

## 家兔胚における sex chromatin

## I. sex chromatin 染色核の局在性

利部 聡・星野忠彦・菅原七郎・竹内三郎

(東北大学農学部)

1949年, BARR & BERTRAM<sup>1)</sup> によって, sex chromatin が発見された。その後種々の動物で sex chromatin が認められ, 雌性動物の静止核にのみ見られることが確かめられた。

1967, 1968年, EDWARDS<sup>2,3)</sup> は, 雌性動物にのみ存在する sex chromatin を応用して性支配を試みている。すなわち, 彼らは 5.75 日令の家兎受精卵を用い, 受精卵の一部をきりとり, sex chromatin の有無により受精卵の性鑑別を行ない, これを他の家兎に移植して性支配が可能であることを報告している。

しかし, 受精卵から切りとる細胞数は 200~300 個位と多く, しかも sex chromatin 識別にも必ずしも満足な結果を得ていない。

筆者らは, 家兎受精卵の性鑑別をするのに先立って, 受精卵の発生のどの時期で, しかも受精卵のどの部位の細胞を切りとれば, 最も少ない細胞数で, 雌雄を鑑別できるかを調べることにした。また染色方法についても種々検討した。

## 材料と方法

実験動物: 供試動物として, 農家から購入し当研究室で 1~2 カ月飼養したもの, および, 当研究室で自家繁殖させた日本白色種の家兎を用いた。

受精卵の採取: 1) 自然交配, 2) PMS 25~30 I.U. (友田製薬のセロトロピン) で前処理し, 72 時間後に交配させ, ただちに HCG 20 I.U. (友田製薬のプベローゲン) を静脈注射, 3) 交配後 HCG 20 I.U. を静脈注射。これらの方法を時期により使いわけた。採取は卵管または子宮洗浄法, および菅原<sup>4)</sup>の方法によった。

Sex chromatin in rabbit embryos. I. Localization of sex chromatin positive nuclei.

KAGABU, Satoshi, Tadahiko HOSHINO, Shichiro SUGAWARA & Saburo TAKEUCHI (Laboratory of Animal Reproduction, Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai 980).

Jap. J. Animal Reprod. 16 (1), 1970.

受精卵の処理: 採取した受精卵をただちに室温の生理食塩液に 5 分間入れ, その後 2~3 時間 100% メタノールで固定した。固定した 5 日令と 6 日令の受精卵を Moog<sup>5)</sup>の方法によって花卉状にひらいた。また, 1 日令~4 日令の受精卵は, おしつぶし法を用いた。

Fig. 1 a) のように, 時計皿に 100% メタノールを入れ, カバーガラス (ここに用いるカバーガラスは, あらかじめ貼付液として 3%ゼラチンを塗り, 乾燥させ, 5% Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> に 2 時間入れ, 水洗したもの) の上に, 受精卵を内細胞塊を下方にしてのせる。なおこの際のメタノールの量は, 受精卵がちょうど半分位浸る程度がよく, 以後の操作が容易になる。

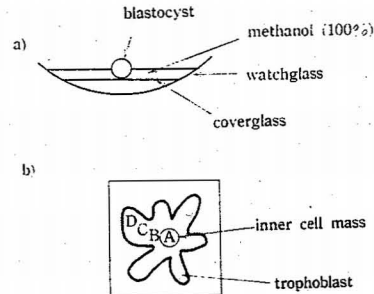


Fig. 1. Procedure for manipulation of blastocyst.

Fig. 1 b) のように, 花卉状にひらいた胚盤胞またはおしつぶした受精卵をカバーガラスにはりつけて, その上に 0.5% セロイジンで全体におおいをした。なお, 実験の途中で, セロイジン膜がはがれないように, この処理中, カバーガラスの周囲に卵白グリセリンを塗っておく。

染色には, Feulgen 反応, 1% の Aceto-orcein, 0.1% の Cresylechtviolett を用いた。

sex chromatin の存在の偏りについては, Fig 1. b) のように, A (内細胞塊), B, C, D の各部位にわけて, sex chromatin を有する核の出現率を接眼方眼測微計で調べた。

## 結果と考察

1. 染色所見: Feulgen 反応, Aceto-orcein, Cresylechtviolett で染色したが, 後二者は操作が迅速であったが検鏡時の像が鮮明でなく, 受精卵の性鑑別には良好でなかった。また, Feulgen 反応は, やや時間を要するが, sex chromatin と XY 染色体とを区別できた。この Feulgen 反応での加水分解は5分間がよい。

EDWARDS らは Aceto-orcein で染色し, 雄性受精卵にも, 3% の核に sex chromatin が見られると報告しているが, これは, おそらく, XY 染色体が特に強く染ったためであると考えられる。

## 2. sex chromatin の出現

Table 1 に示すように, sex chromatin が見られるのは5日令からである。これは交配後 1~4 日令の受精卵では, 静止核がとらえにくいことによると思われる。

Table 1. The relationship between the age of day and the appearance of sex chromatin in embryo

Day of age	No. of embryo existing sex chromatin/ No. of embryo examined
1	0/3
2	0/3
3	0/3
4	0/18
5	11/18
6	14/34

## 3. sex chromatin の存在の偏りについて

Table 2 に示すように, 5日令の受精卵では, 全体の 34.5% の核に sex chromatin がみられ, 6日令のものでは 51.2% の核にみとめられた。

また, 5日令, 6日令の受精卵について, 各部位における sex chromatin を有する核の出現率をみた。その結果を Table 2 に示した。5日令の受精卵ではA区とD区との間には有意差 ( $P < 0.01$ ) が認められ, 6日令の受精卵では, 各区とも同様な割合をみせた。

以上の結果から, 受精卵の性鑑別には, 交配後5日令か6日令の受精卵がよく, 性鑑別の材料としては, 5日令では, 内細胞塊に向い合う部分がよく, 6日令では, どの部位の細胞でもよいことがわかった。しかし, GARDNER ら<sup>3)</sup> によると内細胞塊をきざつけると, 正常な個体発生ができないので, その部分をさげなければならない。また, 最小限5コの細胞で性が見分けられるこ

Table 2. The results of examination for the presence of sex chromatin from the cell of each section in blastocysts

## A. 5-days blastocyst

No. of blastocyst	No. of existing sex chromatin/ No. of cells examined in each section of blastocyst				
	A	B	C	D	
1	31/150	39/150	50/150	53/150	173/600
2	29/150	72/150	72/150	78/150	251/600
3	63/150	65/150	58/150	73/150	259/600
4	33/150	26/150	37/150	59/150	155/600
5	49/150	51/150	37/150	61/150	198/600
	205/750	253/750	254/750	324/750	

## B. 6-days blastocyst

No. of blastocyst	No. of cells existing sex chromatin/ No. of cells examined in each section of blastocyst				
	A	B	C	D	
1	71/150	77/150	87/150	87/150	322/600
2	31/150	46/150	35/150	40/150	152/600
3	76/150	93/150	80/150	72/150	321/600
4	109/150	85/150	106/150	93/150	393/600
5	76/150	96/150	92/150	85/150	349/600
	363/750	397/750	400/750	377/750	

とがわかった。なお, 染色は Feulgen 反応がよい。

## 要約

受精卵の性鑑別を容易にするために, 家兎受精卵における sex chromatin の出現日令と, 存在部位の偏りを調べた。1~4 日令の受精卵では, 静止核がとらえにくく, sex chromatin がみられなかった。5日令では全体の 35.4% の核に, 6日令では全体の 51.2% の核に sex chromatin がみられた。また, 5日令と6日令の受精卵については, 卵を4区にわけ, sex chromatin を有する核の割合をみた。5日令ではA区(内細胞塊)とD区(内細胞塊に対する側)との間に有意差がみられた。受精卵の性鑑別には, 5日令と6日令のものがよく, 5日令では, 内細胞塊に対する側の細胞がよい。

(1970. 4. 20 受付)

## 文 献

- 1) BARR, M. L. & E. G. BERTRAM: *Nature*, 163,

- 676, 1949,
- 2) EDWARDS, R. G. & R. L. GARDNER: *Nature*, 214, 576, 1967.
  - 3) GARDNER, R. L. & R. G. EDWARDS: *Nature*, 218, 346, 1968.
  - 4) SUGAWARA, S. & E. S. E. HAFEZ: *Anat. Rec.* 158, 115, 1967.
  - 5) MOOG, F. & C. LUTWAK-MANN: *J. Embryol. exp. Morph.* 6, 57, 1958.

#### Summary

In order to facilitate the sexing of rabbit embryo, the appearance of sex chromatin and the localization of sex chromatin in blastocyst were investigated.

The results are summarized as follows:

1. Sex chromatin in fertilized ova was not observed from 1 to 4 days of age. It seems to be due to absent of resting-stage nuclei.
  2. Sex chromatin positive nuclei were observed 35.4% or 51.2% in blastocysts of 5 or 6 days of age, respectively.
  3. In 5 ages eggs, the localization of sex chromatin positive nuclei was observed, namely, the section of A (inner cell mass) was higher than the section of D (the area opposing to inner cell mass).
-