第45回日本原生動物学会大会講演要旨

口頭発表

- 1) ミトコンドリア内在性ヌクレアーゼはテトラヒメナのプログラム核死の主要な実行因子である 長田 恵梨子
- 2) 接合中のテトラヒメナにおけるミトコンドリアの分裂と死永島 磨衣. 遠藤 浩
- 3) ゾウリムシの接合型物質の研究: 交配反応活性特異的繊毛膜タンパク Hp-1 の全塩基配列 千葉 祐太. 芳賀 信幸
- 4) 繊毛虫 Colpoda cucullus タンパク質発現の脱シスト誘導依存的な変更 十亀 陽一郎、小嶋 克彦、竹下 敏一、木下 英司、松岡 達臣
- 5) 粘液多糖類を含む繊毛虫 Colpoda cucullus におけるタンパク質解析:シスト誘導細胞における SDS を含むサンプルの二次元電気泳動 望月 賢, 十亀 陽一郎, 松岡 達臣
- 6) ミドリゾウリムシの増殖を制御するレタス培地中に存在する因子の解析 山新 良彦, 平木 英志, 鉄川 公庸, 安達 由加, 松原 康介, 濱生 こずえ, 細谷 浩史
- 7) 電極距離に依存したユーグレナの電磁場内での電気的応答 陳 林. 洲崎 敏伸
- 8) 活性汚泥から分離した Bodo saltans の食性 白川 百合惠, 西村 修, 須藤 隆一
- 9) 新規ミドリハリタイヨウチュウ Raphidiophrys sp. の形態観察 早川 昌志, 松元 里樹, 洲崎 敏伸
- 10) シロアリ生殖虫と腸内原生生物の共生関係-腸内鞭毛虫は成熟した女王と王には存在しない-嶋田 敬介, 北出 理, 前川 清人
- 11) ラクリマリアのプロボーシスの伸縮機構 梁瀬隆二, 西上幸範, 新免輝男, 園部 誠司
- 12) 粘液繊維の挙動から考察されるイカダケイソウの滑走運動モデル 山岡 望海, 末友 靖隆, 新免 輝男, 園部 誠司
- 13) Amoeba proteus のアメーバ運動における膜および細胞質動態の三次元解析 谷口 篤史, 西上 幸範, 小林 弘子, 高尾 大輔, 新免 輝男, 野中 茂紀, 園部 誠司
- 14) テトラヒメナ・フォルミンの局在性とその性状 武内 史英、沼田 治
- 15) クラミドモナス鞭毛基部体異常突然変異株を用いた 9 + 2 構造の構築機構と機能の解析 中澤 友紀, 有吉 哲郎, 神谷 律, 廣野 雅文
- 16) Amoeba proteus イノシトールリン脂質特異的ホスホリパーゼ C (PI-PLC) の構造と性質 八木澤 仁, 堀江(新木)良子, 赤羽(前田)佳祥子, 新免 輝男, 園部 誠司
- 17) イマチュリン遺伝子の全塩基配列: ゾウリムシに性的若返りを誘導する遺伝子の内部構造 芳賀 信幸, 臼井 利典, 阿部 知顕

- 18) テトラヒメナにおける核膜孔複合体タンパク質の網羅的探索 岩本 政明, 小坂田 裕子, 森 知栄, 長尾 恒治, 小布施 力史, 平岡 泰, 原口 徳子
- 19) 日本の土壌有殻アメーバ相の再評価 Anatoly BOBROV, 島野 智之, Yuri MAZEI
- 20) ミドリゾウリムシ体内に蓄積する遊離糖類 細谷 浩史, 氏弘 一也, 平木 英志, 鉄川 公庸, 山新 良彦, 安達 由加, 松原 康介, 濱生 こずえ
- 21) 電子線トモグラフィーと連続切片法により確認されたミドリゾウリムシの共生クロレラ胞と ミトコンドリアの特異的結合 ソン チホン. 洲崎 敏伸
- 22) テトラヒメナの生殖核の新しい染色体数削減方法の開発と得られた nullisomic, unisomic 株を使った減数分裂染色体の配列観察 菅井 俊郎, 梶原 千愛
- 23) 国内と畜馬肉および輸入馬肉中における Sarcocystis 汚染実態調査 八木田 健司
- 24) スパズミン Ca²⁺ 結合エネルギーのスパコネクチンへの移行メカニズム 浅井 博、森山 泰誉

ポスター発表

- P1) アメーバ運動における糖衣の機能 西上 幸範, 柴田 理恵, 谷口 篤史, 新免 輝男, 園部 誠司
- P2) *Craticula* sp.(ガイコツケイソウ)からのアクチンフィラメントの単離 岸本 有加, 山岡 望海, 新免 輝男, 園部 誠司
- P3) ハリタイヨウチュウの急速な軸足収縮時における超微構造の変化 井上 理佐, 枝松 緑, 安藤 元紀
- P4) Bodo saltans を用いた微生物由来抗トリパノソーマ活性物質の探索 角谷 幸一郎, 今村 信孝
- P5) 明暗サイクルが関与するヤコウチュウの配偶子形成細胞への分化 北村 拓海, 遠藤 浩
- P6) テトラヒメナによる異種タンパク質分泌系の構築 増田 光平, 遠藤 浩
- P7) GFP 標識酵母を用いたミドリゾウリムシの食作用の測定 三浦 貴士, 岩井 草介
- P8) ヨツヒメゾウリムシの繊毛運動における二頭内腕ダイニンの役割 加藤 拓也, 堀 学, 井上 桂那子, 久冨 理, 野口 宗憲
- P9) 日本産ミドリゾウリムシ共生藻のマルトース放出機構の解明 柴田 あいか、今村 信孝
- P10) 繊毛虫 Blepharisma japonicum の培養法の再検討と小核単離法の確立 國谷 亮太, 遠藤 浩

- P11) 繊毛虫ブレファリズマの種分化における交配フェロモンの役割 小林 真弓, 篠原 きよの, 田草川 真理, 春本 晃江
- P12) 繊毛虫の翻訳終結因子(eRF1)における終止コドン認識に関わるアミノ酸残基の解析 李 英, キム ワン, ド ティ ホン, Adriana VALLESI, 春本 晃江
- P13) 繊毛虫 Blepharisma における野外株の種の同定と COI 遺伝子を用いた分子系統解析 篠原 きよの、小林 真弓、春本 晃江
- P14) ゾウリムシニッケル誘導遺伝子の単離と発現解析 竹中 康浩, 芳賀 信幸, 井上 郁夫
- P15) ミドリゾウリムシの定常期における性質 岩井 草介, 三浦 貴士
- P16) イエシロアリの共生原生生物群集の種組成と群集構造 北出 理
- P17) ミドリゾウリムシを用いた放射性セシウム汚染土壌の新規処理法 吉村 知里, 洲崎 敏伸

ミトコンドリア内在性ヌクレアーゼはテトラヒメナの プログラム核死の主要な実行因子である

長田 恵梨子

(金沢大・院自然・生命科学)

[要旨] 繊毛虫テトラヒメナの接合過程において、減数分裂核と親世代の旧大核はそれぞれ異なるステージで退化する. 現在までに、旧大核の退化には AIF や EndoG 様ヌクレアーゼなどのミトコンドリア因子が大きく関わっていることが示唆されている. 私は以前同定したミトコンドリア内在性ヌクレアーゼに着目し、候補遺伝子の KO 株を作成して接合過程を観察した. KO 株では、減数分裂核の退化が阻害され、旧大核の退化の進行が遅延した. このことは、このヌクレアーゼがテトラヒメナの核退化の主要な実行因子の一つであることを示唆している.

接合中のテトラヒメナにおけるミトコンドリアの分裂と死 $^{\,\,\,}$ 永島 $^{\,\,}$ 唐 $^{\,\,}$ な $^{\,\,}$

(1金沢大・理工,2金沢大・院自然)

[要旨] テトラヒメナの接合過程では、新世代大核の分化と同時に親世代大核の選択的退化が起こる.このプログラム核退化の過程では多くのミトコンドリアが膜電位を失い、死に至る.この時ミトコンドリア数は著しく減少するのか、あるいは mtDNA の複製と分裂によりその数を維持するのか明らかになっていない.エチジウムブロマイド (EtBr) は、原核細胞の DNA polγの阻害剤で、mtDNA の複製を阻害することが知られている.そこで接合中のテトラヒメナを EtBr で処理したところ、核退化の遅れや核数の異常が観察された.

ゾウリムシの接合型物質の研究: 交配反応活性特異的繊毛膜タンパク Hp-1 の全塩基配列

千葉 祐太, 芳賀 信幸

(石巻専修大・院理工)

[要旨] ゾウリムシは接合の初期過程である交配反応において、繊毛膜に存在する接合型物質とよばれるタンパク質によって相補的な性を認識する、とされている。本研究では、交配反応活性を発現したゾウリムシから調製した繊毛膜分画に特異的に現れるポリペプチドの選定を行った。このポリペプチドの部分アミノ酸配列情報を基に、コードする遺伝子の全塩基配列の決定を行った。この遺伝子は Protein kinase C ドメインを N 末端側に、カルシウムイオン結合領域である EF-hand モチーフを C 末端側にもつタンパク質をコードする新規のものであった。

繊毛虫 Colpoda cucullus タンパク質発現の脱シスト誘導依存的な変更 +亀 陽一郎¹,小嶋 克彦²,竹下 敏一²,木下 英司³,松岡 達臣¹ (「高知大・理・生物科学,²信州大・医・免疫・微生物,³広島大・院医歯薬・ 医薬分子機能)

[要旨] 脱シストは、休眠シストが外部環境の好転に速やかに応答し栄養細胞の再構築プロセスである. 我々は繊毛虫コルポーダ (*Colpoda cucullus*) を用い、脱シスト初期過程のタンパク質発現変化を継時的に解析した. その結果、脱シスト誘導わずか 10 分で 60 kDa タンパク質が一時的に発現し、誘導後 1 時間で 49 kDa タンパク質が消失するとともに、50 kDa タンパク質が発現することを発見した. 本発表では、マススペクトル解析によるそれらのタンパク質の同定と脱シストにおける役割について考察する.

粘液多糖類を含む繊毛虫 Colpoda cucullus におけるタンパク質解析:シスト誘導細胞における SDS を含むサンプルの二次元電気泳動

望月 賢, 十亀 陽一郎, 松岡 達臣

(高知大・理・生物科学)

[要旨] 二次元電気泳動法は、ポストゲノム研究を支える重要な分析技法の 1 つであるが、繊毛虫 *Colpoda cucullus* に含まれるある種の成分は、二次元電気泳動における一次元目の泳動(等電点電気泳動; IEF)を著しく妨害する。サンプルのリゾチーム処理実験の結果から、この妨害因子はムコ多糖類であることが示唆された。さらに、サンプルを SDS で前処理することにより、*Colpoda* タンパク質のフォーカシングの改善がみられたので、この手法を用いてシスト誘導依存的なタンパク質の発現解析を試みた。

ミドリゾウリムシの増殖を制御するレタス培地中に存在する因子の解析 山新 良彦,平木 英志,鉄川 公庸,安達 由加,松原 康介,濱生 こずえ,細谷 浩史 (広島大・院理・細胞生物)

[要旨] ミドリゾウリムシは、レタスなどの植物材料の抽出液にバクテリアを加えた培養液を用いて培養する 事が一般的である。しかしこれらの培養液のどの成分がミドリゾウリムシの増殖に影響を与えているか解明 されていないのが現状である。今回我々は、煮沸したレタスとしないレタスを用いて作成した培養液に含ま れる糖量を比較した。また、これらの培養液にバクテリアを加え、その増殖速度および培地中の糖濃度を明 らかにするとともに、さまざまなタイミングでミドリゾウリムシを加えその増殖速度を測定したので、得ら れた成果について報告する。

電極距離に依存したユーグレナの電磁場内での電気的応答

陳 林, 洲崎 敏伸

(神戸大・院理・生物)

[要旨] 非侵襲的な手法である誘電解析法は、細胞や組織の電気的特性を高感度に検出する方法である.この方法を用いれば、水中に存在する有害物質を高感度かつリアルタイムで検出することが可能となる.今回は、ユーグレナ Euglena gracilis の示す誘電特性を、平行版コンデンサー型の測定セル(電極間距離 8.4 および 7.8 mm)に入れて解析し、細胞懸濁液の示す特徴的誘電パラメーターを決定した.さらに、得られたデータを、楕円体誘電モデル(細胞膜により覆われた楕円体中にオルガネラを想定した小型楕円体を封入した理論モデル)を用いて解析した.

活性汚泥から分離した Bodo saltans の食性 白川 百合惠, 西村 修, 須藤 隆一 (東北大・院工)

[要旨] 本研究では仙台市上谷刈下水処理場から分離した *Bodo saltans* を用いてその食性を調べた. 活性汚泥中に一般的に存在する 8 種の細菌を被食者として供試したところ比増殖埴速度 (1/day) は *Pseudomonas fluorescens, Kocuria varians* それぞれ 6.35, 1.20 となり, 約 5 倍の差が生じた. そこで *Pseudomonas fluorescens* と *Kocuria varians* を PKH26 (SIGMA-ALDRICH, USA) で染色しそれぞれを *Bodo saltans* に与えたところ, *Bodo saltans* の細胞内にある細菌数に違いは認められなかった. このことから菌体成分が *Bodo saltans* の増殖速度に影響を与えたことが示唆された.

新規ミドリハリタイヨウチュウ Raphidiophrys sp. の形態観察

早川 昌志1,2, 松元 里樹3, 洲崎 敏伸1

(¹神戸大・院理・生物, ²学振特別研究員 (DC1), ³神戸大・理・生物)

[要旨] 細胞内共生クロレラを持つ原生動物は、多くの系統群で報告があり、太陽虫類でも複数種が知られている.我々は昨年、那須塩原の高層湿原にて、共生クロレラを持つ単細胞性のハリタイヨウチュウ (*Raphidiophrys* sp.) を発見し培養株とした.多細胞性の *R. viridis* は共生クロレラを持つ種として知られているが、単細胞性のものはこれまでに報告がない.今回、この新規株について、LM/SEM/TEM 観察を行い、特にスケール(鱗片)の構造から新種である可能性を見いだしたので報告する.

シロアリ生殖虫と腸内原生生物の共生関係 -腸内鞭毛虫は成熟した女王と王には存在しない-嶋田 敬介¹, 北出 理², 前川 清人³

(¹石川県立自然史資料館,²茨城大・理,³富山大・院理工)

[要旨] シロアリとその腸内で木材消化を助ける鞭毛虫の関係は、相利共生の典型的な例である.しかし、これらの知見は不妊の職蟻を用いた研究によって得られたものであり、鞭毛虫と他のカーストの共生関係はよく分かっていない.そこで、生殖虫(女王と王)と腸内鞭毛虫の共生の実態を明らかにすることを目的に、巣の創設後様々な時期の生殖虫の腸内鞭毛虫量を調べた.その結果、生殖巣が未発達の時期の生殖虫は創巣前の有翅虫や職蟻を上回る多量の鞭毛虫を持つが、その後生殖巣を発達させた生殖虫では鞭毛虫がほとんど見られないことが示された.

ラクリマリアのプロボーシスの伸縮機構 梁瀬 隆二¹, 西上 幸範², 新免 輝男², 園部 誠司² (「兵庫県立大・理・生命科学, ²兵庫県立大・院生命理学)

[要旨] 繊毛虫のラクリマリアは伸縮性に富んだ長い proboscis (吻管) を持ち、これを自由自在に動かすことにより小さな繊毛虫などの獲物を捕獲する。この proboscis の伸長には、ペリクル下に存在する微小管の束と proboscis の先にある口部に存在する長い繊毛の運動が関わり、またこの微小管束に沿って走るマイオネーム が収縮に関係していると考えられている。今回、口部と proboscis の繊毛運動を高速カメラを使って詳しく観察し、さらに proboscis をラクリマリアの体から分離しその運動を観察することにより proboscis の運動と繊毛の運動の関係を調べた。

粘液繊維の挙動から考察されるイカダケイソウの滑走運動モデル 山岡 望海¹,末友 靖隆²,新免 輝男¹,園部 誠司¹ (「兵庫県立大・院生命理学,²岩国市立ミクロ生物館)

[要旨] イカダケイソウは細胞群体を形成し、隣り合った細胞が滑りあう事で、群体全体が独特な運動をする.この滑走運動はアクチンーミオシンの相互作用であると考えられている.しかしその具体的な機構及び生理的意味には不明な点が多い.今回、ピペッティングによりばらばらにした 1 細胞のイカダケイソウは、群体とは異なる運動をした.さらにプラスティックビーズを用いて粘液繊維の挙動を観察することに成功した.これらの結果から推測される粘液繊維の運動は非常に興味深く、さらなる解析を進めている.

Amoeba proteus のアメーバ運動における膜および細胞質動態の三次元解析谷口 篤史¹, 西上 幸範¹, 小林 弘子², 高尾 大輔², 新免 輝男¹, 野中 茂紀², 園部 誠司¹ (「兵庫県立大・生命理学、²基生研・時空間制御)

[要旨] Amoeba proteus の運動において細胞膜はダイナミックに変化し、アメーバ運動に不可欠であると考えられるが、詳細は分かっていない。そこで我々は DiI で細胞膜を、MitoTracker でミトコンドリアを染色し、高速撮影が可能な Digital Scanned Light-sheet Microscopy を用いて細胞膜および細胞質の動態を観察した。その結果、しわを伸ばして運動を行うモデルに近い運動であること、細胞膜とゲル層の間にずれが生じていることが示唆された。また、驚くべきことに膜が回転する運動も観察された。

テトラヒメナ・フォルミンの局在性とその性状 武内 史英, 沼田 治 (筑波大・生命環境科学)

[要旨] Formin はアクチン重合に関わり、細胞質分裂にも重要な役割を担う. テトラヒメナ formin 遺伝子を クローニングした結果、2 種類の formin ホモログが存在することがわかった. これら 2 種のフォルミンに対する特異抗体を作成し、それらの局在と、性状を検討した. その結果、formin ホモログの一つは分裂溝に局在し、アクチンリングに存在すること、profilin とアクチンの間を仲介することなどが明らかになった. もう一つのホモログに関しては、小核に局在するという興味深い結果が得られた.

クラミドモナス鞭毛基部体異常突然変異株を用いた 9+2 構造の 構築機構と機能の解析

中澤 友紀, 有吉 哲郎, 神谷 律, 廣野 雅文 (東京大·院理)

[要旨] 真核生物の鞭毛・繊毛の軸糸は、9 本の周辺微小管と中心対微小管からなる基本骨格上に様々な突起が規則正しく並んだ、"9 + 2"と呼ばれる普遍的構造を持つ。我々は以前に、基部体の構築機構に異常を持つために周辺微小管が8 ないし11 本の軸糸を形成するクラミドモナス突然変異株 bld12 を単離した。bld12 軸糸と、いくつかの軸糸構造異常変異株との二重変異株軸糸の観察により、中心対の形成、および中心対上の突起とラジアルスポーク間の相互作用について、全く新しい知見が得られたので報告する。

Amoeba proteus イノシトールリン脂質特異的ホスホリパーゼ C (PI-PLC) の 構造と性質

八木澤 仁, 堀江(新木) 良子, 赤羽(前田) 佳祥子, 新免 輝男, 園部 誠司 (兵庫県立大・院生命理学)

[要旨] A free-living amoeba, Amoeba proteus, has been used as a model to study locomotion of cells exhibiting the amoeboid movement such as neutrophils and cancer cells. Although mechanisms of regulation of actin-based cell motility by phosphoinositides (PI) in mammalian cells and Dictyostelium discoideum have been revealed to some extent, those of free-living protists remain poorly understood. We have examined roles of PI and PI-PLC in the cell movement of Amoeba proteus. The movement of the Amoeba was reversibly inhibited by U73122, an "in vivo" inhibitor of PI-PLCs. Conversely, microinjection of Ins(1,4,5)P3 into resting cells increased the cell motility and pseudopod extension. We therefore examined whether Amoeba proteus have PI-PLC. Lysates from the Amoebae show the PtdIns(4,5)P2-hydrolysing activity. Moreover, we cloned a cDNA encoding a mammalian PLCô-like protein from a cDNA library of Amoeba proteus by RT-PCR method and designate it as Applc. Interestingly, unlike mammalian PI-PLCs, Applc has a C2 domain at the N-terminus instead of the pleckstrin homology (PH) domain that generally targets PLCs to the plasma membrane. We have established a bacterial expression system of GST-Applc. Partially-purified GST-Applc required Ca²+ for its activity. Nuclear localization of Applc was resolved using an antibody raised against the N-terminal Applc.

イマチュリン遺伝子の全塩基配列:ゾウリムシに性的若返りを誘導する 遺伝子の内部構造

芳賀 信幸, 臼井 利典, 阿部 知顕 (石巻専修大・院理工)

[要旨] ゾウリムシで、性的若返りを誘導するタンパク質イマチュリンの遺伝子をクローニングし、全塩基配列を決定した. イマチュリン遺伝子は、原核生物から真核生物まで、既知の全ての生物に存在する 2 種類の遺伝子の一部を用いて作られた融合遺伝子であることが判明した. これらの遺伝子は、細胞内に生成された毒性化合物を酸化還元反応によって無毒化し、細胞外に放出する Thioredoxin と Glutathion S-transferase をコードしている. イマチュリン-YFP 融合タンパクを発現したゾウリムシの蛍光像を紹介する.

#18

テトラヒメナにおける核膜孔複合体タンパク質の網羅的探索

岩本 政明¹, 小坂田 裕子¹, 森 知栄¹, 長尾 恒治², 小布施 力史², 平岡 泰³, 原口 徳子¹ (¹情報通信研・未来 ICT 研, ²北海道大・生命科学院, ³大阪大・院生命機能)

[要旨] 繊毛虫 *Tetrahymena thermophila* の大核と小核の核膜孔複合体は、一部の構成成分が異なっている. 我々は、同一の細胞内でこれら構造の異なる 2 種類の核膜孔複合体が自律的に構築される仕組みの解明を目指し、それぞれの核膜孔複合体を構成する核膜孔タンパク質の網羅的な同定を試みた. その結果、それぞれ約 30 個存在すると想定される核膜孔タンパク質のほとんど全てを同定することができた. 新たに見出された核膜孔タンパク質の特徴と、大核・小核の核膜孔複合体の構造に関する新たな知見について報告する.

日本の土壌有殻アメーバ相の再評価 Anatoly BOBROV¹, 島野 智之², Yuri MAZEI³

 $(^{1}$ モスクワ州立大・ロシア、 2 宮城教育大、 3 ペンザ州立教育大・ロシア)

[要旨] Analyses of 100 samples of forest soil each from the following islands: Mt. Tateyama of Honshu, Yaku, Kitadaitou, Minamidaitou and Kume were done. The territory of Japan is an interesting example in protistology. It is made up of large and small islands with a unique island biogeography composed of the subarctic zone, the temperate zone and the subtropics. We identified about 250 taxa of testate amoebae in the samples. More over 100 species of the identified species were new record to Japan. We hereby describe two new species: Deharvegia japonica and Assulina discoides. Most of fauna belonged to cosmopolitan group of testate amoebae. The following species are not specific to species of the Holarctic, usually from the Indo-Malayan and Neotropical regions: Centropyxis deflandriana, C. latideflandriana, C. stenodeflandriana, C. sacciformis, Cyclopyxis lithostoma, Distomatopyxis couillardi, Hoogenraadia humicola, Planhoogenraadia daurica, Assulina discoides, Deharvengia japonica, Quadrulella quadrigera, Q. quadrigera v. africana, Wailesella sp.

ミドリゾウリムシ体内に蓄積する遊離糖類

細谷 浩史,氏弘 一也,平木 英志,鉄川 公庸,山新 良彦,安達 由加,松原 康介, 濱生 こずえ

(広島大・院理・細胞生物)

[要旨] ミドリゾウリムシ体内には遊離糖が蓄積されている事が知られている。しかしこれらの遊離糖については十分な解析が行われていないのが現状である。我々は、ミドリゾウリムシの含有糖量は我が国で実施されているサトウキビ由来収量の 3 割に相当する高濃度である事を明らかにした。又、培養の日照条件や光強度・培地の組成を変化させた場合、さらには、増殖期各期の遊離糖含量を定量し比較を行った。一方含有遊離糖の組成を分析し、グルコース、マルトース、フルクトースなどが主成分である事を見出したのでこれらの成果について報告する。

電子線トモグラフィーと連続切片法により確認されたミドリゾウリムシの 共生クロレラ胞とミトコンドリアの特異的結合

ソン チホン, 洲崎 敏伸 (神戸大・院理・生物)

[要旨] The spatial relationship between symchlorosomes (symbiotic zoochlorella cells enclosed by peri-algal vacuole membranes, PVMs) and surrounding organelles was carefully examined by transmission electron microscopy after fixing *Paramecium bursaria* cells by a metal-contact quick-freezing procedure in situ, followed by freeze substitution. In contrast to the morphology reported so far by chemical fixation, the PVM was found to be closely apposed to the cell wall of the zoochlorella. Interaction between PVM and other organelles was further investigated by 3-D reconstruction from serial sections and electron tomography by using a high-voltage electron microscope. The PVM was not in direct contact with the host cell cortex, but was associated with trichocysts, mitochondria, and small vesicles in the vicinity of ciliary basal bodies. As trichocysts and small vesicles were directly attached to the inner surface of the cell cortex, all of these organelles constituted a sub-cortical network with symchlorozomes. Mitochondria were always in close contact with the outer surface of the PVM, providing structural scaffold for symchlorosomes to be anchored at the sub-cortical region in the host's cytoplasm. Moreover, the outer membranes of mitochondria were occasionally found to fuse with the PVM, and also with various other membranous organelles including trichocysts and food vacuoles.

テトラヒメナの生殖核の新しい染色体数削減方法の開発と 得られた nullisomic, unisomic 株を使った減数分裂染色体の配列観察

菅井 俊郎¹, 梶原 千愛²

(1筑波大・生命環境,2茨城大・理・生物科学)

[要旨] Tetrahymena thermophila の生殖核の染色体(2n=10)は、大核が殆どの機能を果たすので、大幅に削減できるが、方法が煩雑で長期間必要である。今回、減数分裂後の接合対を細胞融合し、核変化を停止させて生殖核を n に転換し、これを再度減数分裂させることにより、簡単で迅速に nullisomic 株と unisomic 株を作成できた。この株で減数分裂前期核(crescent)内の染色体配置を観察した結果、ブーケ構造をとっていることを直接観察した。

国内と畜馬肉および輸入馬肉中における Sarcocystis 汚染実態調査 八木田 健司

(国立感染症研・寄生動物部)

[要旨] 近年,新たな食品衛生上の問題として,馬肉生食(馬刺し)を介した食中毒が,これまでは問題とされなかった馬寄生性の住肉胞子虫 *Sarcocystis fayeri* が原因で引き起こされることが明らかとなった.生食用馬肉のザルコシスティス汚染調査は,食中毒リスク評価の判断材料として今後必須の情報となることから,定量 PCR 法を用いて国内で生食用にと畜される馬(軽種馬)ならびに生食用に輸入される馬肉(精肉)の *S. fayeri* 汚染を定量的に調べたので報告する.

スパズミン Ca^{2+} 結合エネルギーのスパコネクチンへの移行メカニズム 浅井 博 1 , 森山 泰誉 2

(1早稲田大・理工学研究センター,2欧州)

[要旨] ツリガネムシの柄の Ca^{2+} 収縮性微細繊維内の主役を演じるタンパク質には、 Ca^{2+} 結合性のスパズミンの他に、ランダムコイル運動を示す筈の弾性短タンパク質が考えられる。本研究では、スパズミンの Ca^{2+} 結合エネルギーがどのようにして新規タンパク質スパコネクチンへ移行するのかの研究作業仮説を理論したい。特に、Zoothamniumu sp. ではスパズミンが A B B の二種類しかないので、研究作業がより簡明と考えられる。

アメーバ運動における糖衣の機能 西上 幸範^{1,2}, 柴田 理恵¹, 谷口 篤史¹, 新免 輝男¹, 園部 誠司¹

(1兵庫県立大・院生命理学,2学振特別研究員)

[要旨] 糖衣は細胞膜を包む数百 nm の構造でタンパク質やマンノースからなるポリサッカライドで構成されると考えられている. 細胞の最も外側にあることから, 細胞接着や細胞運動に糖衣が関係することがこれまでに予想されているが, 直接的な関与は示されていない. そこで, マンノシダーゼを用いて糖衣を消化した Amoeba proteus において, 細胞接着力やアメーバ運動活性を測定した. その結果, これら両者に糖衣が関与することが示唆された.

Craticula sp. (ガイコツケイソウ) からのアクチンフィラメントの単離岸本 有加¹, 山岡 望海², 新免 輝男², 園部 誠司²(¹兵庫県立大・理・生命科学, ²兵庫県立大学・院生命理学)

[要旨] 珪藻の滑走運動は、アクチンとミオシンの相互作用に伴い細胞膜上の粘液繊維が中心節付近から殻の末端の方向に移動することによって起こると考えられている。しかし、アクチンフィラメントと細胞膜そして粘液繊維がどのような形で結びついているのか、アクチンとミオシンの相互作用の様式についても不明である。今回、アクチンフィラメントの単離が可能となったことにより、運動機構を明らかにする大きな手がかりが得られた。

ハリタイヨウチュウの急速な軸足収縮時における超微構造の変化 井上 理佐¹, 枝松 緑^{1,2}, 安藤 元紀^{1,3}

(¹岡山大・院教育・細胞生理, ²岡山大・院自然科学・動物生理, ³岡山大・ 院環境生命科学・細胞生理)

[要旨] 細胞骨格としての微小管束を内包するハリタイヨウチュウ軸足の収縮後再伸長速度は一般的な微小管伸長速度に比べ 20 倍以上速く,未だ知られていない細胞運動系の存在が示唆された.軸足収縮誘発時のビデオ画像を解析したところ,収縮直後軸足基部の直径が増大していることが判明した.電子顕微鏡観察から,軸足に散在しているキネトシストが収縮に伴い細胞体表面に集積することが分かった.軸足基部直径の増大はこの集積による可能性が高い.現在,微小管動態を解析するため軸足の伸長状態を保持し固定する手法を検討中である.

Bodo saltans を用いた微生物由来抗トリパノソーマ活性物質の探索 角谷 幸一郎¹, 今村 信孝² (¹立命館大・院生命科学, ²立命館大・薬)

[要旨] トリパノソーマは、キネトプラスト綱・トリパノソーマ科に属し、ヒトや動物に寄生することで様々な病気を引き起こす寄生性原虫である。有効な新規薬剤を見出すべく、トリパノソーマに近縁で、特徴とされる細胞内小器官キネトプラストを有し、寄生性がない *Bodo saltans* をモデル生物として、微生物代謝産物からの探索を行い、同時に HeLa 細胞への毒性評価も行った。その結果、微生物 2,231 株中 468 株の培養液抽出物が *B. saltans* へ活性を示し、HeLa 細胞への毒性などを考慮して、3 株を候補株とした。探索および活性物質精製の過程について報告する。

明暗サイクルが関与するヤコウチュウの配偶子形成細胞への分化 北村 拓海,遠藤 浩 (金沢大・院自然)

[要旨] ヤコウチュウは通常栄養体の二分裂によって増殖するが、散発的に配偶子を形成することが知られている。しかし配偶子形成への分化がランダムに起こっているのか、何らかの刺激により誘導されているのかわかっていない。明暗条件(L:D = 12:12) で培養し発生段階を観察すると、明期開始時に配偶子形成過程のある段階にいる細胞が多数観察された。また、明暗サイクルを 4 時間シフトさせると 2 日以内に配偶子形成過程も 4 時間シフトした。配偶子形成細胞への分化は明暗サイクルの支配下にあり、分化は暗期初期に始まると考えられる。

テトラヒメナによる異種タンパク質分泌系の構築

増田 光平,遠藤 浩 (金沢大・院自然科学)

[要旨] 現在、大腸菌や酵母等様々な外来タンパク質の異種発現系が利用されているが、一方で複雑な構造をもつタンパク質の発現はそれほど容易ではない。我々は原生動物のもつポテンシャルに注目し、新たな分泌系の開発を試みた。繊毛虫テトラヒメナはモノクローナル抗体の産生ができるなど異種タンパク質のフォールディングやアセンブリー能力が高い生物であると考えられている。今回テトラヒメナのシステインプロテアーゼ由来の分泌シグナルを組み込んだ 2 種類の遺伝子を導入し、その発現と分泌を調べたので今後の問題点と合わせて報告する。

GFP 標識酵母を用いたミドリゾウリムシの食作用の測定 三浦 貴士,岩井 草介 (弘前大・教育)

[要旨] ミドリゾウリムシの食作用を調べるために、GFP を発現している酵母をミドリゾウリムシに取りこませてから、一定時間経過後に細胞内に残存している酵母を蛍光顕微鏡で観察した。GFP 標識酵母を用いることによって、取りこんだ酵母の消化と排出を区別することが可能になった。共生薬をもつミドリゾウリムシと共生薬を除去した白化ミドリゾウリムシでは、後者の方が取りこむ酵母の数が多く、また消化も速いようであった。この結果から、ミドリゾウリムシの食作用にとって共生薬の存在はコストになり得ることが示唆された。

ヨツヒメゾウリムシの繊毛運動における二頭内腕ダイニンの役割 加藤 拓也¹, 堀 学², 井上 桂那子², 久冨 理^{1,3}, 野口 宗憲¹ (「富山大・院理工・生物圏環境, 「山口大・院理工・環境共生, 「筑波大・ 下田臨海実験センター)

[要旨] ョツヒメゾウリムシの軸糸タンパク質は,プロテオーム解析によりその多くが特定され,繊毛運動の機能的研究が進んでいる.その中で,重鎖を 2 つ持つ二頭内腕ダイニンを欠損した細胞は後退遊泳が起こらなくなることから,この内腕ダイニンは Ca^{2+} による繊毛逆転機構に関与していることが示唆される.しかし,繊毛運動においてどのような役割を担っているのかは不明である.本研究では,二頭内腕ダイニンの中間鎖および 2 つの重鎖をそれぞれノックダウンした細胞における繊毛運動と軸糸タンパク質の組成を調べたのでその結果を報告する.

日本産ミドリゾウリムシ共生藻のマルトース放出機構の解明 柴田 あいか¹, 今村 信孝^{1,2} (¹立命館大・院理工, ²立命館大・薬)

[要旨] ミドリゾウリムシ F36 の共生藻 F36-ZK は光合成産物をマルトースとして放出する性質が知られており、宿主中では共生藻から放出されるマルトースが共生成立の要因としてはたらくと考えられている。マルトースの放出が環境中の pH の低下により誘導されることは既に知られているが、新たに光刺激がマルトース放出に関与することがわかった。そこで、環境中の pH の低下と光刺激がマルトース放出に及ぼす影響について β -アミラーゼの発現量、シグナル伝達経路、マルトーストランスポーターの性質の視点から検討した。

繊毛虫 Blepharisma japonicum の培養法の再検討と小核単離法の確立 國谷 亮太¹, 遠藤 浩²

(1金沢大・院自然・生物科学,2金沢大・院自然・生命科学)

[要旨] これまで調べられたすべての繊毛虫では、接合過程の大核分化時に、核内の IES と呼ばれる小核特異的な配列が切り出され、ゲノムの再編成が起きることが明らかになっている。しかし、祖先的な種である異毛綱、原始大核綱の大核分化についてはまったく調べられていない。そのため我々は、異毛綱の一種ブレファリズマの小核特異的配列の同定を試みた。今回はその第一歩としてブレファリズマの培養法と小核単離法を検討した結果、ピュアな小核の単離に成功した。現在、大・小核で異なる DNA クローンをスクリーニング中である。

繊毛虫ブレファリズマの種分化における交配フェロモンの役割 小林 真弓 1 , 篠原 きよの 2 , 田草川 真理 3 , 春本 晃江 4

(¹奈良女子大・院人間文化・共生自然科学,²奈良女子大・院人間文化・生物科学, ³奈良女子大・理・生物科学,⁴奈良女子大・院自然科学)

[要旨] 本研究の目的は,ブレファリズマの種分化における交配フェロモンの役割を明らかにすることである。今回,交配フェロモン,ガモン 1 とガモン 2 の接合誘導能について調べた.ブレファリズマ属内は大核の形態により 4 つのグループに分けられるが,ガモン 1 はグループ内でのみ作用した.よって,ガモン 1 は 生殖隔離にとって重要であり,大核のグループの分化,おそらく種分化の最初のステップにおいて重要な役割を果たしたと考えられる.また,ガモン 1 以外の他の因子が生殖隔離に関わっている可能性についても検討した.

繊毛虫の翻訳終結因子(eRF1)における終止コドン認識に関わる アミノ酸残基の解析

李 英 1 , キム ワン 2 , ド ティ ホン 1 , Adriana VALLESI 3 , 春本 晃江 4 (1 奈良女子大・院人間文化・共生自然科学, 2 ベトナム科学技術学士院・バイオテクノロジー研, 3 カメリーノ大・分子生物・細胞・動物, 4 奈良女子大・院自然科学)

【要旨】繊毛虫の翻訳終結因子(eRF1)の終止コドン認識能力は、他の真核生物と比べて独特で、三つの終止コドンをすべて認識する種は少ない。本研究ではより多くの繊毛虫 eRF1 の認識能力を調べるため、Euplotes raikovi と Loxodes の eRF1 の終止コドン認識を調べた。また、このような認識能力の多様性が生じた原因として、繊毛虫 eRF1 のアミノ酸残基の変異が考えられる。この特徴を利用し、eRF1 の終止コドン認識に関わるアミノ酸残基を明らかにできると考え、繊毛虫 eRF1 の終止コドン認識に重要と思われる残基に変異を入れ、酵母の相補性試験と dual-luciferase assay を用いて調べた。

繊毛虫 Blepharisma における野外株の種の同定と COI 遺伝子を用いた 分子系統解析

篠原 きよの1, 小林 真弓2, 春本 晃江3

(¹奈良女子大・院人間文化・生物科学, ²奈良女子大・院共生自然科学, ³奈良女子大・ 院自然科学)

[要旨] Blepharisma は形態観察により 20 種に分類され、これらは大核の形態により 4 つのグループに分けられる.今回、野外で採集された株の種の同定を行い、大核のグループ II、III、IV に属する株から 18S rRNA 遺伝子の部分配列及び COI 遺伝子のインサート領域を増幅して配列を調べ、系統樹を作製した. 各株の形態的特徴と分子系統を比較した結果、これらは必ずしも一致しないことが分かった. 一方、同じ大核のグループに属する株が、COI 遺伝子の配列に基づいた系統樹において、それぞれクラスターを形成する傾向が見られた.

ゾウリムシニッケル誘導遺伝子の単離と発現解析 竹中 康浩¹, 芳賀 信幸², 井上 郁夫¹ (¹埼玉医大・内糖科, ²石巻専修大・院理工)

[要旨] 我々はこれまでに α-チューブリンプロモーターを用いた導入遺伝子のゾウリムシ定常発現系を構築した. 本研究では誘導型ゾウリムシ内在プロモーターをもつ新規な発現ベクターの開発を目指して、種々の金属イオン添加により発現誘導される遺伝子の単離を行った. cDNA subtraction 法を用いた解析の結果ニッケルイオンを培地中に添加することにより、mRNA 発現量が 10 倍以上増加する遺伝子を 2 つ単離し、誘導時間・濃度依存性の解析、プロモーター領域の単離、発現誘導機構の考察等を行った.

ミドリゾウリムシの定常期における性質 岩井 草介,三浦 貴士 (弘前大・教育)

[要旨] ミドリゾウリムシは定常期や飢餓状態においても長く生存していることが知られている.一般に原生動物は飢餓状態になると代謝が低下することが多いが,共生藻を有するミドリゾウリムシについてはその性質はあまり知られていない.そこで本研究では,餌の酵母を消費し尽くして定常期(飢餓状態)に入っているミドリゾウリムシについて,運動速度・食作用・増殖能などのさまざまな性質を調べた.その結果,定常期のミドリゾウリムシは,活性の低下は見られるもののさまざまな細胞の機能を保持していることが示唆された.

イエシロアリの共生原生生物群集の種組成と群集構造

北出 理

(茨城大・理)

【要旨】関東以南に分布するイエシロアリの腸内からは、Koidzumi (1917) が 3 種のトリコニンファ目を記載している。本研究では西日本の 5 地点から計 10 巣のシロアリを採集して職蟻の原生生物種組成を調べ、うち 2 巣の職蟻・兵蟻について群集構造を調査した。3 種の原生生物は全巣で職蟻全個体から確認され、西表・沖縄島では未記載の微小種もみられた。職蟻の原生生物の平均個体数に比べ、兵蟻はその約 1/40 であった。主成分分析により、兵蟻の群集構造は職蟻より不安定で、宿主個体間での差が大きいことが明らかになった。

ミドリゾウリムシを用いた放射性セシウム汚染土壌の新規処理法 吉村 知里^{1,2}, 洲崎 敏伸²

(1神戸大・環境管理センター,2神戸大・院理・生物)

[要旨] ミドリゾウリムシを用いて放射性セシウムに汚染された土壌からセシウムを効率よく回収するための新たな方法を考案した。ミドリゾウリムシは外界のセシウムを 5-6 倍の濃度に濃縮し、細胞内に取り込み蓄積することがわかった。また、ミドリゾウリムシは負の走電性を利用して簡単に集めることができる。そこで、セシウムで汚染された土壌を水に懸濁し、そこにミドリゾウリムシを投入すれば、セシウムを効率よく回収できると考えられる。