第一分裂前期の早期にDNA量の倍加が起こり、そのまま減数第一分裂中期まで変化しないことを示している。減数第一分裂により生じた二次卵母細胞と第一極体でDNA量は半減して2Cに戻り、減数第二分裂により生じた成熟卵の核および第二極体の核ではDNA量がさらに半減して1Cとなる。そして成熟卵の核は、その後おそらくこの第二極体の核と融合することによりDNA量が回復して2Cとなり、発生を開始していると考えられる。また胚期の割球の核のDNA量は2Cであるが、次の卵割直前に倍加して4Cになるものと考えられる。

今回の観察方法では、細胞膜を見ることができなかったため、二次卵母細胞と第二極体が関与すると思われるDNA量の変化の因果関係を十分に解明できなかった。今後は減数分裂過程の組織学的観察をさらに継続するほか、核型分析を試み、ヤエヤマサソリにおける単為の胚発生の開始について、より詳細に研究を進める予定である。

## 引用文献

- Makioka, T. and K. Koike (1984) *Proc. Jpn. Acad.*, (B), **60**, 374–376.
- Makioka, T. and K. Koike (1985) *Invert. Reprod. Dev.*, **8**, 317–323.
- Makioka, T. (1992a) *Invert. Reprod. Dev.*, **21**, 161–166.
- Makioka, T. (1993) *Invert. Reprod. Dev.*, **24**, 207–212.
- Yamazaki, K., K. Yahata and T. Makioka (1997) *Zool. Sci.*, **14** (Suppl.), 30.
- Yamazaki, K., K. Yahata and T. Makioka (1998) *Proc. Arthropod. Embryol. Soc. Jpn.*, **33**, 17–20.