

アメーバの結晶胞形成の比較

八島 洋一 (岩手医科大学教養部生物学教室)

A comparative study on crystal vacuole formation of amoebae

Yoichi YASHIMA (Sch. Lib. Arts and Sci., Iwate Med. Univ.)

SUMMARY

In order to compare the difference in crystal formation between *Amoeba proteus* and *Polychaos dubium* collected from a natural freshwater pond, a study was performed using a light microscope, transmission electron microscope (TEM), scanning electron microscope (SEM), and X-ray microanalyser. The cytoplasm of *A. proteus* contained numerous small crystals 2–3 μm in length and bipyramidal in form, and that of *P. dubium* contained numerous large crystals 20 μm in length and of a plate-like rectangular form. Using the same organism as food did not change the shape, size or number of crystals in the two amoebae. For SEM observation and X-ray microanalysis, 50 individuals of each amoeba and white cells of *Paramecium bursaria* as a food organism were placed on the carbon specimen holder, and were naturally dried and then coated with carbon. We found that the crystals of *A. proteus* were composed of two types, one as described above, and another which was small, granular, and 0.1 μm in diameter. The elemental composition of both crystal types was the same and consisted mainly of carbon and oxygen, with small amounts of phosphorus, potassium, chlorine, and sulfur. The crystals of *P. dubium* were also of two types, but the plate-like rectangular crystals varied from 6–20 μm . In addition, many small granular crystals or clumps thereof adhered to the surface of these crystals. The plate-like rectangular crystals were composed of carbon and oxygen, and the small grains were mainly composed of carbon, oxygen, phosphorus, calcium and magnesium, with small amounts of sulfur, chlorine, and potassium. The elemental composition of small-grain crystals in *Paramecium bursaria* was the same as that of the small crystals of *P. dubium*. The variation in the plate-like crystals of *P. dubium* indicates that they gradually increase in size, while the crystals of *A. proteus* remain constant in size and shape. Because the elemental composition of the crystals of the amoebae and the paramecium were different, it is probable that the crystals and small grains were synthesized within each cell.

[目的] 原生動物にはいろいろな結晶が見られ、それらは以前には排出されるものと考えられていた。アメーバでも結晶胞をもつものが多く、食性によってこれらが増減することが知られている (Andresen and Holter, 1945)。これらの結晶はプリン誘導体のトリウレット (カルボニール・ジウレア) であると言われ、窒素代謝産物と考えられている。繊毛虫類の結晶にもいろいろな形のものが見られ、その成分は calcian struvite であると言われ、有機物系の結晶としては lithosome があり、今日では結晶はイオンや窒素代謝物の沈着物または貯蔵庫であるか、もしくはある種のイオンの濃度を調節しているとの二つの仮説がある (Hausmann, Hulsmann and Radek, 2003)。結晶は大型のアメーバの分類に利用されるが、野外の同一の池から採集したアメーバの結晶の形態と X 線微小分析による元素分析から結晶に差異があるかを検討した。さらに、餌生物の結晶 (微小顆粒) の元素とアメーバの結晶 (微小顆粒) の元素の比較を行って細胞外から取り込んだものか、細胞内で合成されたものかを検討した。

[材料と方法] 材料は野外の池から採集したアメーバの *Amoeba proteus* と *Polychaos dubium* の 2 種を使用した。両種から細胞 1 個体を単離してミドリゾウリムシ (*Paramecium bursaria*) の白色細胞を餌として室温で培養した。培養にはアメーバの生理的塩類溶液として KCM (石井, 1999) を、容器として 6 cm プラスチックシャーレを用いた。光学顕微鏡用のプレパラートはスライドガラス上に KCM をマイクロピペットで一滴おき、そこに 10 個体のアメーバ細胞や餌の白色細胞を移し、カバーガラスで封じて作製した。透過型電子顕微鏡 (TEM) 用の試料は、2.5% グルタルアルデヒド (0.05 M リン酸緩衝液、pH 7.4) で室温、1.5 時間前固定と 1% 四酸化オスミウム (0.05M リン酸緩衝液、pH 7.4) で 0°C、1 時間の後固定を行い、常法に従ってアルコールで脱水し、移行液を通して Spurr 樹脂に包埋した。重合した後、超薄切片を作製して酢酸ウラニルとクエン酸鉛で染色し、TEM (日立 H-7100) で観察した。走査型電子顕微鏡 (SEM) とエネルギー分散型 X 線マイクロアナライザー用の試料は、SEM 用のカーボン試料台の上にマイクロピペットで数滴の超純水をおき、そこに

各細胞を 50 個体移し、自然乾燥を行った後カーボンを蒸着して作製した。試料は SEM (日立 S-4700) で観察し、同一場所をエネルギー分散型 X 線マイクロアナライザー (堀場 EMAX-7000) で元素分析を行った。

[結果と考察] アメーバを光学顕微鏡で生体観察すると、*A. proteus* では細胞質に 2-3 μm 結晶が多数観察され、*P. dubium* では 20 μm の結晶が多数観察され、結晶に種による違いが認められた。TEM で観察すると核構造の核膜のすぐ内側にハニカム構造が両種に共通に観察されたが、核小体に違いがあった。結晶胞は結晶の周囲を囲む膜が両種に存在したが、結晶の部分は電子密度の高い物質が少し認められ、空胞のようになっていた。*A. proteus* では細胞膜の外側に糖衣が認められたが、*P. dubium* にはなかった。純水に移して自然乾燥して作成した *A. proteus* を SEM で観察すると、2-3 μm のパイピラミッド型の均一な結晶とその周囲に 0.1 μm 程度の微小顆粒が存在した。これらの結晶を分析すると結晶からは C、O、P、S、Cl、K の元素が検出された。微小顆粒では結晶の S を除いて他の元素は同様に検出された。*P. dubium* でも 6-20 μm の大きさの異なる矩形層板状の結晶とその結晶に付着する 0.1 μm 以下の微小顆粒が単独とクランプを作って存在した。それらを分析すると結晶には C、O のみの元素が、微小顆粒には C、O、Ca、Mg、P、S、Cl、K の元素が検出された。餌として用いた *P. bursaria* では 0.1-0.2 μm の微小顆粒が存在した。その顆粒に含まれる元素の組成は Cl を除いて *P. dubium* の微小顆粒の元素と共通であった。以上の結果からアメーバの結晶胞形成を比較すると、*P. dubium* では種々のサイズの結晶が認められるので、小さな結晶が徐々に成長して大きな結晶になるものと考えられる。これに対し、*A. proteus* ではほとんど大きさに変わりがなかったため、最初に一定のサイズの結晶が形成されるものと考えられる。そして、結晶や微小顆粒の元素の組成や形状に違いが認められることから、それぞれの種によって独自に細胞内でこれらの構造が合成されるものと考えられる。また、これらの物質から N が検出されなかったことから、結晶は窒素元素を含む代謝産物や排出物ではなく、イオンや脂質などの貯蔵と

体内のイオンの量の調節に機能していると考えられる。

[文献]

1) Andresen and Holter (1945) C. R. Trav. Lab. Carsberg.

Ser. Chim. 25:107-146

2) Hausmann K., Hulsman N., and Radek R. (2003)
Protistology E.Schwerizerbart'sche
Verlagsbuchhandlung Stuttgart 239-240

3) 石井圭一 (1999) アメーバ図鑑 金原出版