

ヒトデ卵の成熟分裂における染色体と中心粒の挙動

——上坪英治先生の御退官を記念して——

はじめに

発生の研究は、海産無脊椎動物卵では、おもにウニ卵を用いて進められてきた。ウニ卵は、大量の受精可能な未受精卵を得る方法と人工受精の方法が確立されたことと、卵自体が比較的透明で核や分裂装置など細胞内構造がよく観察でき、その上、発生率や同調性が極めて高いことにより、一九世紀後半以来、受精や卵割や初期発生の研究に大いに貢献してきた。これに比べて、卵形成とりわけ成熟分裂（減数分裂）に関しては、ウニ卵が成熟分裂完了後に産み出され、受精可能となることから、適切な材料ではなかった。

根本（鷲谷）節子

本報告で使用するヒトデ卵ははじめ多くの無脊椎動物卵は、成熟分裂過程の途中で受精可能となる（この点で、成熟分裂完了後に、初めて受精可能となるウニ卵は、特殊な存在である）。受精可能な時期は動物の種類によって決っていて、さまざまであるから、成熟分裂の多様な研究が期待されるところである。ところが、多くの無脊椎動物卵では、成熟分裂開始の引金を引く物質（ホルモン）が分からないことから、研究材料としての卵は自然放卵に頼るしかなく、研究は、自然状態での受精や発生の観察にとどまっていた。一九六九年に Kanatani ら [1] によって、ヒトデ卵の成熟分裂開始の引金を引くホルモンが同定され、*in vitro* で

成熟分裂を引き起こすことが出来るようになり、人工受精が可能となったことから、ヒトデ卵は一躍、成熟分裂を含めた、受精、卵割とその後の発生の研究に最適な材料となった。

成熟分裂(減数分裂)とは、卵形成・精子形成のときに限り起こる、体細胞の染色体数(二倍体)を半分の一倍体に減数するための特殊な細胞分裂で、卵成熟の場合、卵細胞に後の発生に必要な細胞質をできるだけ残すため、極体と呼ばれる小さな細胞を卵から放出し、その極体中に余分な染色体を捨てる。成熟分裂は、基本的には卵の分裂(卵割)を含む体細胞分裂と同質であるが、①細胞質が均等に配分されない極端な不等分裂であること、②連続する二回の分裂の間で染色体の複製、つまりDNA合成(S期)が起こらない、③その結果、成熟分裂完了後に卵内に残る染色体数(ゲノム数・C)は、第一次卵母細胞の四分の一、体細胞の二分の一になる点で、体細胞分裂と大きく異なる。細胞分裂周期の前期で停止していた第一次卵母細胞の成熟分裂を再開させる細胞質性成熟促進因子

(maturation-promoting factor; MPF)は、体細胞分裂の分裂期(M期)にもその存在が確かとなり、真核細胞に共通のM期促進因子(M-phase promoting factor; MPF)であることがあきらかにされた。さらに、MPFには、分裂酵母の細胞周期を制御するcdc (cell division cycle) 1-2遺伝子の生産するタンパク質(cdc2キナーゼ)が含まれていることが明らかにされるなど、MPFの分子の実体にせまる研究が、卵母細胞を用いて、体細胞分裂と減数分裂の共通性をあきらかにする方向で、盛んに行われている。しかし、細胞分裂としての成熟分裂の機構、及び体細胞分裂との相違点については、研究は進んでいない。連続する二回の分裂の間でDNA合成(S期)がなぜおこらないのか・どうして極端な不等分裂をするのか・特に不等分裂については、形成される星状体を含む分裂装置が卵割のそれと比較して極端に小さいのはなぜか・この分裂装置がどうして卵内の決まった位置に、しかも卵表直下に遍在して形成されるのか・これらを決定する情報がどこからくるのか・など基本的な点はまだ明

らかにされていない。

さて、分裂装置の大きさはともかく、等割・不等割およびその分裂面を決めるのは、分裂装置を形成し、分裂の極となる中心体である。また、Boveri [2] の提唱以来、成熟分裂終了後は、卵の中心体は失活あるいは消失し、受精後の卵割の分裂極となるのは、精子由来の父性中心体であると推定されている。詳細は「考察」で述べるが、筆者がヒトデ卵で行っている単為発生の実験結果も、成熟分裂終了後に卵中心体は複製能力を失うことを示唆している。

中心体は、直交する一对の中心粒とその周辺物質からなる細胞器官で、間期 (G_1 期) の細胞には一個存在する。一般の細胞分裂では、DNA 合成期 (S 期) に一对の中心粒はそれぞれ複製し、中心体が二個形成される。それぞれの中心体は分かれて分裂の両極を決定すると共に、分裂装置を形成する。Alberts 等 [3] の教科書ははじめ多くの教科書には、S 期の無い減数分裂期にも、通常の体細胞分裂と同様、中心体・粒が複製されると記載されている。筆者は、しかし、以上に述

べてきた事から、DNA 合成の伴わない細胞分裂時にはたして中心体・粒が複製されるのか、疑問を持ったので、減数分裂期の中心体・粒の挙動について、染色体の動きと関連させて調べた。

材料・方法

材料 イトマキヒトデ (*Asterina pectinifera*) の卵を用いて実験を行った。採集したイトマキヒトデは、 13°C ~ 15°C の低温水槽で飼育することにより、自然放卵をおさえ、かつ生殖期をひきのばすことができる。

ヒトデは五本の腕に二つずつの卵巣を持ち、生殖期にはヒトデ体腔内いっばいに卵巣が広がっている。卵巣には、巨大な卵核胞をもった第一次卵母細胞 (未成熟卵) が、いつでも成熟分裂を開始することのできる状態で、濾胞細胞に取り囲まれて存在する。自然状態では、ヒトデ成体の放射神経から生殖腺刺激ホルモンが放出され、卵母細胞を取り巻く濾胞細胞に働き、濾胞細胞から卵成熟誘起ホルモン・1 α -メチルアデニンが放出される。この二次ホルモン、1 α -メチルアデニ

ンは卵細胞質に成熟促進因子を形成させる。こうして卵巢内で成熟分裂を開始した卵は、濾胞細胞がはずれた後、放卵され受精を待つことになる。

未成熟卵の採取と成熟分裂の誘導 未成熟卵の採取は、Nemotoら〔4〕によって工夫された産卵の方法を用いた。まず、成体から卵巢を切り出す。切り出した卵巣片をカルシウム欠除海水に三〇分間浸しておくと、卵巢内で濾胞細胞と卵母細胞との結合が切れる。次に卵巣片をカリウムイオンを多く含む海水に移すと、卵巣壁が収縮し、濾胞細胞のはずれた卵母細胞が放出される。こうして得られた卵母細胞はすべて卵核胞をもつ未成熟卵(図1A)である。これを海水で二〜三回洗い、低温で保存するが、このままでは成熟分裂を開始することはない。採取された未成熟卵を、卵成熟誘起ホルモンである1-メチルアデニン(1 μ M)で二〇〜三〇分間処理し、成熟分裂を生体外で開始させる。

観察 生きてままの卵は、軽く押しつぶして核が

見えやすいようにし、明視野顕微鏡とノマルスキー式微分干渉顕微鏡で観察した。分裂装置や染色体の観察には、卵を成熟分裂開始から完了まで五〜一〇分ごとに固定・染色し、微分干渉顕微鏡で観察した。固定には酢酸-メチルアルコール(1:3)混合液を用い、染色には酢酸オルセインを用いた。また、中心粒の観察は1%オスミウム酸-1%グルタルアルデヒドの混合液で同時固定後、硝酸ウラニウムと酢酸鉛で染色し、Poly bed(812樹脂)に包埋後、0.1~0.15 μ mの厚さの連続切片にし、日立H-300透過型電子顕微鏡で行った。実験はすべて20℃~23℃で行った。

結果

未成熟卵は、第一成熟分裂前期で分裂を停止した状態にあり(図1A)、この時期の卵母細胞(第一次卵母細胞)は卵核胞と呼ばれる巨大な核を持つ。1-メチルアデニン処理後、二〇〜三〇分で核膜が消失して卵核胞が崩壊し(図1B)、成熟分裂を開始する。約五〇分後に卵表近くに第一減数分裂の小さな分裂装置が出

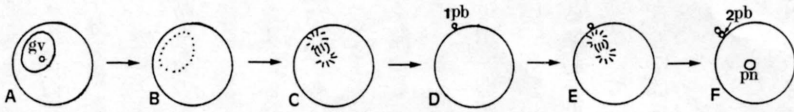


図1 成熟分裂

- A. 第1次卵母細胞 gv: 卵核胞 B. 卵核胞崩壊 C. 第1減数分裂の分裂装置
 D. 第1極体放出 1pb: 第1極体 E. 第2減数分裂の分裂装置 F. 第2極体放出
 2pb: 第2極体、pn: 卵前核

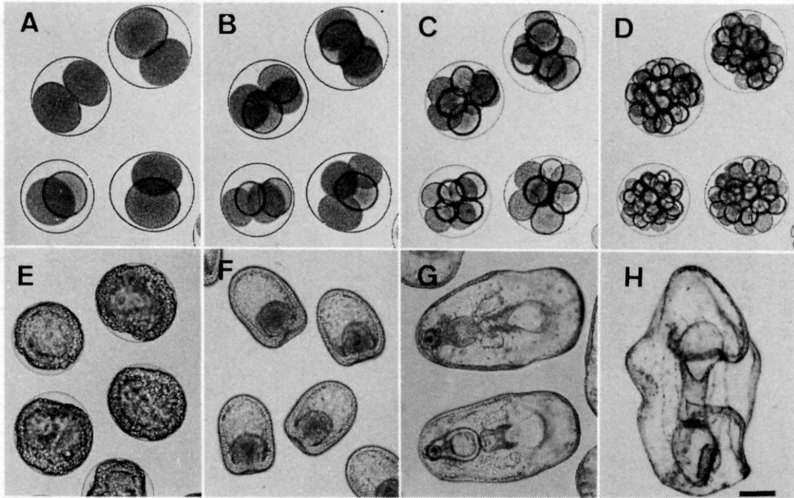


図2 イトマキヒトデ卵の発生

- A. 2細胞期 B. 4細胞期 C. 8細胞期 D. 32細胞期
 E. 皺胞胚期 F. 囊胚 G. 初期ピピンナリア幼生
 H. ピピンナリア幼生、スケール: 100 μ m。

現し(図1C)、その位置に細胞質の小さな膨らみ(突起)ができ、約六〇分後に第一極体が放出される(図1D)。分裂後、核は形成されることなく、約八〇分後には第一極体のすぐ下に再び第一減数分裂期と同じく第二減数分裂の小さな分裂装置が出現(図1E)、九〇〜一〇〇分で第二極体が放出される(図1F)。卵内に残った染色体は脱凝縮して、第二極体の下に卵前核が形成され、徐々に卵の中央に移動していく(図1F)。このようにして、卵成熟は完了する。受精は、成熟分裂を開始してから成熟分裂完了までの間ならいつでも可能である。そして、受精卵は成熟分裂完了に引き続き続いて第一卵割にはいる。図2に示した様に、ヒトデ卵は第一卵割以後等割を続け(図2A~D)、胞胚が皺になる皺胞胚期を経て(図2E)中空胞胚となり孵化する。続いて原腸が陥入して囊胚期(図2F)となる。二日目には口が開いた幼生(図2G)に、五日後、ピビンナリア幼生(図2H)となる。

染色体 イトマキヒトデの染色体数はObataと

Nemoto [5], ObataとMita [9], Washitani-Nemotoら [7]によって、 $2n=44$ であることがあきらかになっている。第一次卵母細胞の染色体は、DNA合成が行われて倍加した相同な染色体が対合して二価染色体(二本ずつの染色分体が対合した四分染色体)となっており、卵細胞崩壊時にはそれが凝縮して太い染色体が卵核胞の存在した位置にちらばって観察できる(図3A)。やがて染色体は卵表近くに集まり、小さな分裂装置ができ、第一成熟分裂中期をむかえる(図3B)。このとき四分染色体を22本観察することができる(図4A)。続いて対合していた染色体は二極にわかれる。それぞれの極に22本ずつの二分染色体を観察することができる(図3C)。続いて卵表に小さな突起ができ、卵表に近い方の染色体がこの膨らみにはいる(図3D)。この突起は五分間程でくびれ、第一極体が放出される(図3E)。第一極体には二分染色体が22本はいり、卵内に同じく22本の二分染色体が残る(図4B)。通常の体細胞分裂の場合に見られる核膜の形成はなく、卵内の22本の二分染色体は第一極体

(125) ヒトデ卵の成熟分裂における染色体と中心粒の挙動

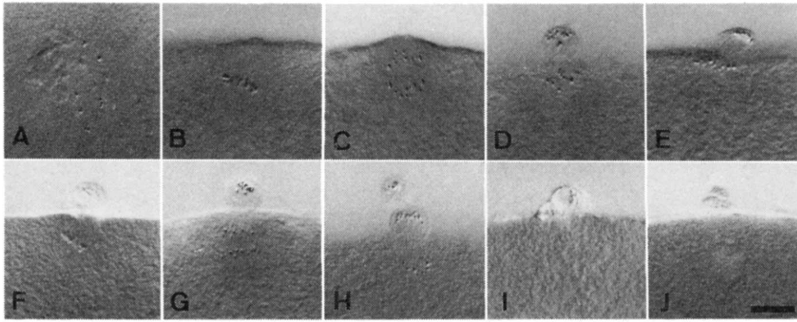


図3 成熟分裂中の染色体の挙動

- A. 卵核胞崩壊後(1-MeAde処理後30分)(図1Bに対応) B. 第1成熟分裂の分裂装置(40分)(図1C) C. 第1成熟分裂での染色体の分離(55分) D. 第1極体放出中(60分) E. 第1極体放出(70分)(図1D) F. 第2成熟分裂の分裂装置(75分)(図1E) G. 第2成熟分裂での染色体の分離(80分) H. 第2極体放出中(85分) I. 第2極体放出(90分)(図1F) J. 卵前核形成(115分)(図1F) スケール: 20 μ m.

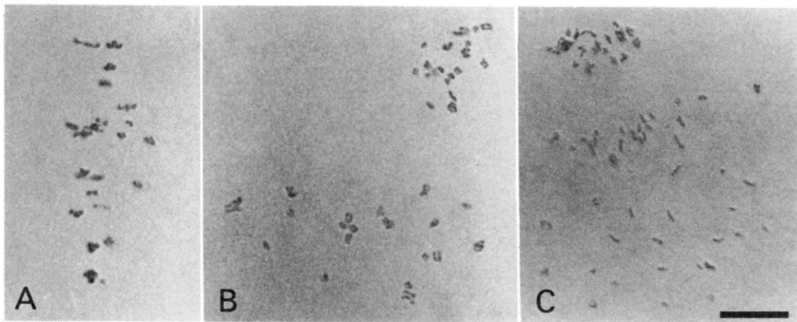


図4 染色体数

- A. 2 2本の4分染色体(図3Bに対応)。
 B. 2組の2 2本の2分染色体(図3Eに対応)、右上の1組が第1極体に入る。
 C. 4 4本(2 2本が2組)の1分染色体(図3Gに対応)、左上の染色体の塊は第1極体中のもので、中間のまとまった1組の染色体が第2極体には入り、下方の2 2本の1分染色体が卵に残る。スケール: 10 μ m.

のすぐ下に約一〇分後に並び、再び分裂装置ができる(図3F)。九〇分ころ(第一極体放出後約三〇分)染色体が二極に分離する(図3G)。この時それぞれの極に22本ずつの一分染色体が観察される(図4C)。続いて第一極体のすぐ下が小さく膨らみ、卵表に近い方の染色体がその中に入り(図3H)、その膨らみがくびれ切れて第二極体が形成される(図3I)。第二極体中に22本の一分染色体、卵内に22本の一分染色体が観察される。第一極体中の二分染色体は分離することなく凝集したままである。こうして、染色体は体細胞の持つ数の半数の22本の一倍体となり、卵の成熟分裂は完了する。卵核胞崩壊後この時期までずっと明確に観察できていた染色体は、やがて脱凝縮して細く長くなり、顕微鏡で観察することができなくなると、そこで、はじめて核膜が形成され卵前核となる(図3J)。第一成熟分裂終了後から第二成熟分裂開始までの間では、染色体は常に凝縮した状態にあり、染色体の脱凝縮や核膜形成は認められなかった。

中心粒 第一次卵母細胞(未成熟卵)は分裂前期にあり、中心粒は相同染色体対合に先立つDNA合成期に複製されているはずなので、二対四個存在すると考えられる。未成熟卵では、卵核胞の近くに一個確認出来た(図5)が、今回の研究では、二対四個の全てを確認するまでには至らなかった。しかし、第一成熟分裂の中期と後期に形成された分裂装置の両極の星状体中央部に、一対ずつの中心粒を確認することができた(図6aとd)。外側の星状体中の一対の中心粒のうち、一個は細胞膜に接する形で存在した(図6b)。また、一対の中心粒相互の位置関係は、通常の体細胞分裂の時と同様直交していた(図6aとd、bとc)。第一成熟分裂の終期には、一対の中心粒を卵内に、一対の中心粒を第一極体中に認めた(図7a)。従って、未成熟卵には二対四個の中心粒が存在することは、間違いないことと思われる。

第二成熟分裂の後期にすすむと、第一極体のすぐ下に形成される紡錘体の外側の極(図8b)と内側の極(図8a)には、それぞれ一個の中心粒しか存在しな

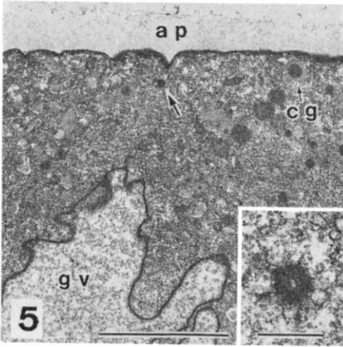


図5 未成熟卵の中心粒 (図3 Aに対応)

gv: 卵核胞、cg: 表層粒、ap: 動物極

矢印: 中心粒 スケール: 5 μm

挿入図は中心粒の拡大図、スケール: 0.5 μm

なお、図5以下図9までは [8] から引用した。

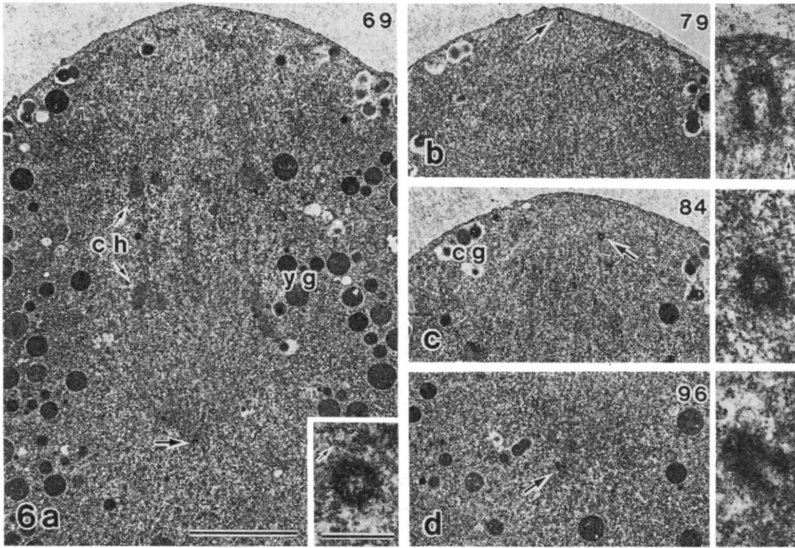


図6 第1成熟分裂装置の中心粒 (図3 B~Cに対応)

a. 内側の極の1個の中心粒 b. 外側の極の1個の中心粒

c. 外側の極のもう1個の中心粒 d. 内側の極のもう1個の中心粒

ch: 染色体、yg: 卵黄顆粒、cg: 表層粒、矢印: 中心粒、スケール: 5 μm。

図右上の数字は連続切片の番号、

各図に挿入されているのが中心粒の拡大図、挿入図のスケール: 0.5 μm。

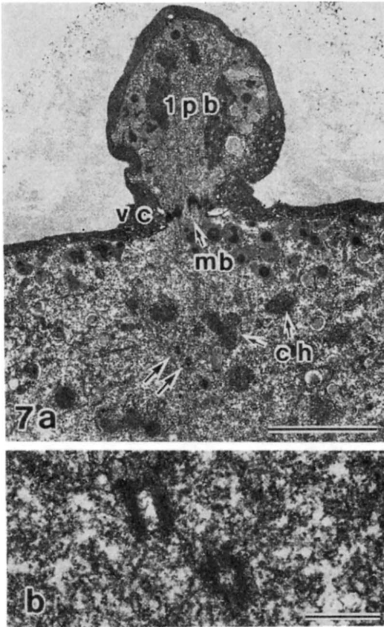


図7 第1成熟分裂終期の中心粒
(図3Eに対応)

- a. 第1極体と内側の極の1組の中心粒、
1pb: 第1極体、vc: 卵膜、
mb: 中央体、ch: 染色体、
矢印: 中心粒、スケール: $5\mu\text{m}$
- b. aの中心粒の挿入図(互いに直交している)、スケール: $0.5\mu\text{m}$

った。つまり中心粒は卵内に総計二個しかなく、複製されないことが、連続切片の観察からも確認された。この二つの中心粒間には、かなりの距離があるにもかかわらず、中心体中の一对の中心粒と同様、互いに直交する位置関係にある。また、この時期には、第一極体中の二個の中心粒は離れて存在することもわかった(図8cとd、図8右上の数字は連続切片の番号)。つまり、第二成熟分裂に同調して、第一極体内の一对の中心粒も単体に分離し、両極に移動する。第二成熟減数分裂終期に入り、卵表に近い中心粒は第二極体中に放出(図9a)され、成熟分裂終了後には一個の中心粒だけが卵内に残った(図9b)。

考察

今回の中心粒の観察では、注目すべき結果が得られた。まず第一成熟分裂の二つの分裂極には、通常体細胞分裂と同様に、それぞれ一对二個の中心粒が含まれるが、第二成熟分裂の両極にはそれぞれ中心粒は一個しか無いことが明らかにされた。そして、第一極体

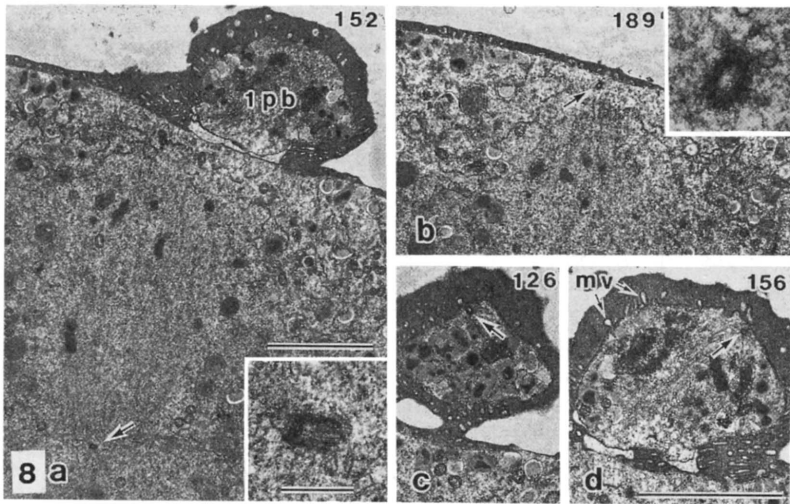


図8 第2成熟分裂の分裂装置(aとb)と第1極体の中心粒(cとd)(図3 Fに対応)

- a. 内側の極の1個の中心粒 b. 外側の極の1個の中心粒
 c. 第1極体中の1個の中心粒 d. 第1極体中のもう1個の中心粒

1pb: 第1極体、mv: 微絨毛、矢印: 中心粒、aとdのスケール: $5\mu\text{m}$ 。

挿入図は中心粒の拡大図、挿入図のスケール: $0.5\mu\text{m}$ 。

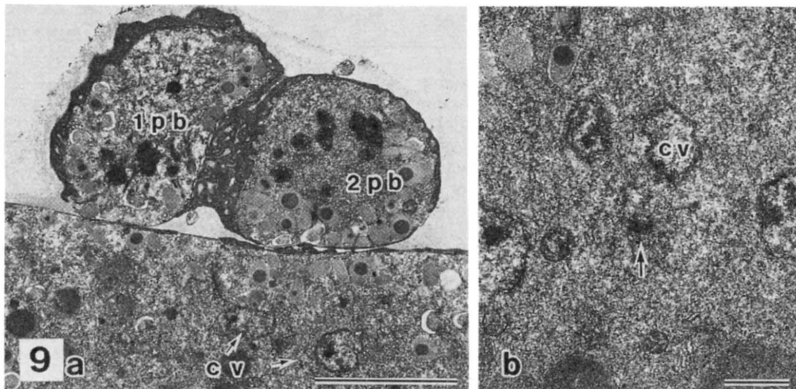


図9 極体を2個放出した卵(図3 Iに対応)

- a. 第1極体(1pb)と第2極体(2pb)、cv: 染色体胞、スケール: $5\mu\text{m}$
 b. 卵細胞質中の極体のすぐ下にある1個の中心粒、矢印: 中心粒、スケール: $10\mu\text{m}$ 。

の中には中心粒が二個含まれ、第二極体放出後の卵には、中心粒は一個だけ存在することも明らかになった。このことは二回の成熟分裂の過程で、中心粒の複製は起こらないことを示している。通常の細胞分裂では、分裂に先だってDNA合成と中心粒の複製が必要であるのに対し、成熟分裂は、染色体の複製のみならず中心粒の複製をも伴わない、極めて特殊な分裂であることが分かった。成熟分裂期には中心粒が複製されないというこの結果は、これまで多くの教科書に記述されている、第二成熟分裂時も中心粒だけは複製され、分裂の極を形成するという模式図が、ヒトデ卵においては誤りであると指摘できる。このことは、少なくとも無脊椎動物の成熟分裂一般に共通するものと思われる。また、このように、卵形成の過程で中心粒が一個になる現象は、成熟分裂終了後の精子がどれも一對の中心粒を持つようになる精子形成とは対照的である。

中心粒一個で分裂装置の極を形成できるのは、第二減数分裂のときだけである。これは図3、6と8をもみてもわかるように、大変小さい分裂装置だから可能な

のか、それとも、成熟分裂特有の細胞質の活性に原因するのかわからない。最近 Saiki と Hamaguchi [9] は、①ヒトデ卵の卵割期の中心体を、成熟分裂期の卵母細胞に移植すると、移植された中心体は卵割期の大きな星状体を形成出来ず、成熟分裂期の小さな星状体しか形成しないこと、②逆に、卵割期に移植された成熟分裂の中心体は卵割期の大きな星状体を形成することを報告しており、これらの結果は少なくとも分裂装置の大きさは細胞質が制御していることを示唆している。

次に、卵成熟分裂に関わった中心粒・体の運命については、Boveri [2] の言うように成熟分裂の完了後に全てが失活または消失するのか、あるいは成熟分裂の進行につれて、活性を失ってしまうのであろうか。この問題の解明には、人為単為発生の研究が有効であろう。ヒトデに話を進める前に、ウニの場合について考えてみたい。「はじめに」でも触れたが、ウニ卵母細胞の成熟分裂は卵巢内で完了し、放卵されるまでの間卵巢内に留まっている。このため生み出された未受精

卵には中心粒はないとみなされている「10」。従って、単為発生卵の分裂に関わる中心粒は新生されるものと思われる「11、12」。ウニ卵の単為発生率がきわめて低い（1〜3%）のは「13」、このことが原因と思われる。筆者の、ヒトデ卵の単為発生の研究によれば、ヒトデ卵では単為発生処理による発生率は90%を越える。ヒトデ卵では、単為発生と極体形成（成熟分裂の完了）とは互いに排他的な関係にある「5、7」。即ち、成熟分裂を完了してしまうと発生出来ないが、極体形成を阻害された卵は発生する。第一・第二両極体の形成を阻害された卵、即ち極体を一つも持たない卵（0 pb卵）と第一極体だけを持ち第二極体を持たない卵（1 pb卵）のみが卵割し、発生する。この結果は、ヒトデ卵の単為発生では、中心粒の新生は起こらず、成熟分裂に関わった中心粒（この中でも極体中に放出される運命にある中心粒）が、卵割の分裂極形成中心に転換したこと、即ち成熟分裂期の中心粒の全てが失活するのではないことを示唆している。

— どちらのタイプの単為発生卵も第一卵割は二等割で、

染色体数四倍体の胚を形成する。そして、四倍体になる準備はどちらも第一卵割までに完了する「5」。「結果」に述べたことから、0 pb卵は四個の中心粒と四倍体分（4C）の染色体数を、また1 pb卵は、二個の中心粒と二倍体分（2C）の染色体数を持っているはずである。したがって、両単為発生卵が第一分裂時に四倍体になるには、0 pb卵では一回目のDNA合成・染色体複製が第一卵割に結び付き、他方、1 pb卵では二回のDNA合成が必要なはずである。しかも、一回目のDNA合成は細胞質分裂を伴わないはずである。この推定は、染色体の挙動を調べた結果、確かめられた。第一卵割の分裂の両極には、正常受精卵と同様、それぞれ二個の中心粒が存在する（未発表）。もし、体細胞分裂と同じく、DNA合成期に同調して全ての中心粒の複製が起こるとすると、0 pb卵と1 pb卵のどちらも第一卵割時には八個の中心粒（四個の中心体）を持つことになるが、第一卵割は二等割なのでこのことはあり得ない。従って、図10に示したように、0 pb卵では四個の中心粒の内の二個が、1 pb卵では二個の中心粒

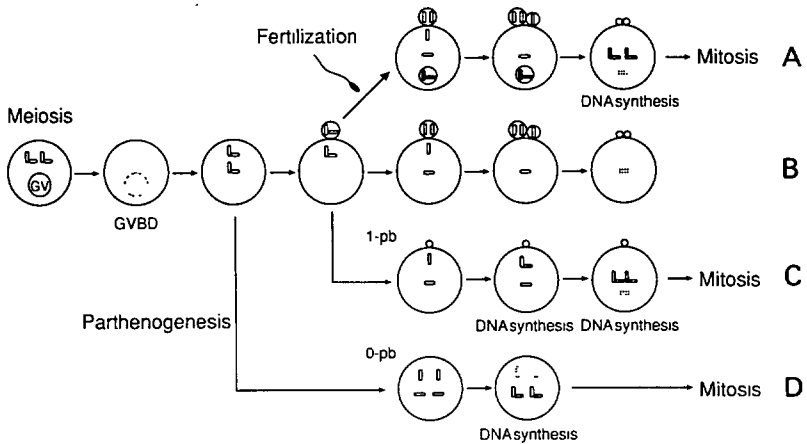


図10 受精及び単為発生卵における第1卵割までの中心粒の挙動の推定図

A. 受精卵 B. 成熟分裂 C. 単為発生(1pb)卵 D. 単為発生(0pb)卵

黒い中心粒：精子の中心粒、白い中心粒：卵母細胞の中心粒、

破線の中心粒：活性が消失した中心粒、斜線のはいった中心粒：複製された中心粒

の内の一個のみが複製能を保持していると考えられる。これらの中心粒は、それぞれ第一と第二極体中に放出される運命にある中心粒である可能性が高い。

単為発生に見られるように、卵細胞は元來発生能力を持っているものであり、成熟分裂とは、極体中に中心粒を放出するとき中心粒の活性に関わる因子をも捨て去り、受精により卵内に持ち込まれた父方の中心粒のみに卵割の分裂中心としての役割を保証するための分裂でもあるのかもしれない。このことは、進化の過程で、遺伝子の混合を目的とする受精を発生開始の機構として確立するため(卵独自では発生を開始しにくくするため)に必要なことであつたのであろう。自然界では、ごく少数の動物が正常な生殖の手段として単為発生を採用しているが、これは進化の原始的な形態を残しているのを見るよりは、むしろ、進化の過程で獲得した様式と思われる。

酸素呼吸をつかさどるミトコンドリアは、受精により卵内に持ち込まれた父方(精子)由来のものは消失し、すべて母方由来のものであることと比べると中心

粒は父方由来である点で興味深い。

今後は、単為発生系を手がかりにして、成熟分裂期の中心粒間の活性、複製能、分裂装置形成能の違いを調べ、卵中心粒の活性消失や受精による精子中心粒の活性化機構など、中心粒の活性を制御する機構を明らかに出来ればと願っている。

おわりに

この研究を進めるにあたって、常に励まし続けてくださった、一九九三年三月に退官された上坪英治先生に、深く感謝の意を表するものである。なお、本稿は加藤宏一、根本心一、日野昌也、斉藤千映美の各氏と行った共同研究の成果（一部は〔7〕〔8〕として発表した）をまとめたものである。最後に、実験を進めるにあたり多大な協力をしてくださったお茶の水女子大学館山臨海実験所のスタッフの皆様に感謝する。

(一九九三年六月)

文献

- [1] Kanatani, H. (1969). *Exp. Cell Res.* 57, 333-337.
- [2] Boveri, Th. (1887). *Sitz-Ber. Ges. Morph. Phys. Munchen.* 3, 151-164.
- [3] Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Watson, J. D. (1989). *Molecular Biology of The Cell.*
- [4] Nemoto, S., Yoneda, M. and Uemura, I. (1980). *Dev. Growth. Differ.* 22, 315-325.
- [5] Obata, C. and Nemoto, S. (1984). *Biol. Bull.* 166, 525-536.
- [6] Mita, I. and Obata, C. (1984). *J. Exp. Zool.* 229, 215-222.
- [7] Washitani-Nemoto, S., Saitoh, C. and Nemoto, S. (1991). *Biology of Echinodermata*; pp. 469-474.
- [8] Kato, K. H., Washitani-Nemoto, S., Hino, A. and Nemoto, S. (1990). *Dev. Growth Differ.* 32, 41-49.
- [9] Saiki, T. and Hamaguchi, Y. (1933). *Dev. Growth Differ.* 35, 181-188.
- [10] Sachs, M. I. and Anderson, E. (1970). *J. Cell Biol.* 47, 140-158.
- [11] Kato, K. H. and Sugiyama, M. (1971). *Dev. Growth Differ.* 13, 359-366.

- [2] Miki-Nounmura, T. (1977). *J. Cell Sci.* 24, 203-216.
- [3] Von Ledebur-Villiger, M. (1972). *Exp. Cell Res.* 72, 285-308.

(一橋大学助手)