

# 細胞の概念

## 植物細胞培養研究者の立場から

馬 場 三 吾

高等植物の細胞は、それが柔細胞的な状態にある  
ものは受精卵と同じように考えても良いといえる。

この定義は、1976年7月、ワシントン大学（米国、シアトル市）の医学部において開催された「細胞の増殖と分化」のシンポジウムで筆者が行なった講演の結論である。動物細胞ではあとで述べるように、このように定義することは、現状では不可能であるため、動物細胞の研究者が多数を占めるワシントン大学の医学部のシンポジウムでは、反対意見も含めて非常な反響を呼び起こした。

然るに、同年8月、アイダホ大学（米国・モスコビー市）および、カリフォルニア大学（米国・パークレー市）の植物細胞培養研究者のグループの会合で、ほぼ同様な内容の講演を行なったが、多くの研究者から、上記の定義に全く同意見であるという反響を得た。

動物細胞培養研究者と植物細胞培養研究者の間で、細胞というものを考えるとき、何故このような違いが生ずるかは、すべて動・植物細胞の違い、ならびにそれらの細胞の培養結果の違いに由来する。

ここで改めて、動・植物の細胞の発見までさかのぼって細胞についての考え方の移り変わりを記載する。

細胞の発見は、ロンドンに住んでいたRobert Hooke（1635～1703）によ

って行なわれた。**Robert Hooke** (1665) は、顕微鏡を作成し、色々材料を顕微鏡でみているうちに、ニフトコの髄(コルク)やその他の植物組織は、小箱でできていることを観察して、この小箱に、**Cell** (細胞) という名を与えた。彼の細胞発見の直後にイギリスの **Grew** (1641~1712) は、**Visicle** (小胞)、**Bladder** (小囊) と呼んで細胞を観察しており、イタリーの **Malpighi** (1628~1696) も細胞を **Utriculi** (小囊) と呼んで、それぞれ植物体の構造の単位として認めている。彼等は、植物体は小箱または小袋から成っていると考えたが、箱または袋の外壁についてただけで、内容については全く見落している。

さらに、生物体がすべて、細胞を単位として成立っていると断定するまでになお170余年の歳月を経なければならなかった。

**Schleiden** (1804~1881) と **Schwann** (1810~1882) によって、それぞれ、植物体・動物体の単位は細胞であるということが、1838年・1839年に明らかに示されることになり、この考えを **Cell Theory** (細胞説) と呼ぶようになった。

細胞の増え方については、1830年から1840年の間に数人の学者によって、細胞が分裂によって増えるものらしいということが示された。細胞分裂の詳細は不明であったが、細胞は既存の細胞の分裂によってのみ増えることが、**Remark** (1841) によって強調され、この考えを支持する人が多くなり、遂に、ドイツの病理学者 **Virchow** は、**Omnis cellula e cellula**. (すべての細胞は細胞からくる) という主張を発表するようになった (1857, 1859)。

細胞分裂に先立って核膜や仁が消えるが、核の内容物が二つに分れることをドイツの **Hofmeister** (1848) は確信し、更に彼は現在染色体と呼ばれるものと同一物が両方の極に分けられることをムラサキツユクサの花粉母細胞で生体観察している。

**Remak** (1851) は細胞分裂時には、仁、核、細胞質はくびれによって二分すると報告し、細胞分裂に先立って必ず核分裂があることが明らかとなり、**Strasburger** (1844~1912) は核は既存の核からのみ由来することを明らか

にし、やがて、ドイツの細胞学者 Flemming は1882年に *Omnis nucleus e nucleo*. (すべての核は核よりくる) と述べるようになった。

ここで注意しなければならないのは、上に述べた細胞説の“すべての細胞は細胞からくる”という表現は、色々に解釈されるが、現在行なわれている動・植物の細胞培養のように、単一の細胞の分裂によって多くの細胞になるという意味までは含まれていない。ただ、細胞の内側に新しい細胞ができてくるとか、あるいは、細胞以外のものからはできてこないという意味であった。

Robert Hooke の発見した細胞は、既に述べたように、細胞膜とその部屋の空間で細胞の中味については、みていないわけである。しかし、細胞の中味については細胞の生活の行なわれている部分として関心が引かれるようになり、Amici (1819) その他がシャジクモなどで原形質流動を観察している。

Von Mohl (1844) は植物の細胞の生活の行なわれる単位として“*Protoplasma*”という言葉を用いた。Felix Dujardin (1801~1860) は下等動物の生活の単位として“*Sarcode*”という言葉を用いて1835年発表している。細胞の生活の単位として *Protoplasm* すなわち原形質の重要であることは Payen (1846) や Cohn (1850) などによって認められ、更に、動物細胞の *Sarcode* と植物細胞の *Protoplasma* は根本的に同一のものであると結論するようになった。1861年 Max Schultze が生物の生活物資の単位は原形質で、この物質は、一般に、すべての細胞において同一であると発表している。このような多くの研究報告の結果、原形質の発見から細胞についての定義に多くの研究者の合意がみられるようになり、続いて、細胞分裂についての数多い報告がなされるようになった。

細胞の定義が確立された後の細胞の研究の歴史については、ここでは詳細に述べるのを避け、山羽儀兵の細胞学の発展の展望は妥当と考えられるので、それをここに紹介する。

山羽 (1933) は「一般細胞学」において細胞学の発展の歴史を5つの時期に区別している。第1期は1665~1835年で Robert Hooke の細胞の発見から

SchleidenおよびSchwann（1838, 1839）の細胞説の提唱までとし、第2期は原形質の発展から細胞の定義がほぼ定まって細胞分裂についての研究の行なわれた1835～1865年の間の時期である。第3期は1865～1900年で、細胞学的に微細構造の研究が進み、染色体や細胞分裂・核分裂、受精など問題が研究された時期である。第4期は1900～1920年で、Mendel 法則の再発見によって遺伝学は非常に進歩し、細胞学と遺伝学とは結びつき、染色体についての研究も、いちじるしく進歩した時代である。第5期は1920年以後で、実験細胞学が大いに進み、原形質についての学問、すなわち原形質学(Protoplasmics)が発展した。同時に固定染色した材料による観察は、再び生体観察にもどる傾向となったが、観察方法は非常に進んだ時期である。

以上は山羽の著書から引用したものである。（当時、日本の細胞学の権威の1人であった山羽は、まことに惜しいことであるが、1940年代の終わり頃、〔年月不詳〕事故のため他界している。）

上記の山羽の細胞学の歴史のいわゆる第5期は、1950年代の初期に、電子顕微鏡が細胞の研究に用いられるようになって、細胞学の黄金時代が1960年代の初期まで続くことになる。この時期は“細胞の分裂”言いかえると細胞の増殖の研究が焦点であって、細胞の分裂（増殖）過程における超微細構造（電子顕微鏡による細胞の構造）の研究が盛んに行なわれた時期である。この時期に動・植物の細胞の構造は非常に明瞭になってきた。これらの基本構造については次の項でまとめて述べる。

若し山羽が現在まで健在であったならば、細胞学の歴史の第6期として記載するであろうと考えられる現在の細胞の研究は、これを大きく分けると、一方では、1960年の中頃から“細胞分裂”の研究が“細胞の分化”の研究に移りかわってきている。また、他方では、動・植物の細胞を培養して増殖させ、それがどのように分化するかという方向に研究が進められている。

動・植物の細胞の構造を説明するに際して、動・植物に共通な細胞の基本構造と、動物と植物で異なる構造に分けて記載する。

細胞という言葉は広く使われているが、ふつうは、「原則として、1個の核

をもち、他から区画された原形質の塊」と定義されている。明確な核をもたない細菌類・ラン藻類など前核生物もあるが、ここでは核と細胞質がはっきりと分化している一般的な真核生物についての構造を述べる。

細胞の外側には細胞膜がある。細胞膜に包まれた内部の部分は原形質からなり、原形質は細胞質と核に分化している。

光学顕微鏡による観察では、細胞質は透明か半透明の細胞基質と、その中に埋っているミトコンドリアなどの顆粒よりなっている。電子顕微鏡を用いて観察すると、複雑な内部構造をもつミトコンドリアの他に、小胞体と呼ばれる膜様構造、ゴルジ体、微小管、脂肪粒、微細繊維などがみられる。またリボゾームが細胞基質中に散在したり、小胞体の膜に付着して存在している。

核の構造は光学顕微鏡による観察では核は一重膜で覆われているみえるが、電子顕微鏡では核膜は二重構造で、ところどころに核膜孔という穴があり、また核膜の外膜の一部は突出して小胞体と連絡している。核内にある仁（医学関係では核小体と呼ぶことが多い）は、微少な顆粒が集まっていて、それらの顆粒の外側には膜がない。

ここで上述の細胞内の小器官の機能を簡単に記載しておく。

ミトコンドリア：高濃度の磷脂質と蛋白質を含み、細胞呼吸に関係ある酵素のほか、細胞が生きているのに必要な酵素類を含み、細胞の酵素の倉庫である。

小胞体：小胞体には、表面にリボゾームの顆粒がついた粗面小胞体と、リボゾームの顆粒がついていない滑面小胞体とがある。リボゾームは蛋白質合成の場であり、リボゾームで合成された蛋白質は小胞体の胞内を通して移動する。

ゴルジ体：蛋白質と脂質が主成分で、フォスファターゼなどの酵素を含み、細胞内の糖代謝と関係がある。

核：核酸（DNAとRNA）、塩基性蛋白質、非ヒストン型蛋白質などを含む。核の中の染色糸がその細胞の遺伝情報をもっており、その情報は細胞質内のリボゾームで合成される蛋白質へ伝えられる。

植物細胞では原形質膜の外側にセルロースを主成分とする厚い細胞壁があること、また色素体（葉緑体、白色体などプラスチドと呼ばれているもの）が存在すること、また、成長した細胞では細胞質中に大きい液胞が存在する。

一方、動物細胞では細胞質中に中心体が存在し、グリコーゲン粒などがみられることが特徴である。

動・植物の細胞の構造上の決定的な違いは上に述べた通りであるが、他にも若干の違いはあるが、この論文の主旨とは直接のかかわりが殆んどないと考えられるので省略する。

この論文の最初に、“高等植物の細胞が柔細胞的な状態にあるもの…”と記載しているが、この定義の柔細胞的というところに重要な意味がある。柔細胞とは核と細胞質が細胞壁内を満たしている細胞である。たとえば表皮細胞、木部の道管（または仮道管）細胞、および木部繊維細胞、師部の師管細胞および師部繊維細胞などのように、極端に細胞の分化が進んでいるものは細胞の核が退化して存在していない。このような細胞は柔細胞とは呼ばないし、またこのように完全に分化した細胞は細胞培養により増殖させることは不可能である。

細胞の培養を書く前に、若干植物細胞培養の歴史について述べる。意識的に植物の細胞・組織を分離して培養しようとしたのは、Haberlandt(1902)である。彼は Schleiden および Schwann (1838, 1839) らの細胞説の観点に立って、細胞のレベルまで下げても、その分裂能力は失われないという、当時としては非常に独創的な考えのもとに行なった。特に、葉緑体のある細胞を用いて、その細胞の光合成によって炭水化物の補給を省き得ると信じて培養実験を行なった。オドリコソウの葉肉細胞、ムラサキツユクサの雄ずいの毛、気孔の孔辺細胞などを材料として培養したが、いずれも失敗している。ここで注目すべきは、先にも述べたように、雄ずいの毛および孔辺細胞のように極端に分化した細胞は、そのままの状態では、特殊な処置をしない限り分裂能力を欠いていることに気付かなかったためである。

Haberlandt の細胞・組織培養とはほぼ同じ頃から、動物の細胞・組織培養

も胚の抽出物質を培地に供給するなどして、次第に培養法の基礎が確立されてきた。

その後、植物の分野では **White (1934)** がトマトの根を材料にして、酵母菌の抽出物を培地に加えることにより長期間にわたる継代培養に成功している。彼は生理的障害を与えず、また、根という性質・形態を失わずに無限生長という細胞・組織の培養の当面の目的を達成した。ここで注目すべき点は、根の細胞・組織の増殖（分裂）の実験に成功したという事実であって、分化を誘導したのではないということである。植物細胞培養の分野ではその後、多くの人が植物の各種の器官を用いて培養（増殖）の実験に成功している。

植物を用いて増殖および分化の研究にはじめて成功したのは **Steward et al. (1958)** である。彼らはニンジン（ダイコン）の根の師部の柔細胞組織を液体培地中で回転培養して遊離の単細胞（柔細胞）を得、その単細胞から不定胚をつくり、更に、完全なニンジン（ダイコン）の一個体にまで培養することに成功した。この培養の培地にココナッツ（ココナツ）の実から採ったココナッツミルク（胚乳液）が加えられていたのだが、培養に成功した重要な要因の1つである。ココナッツ胚乳液に植物生長調整物質（一般に植物ホルモンという）の1つであるサイトカイニン（細胞分裂促進物質）が含まれていたためである。すなわち、細胞培養の培地中にサイトカイニンの濃度を高めることは細胞培養によって増殖した細胞群—通常、これをカルスという—の分化、言いかえるとカルスから芽や根が分化してできて、やがて、一個体のニンジンとなったのである。

**Skoog and Miller (1957)** はタバコの髓から採った柔細胞を培養したとき、異なった作用をする植物生長調整物質のオーキシシンとサイトカイニンの培地中における濃度の比率を変えることにより異なった細胞分化の結果を観察している。培地に1リットル当り2ミリグラムのオーキシシン（**IAA**）と0.02ミリグラムのサイトカイニン（**Kinetin**）を加えると、細胞分化が行なわれず、カルスばかりができてくる。しかし、オーキシシンに対するサイトカイニンの濃度の比率の変化、たとえば、サイトカイニンの濃度を高くするとカルスから芽（苗条）が分化して形成され、また、サイトカイニンの濃度を低

くするとカルスから根が分化して形成されてくる。このように、オーキシシンとサイトカイニンの間の定量的関係によって、細胞分化（形態形成）が外部から制御できる。

動物細胞の培養は、増殖（分裂）は各種の細胞・組織で行なわれているが、動物細胞は増殖しても、その細胞の由来する組織の性質を失わない。この点が、植物細胞の場合と非常に異なる。たとえば、高等動物の上皮細胞を培養してみると細胞は分裂して増殖するが、新しく増殖したすべての細胞は、上皮細胞の性質をもっている。要するに、上皮細胞を培養しても上皮細胞が、“分裂”してできてくるだけで、他の組織に変わるという細胞の“分化”の現象はおこらない。しかも動物細胞の増殖は、静置培養の際、シャーレの底に培養物質を含んだ寒天培地の中央で培養すると、植物細胞のように細胞の塊（カルス）ができるのとは異なり、寒天培地の上を這うように一層の細胞が広がってくる。このように、動物細胞は培養しても、その細胞の本来の性質を失わないというのが特徴であって、まさに読んで字の如く、動物細胞というものは、保守的である。

植物細胞が動物細胞と非常に異なっている点は植物生長調整物質であるオーキシシンやサイトカイニンなどの低分子の化合物によって細胞の増殖・分化が行なわれ（カルス誘導）、カルスの細胞から再び芽・根などの形成（再分化）をおこすことである。

このように、細胞の増殖（細胞分裂）と細胞の分化が行なわれて、それによってできたカルス（増殖・分化の結果できた細胞の塊）から、芽や根が形成され（カルス細胞の再分化）、最後には一個体の植物ができるのは、この論文の始めに書いた定義のように、植物の柔細胞の培養に限定される。

上述のような研究の結果から、高等植物の細胞は、それが柔細胞的な状態にあるものは受精卵と同じように細胞の分化をおこして、その細胞が由来する植物の一個体まで、植物性長調整物質（植物ホルモン）を用いて、培養することが可能である。

動物細胞は、植物細胞と異なり、一度細胞分化すると、その細胞の由来す



る組織から他の組織への分化および再分化はみられない。このような事実から、植物の細胞・組織が細胞分化の研究に好適な研究材料であると言うことができる。

現在、動・植物の細胞培養で用いられている多くの培地のうち、動・植物細胞・組織のもっとも代表的な培地についてその組成をそれぞれ末尾に記して筆をおく。

◎動物細胞・組織培養の培地

Eagle & Nagle Jr. の solution (1959, 1963)

成 分	Eagle (1959)	Nagle, Jr. (1963)	成 分	Eagle (1959)	Nagle, Jr. (1963)
L-アミノ酸類			炭素源		
Arginine	105	100	Glucose	1000	1000
	mg/ℓ	mg/ℓ		mg/ℓ	mg/ℓ
Cystine	24		Na. pyruvate		110
Cysteine		75	ビタミン類		
Glutamine	292	450	Biotin		1
Histidine	31	60	Choline	1	1
Isoleucine	52	150	Folic acid	1	1
Leucine	52	300	Inositol	2	1
Lysine	58	300	Nicotinamide	1	1
Methionine	15	60	Pantothenate	1	2
Phenylalanine	32	120	Pyridoxal	1	1
Threonine	48	135	Riboflavin	0.1	0.1
Tryptophan	10	60	Thiamine	1	1
Tyrosine	36	120	Vitamin B <sub>12</sub>		0.002
Valine	46	150	その他		
			Methylcellulose, 15 cps		1000
塩 類			Insulin		200
NaCl	6800	7400			単位/ℓ
KCl	400	400	Penicillin	100,000	100,000
CaCl	0	200		単位/ℓ	単位/ℓ
	(200*)		Streptomycin	50	100
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	200	275	Phenol red	5	10
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	1500	100	血清タンパク質		
	(150*)		Whole or	5~10%	
NaHCO <sub>3</sub>	2000	500	dialyzed serum		

## ◎植物細胞・組織培養の培地

## Murashige &amp; Skoog's solution (1962)

## A. Mineral salts

$\text{NH}_4\text{NO}_3$	1650mg/ℓ	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.6
$\text{KNO}_3$	1190	KI	0.83
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	170	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{H}_3\text{BO}_3$	6.2	$\text{Na}_2\text{-EDTA}$	37.3
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.3	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8

## B. Organic constituents

Sucrose	30g/ℓ	Agar	10g/ℓ
Edamin	1g/ℓ	myo-Inositol	100mg/ℓ
Glycine	2.0mg/ℓ	Nicotinic acid	0.5mg/ℓ
Indoleacetic acid		Pyridoxine-HCl	
	1-30mg/ℓ		0.5mg/ℓ
Kinetin	0.04-10mg/l	Thiamine·HCl	0.1mg/ℓ
(pH adjusted to 5.7~5.8 with HCl.KOH or NaOH)			