

昭和43年8月  
August, 1968

# 原生動物学雑誌

第1卷 第1号

*the Japanese Journal  
of Protozoology*

*Vol. 1 No. 1*

第1回日本原生動物学会大会記事特集

日本原生動物学会  
*Japan Society of Protozoology*

原生物誌  
Jap. J. Protoz.

原生動物学会雑誌 第1巻 第1号

目 次

創刊号によせて / 猪木正三 / 1

第1回日本原生動物学会大会概況 / 2

講演目次 / 3

大会長講演「最近の家畜原虫病の展望」 / 藤田潯吉 / 4

特別講演「テトラヒメナの分裂機構」 / 渡辺良雄 / 7

シンポジウム「ルーメンプロトゾア」 / 9

一般講演 / 14

原生動物学会汎世界連盟について / 阿部 徹 / 30

国際原生動物学会 / 32

会員名簿 / 37

日本原生動物学会会則

編集後記

---

日本原生動物学会 幹事

猪 木 正 三 (会長)

阿 部 徹 稲 葉 文 枝 尾 崎 文 雄 木 下 治 雄

高 田 季 久 津 田 松 苗 中 林 敏 夫 中 村 健 児

樋 渡 宏 一 藤 田 潯 吉 牧 野 佐 二 郎 松 林 久 吉

柳 生 亮 三

原生動物学会雑誌 編集委員

猪 木 正 三 (委員長)

稲 葉 文 枝 尾 崎 文 雄 高 田 季 久 柳 生 亮 三

## 創刊号によせて

会長 猪 木 正 三

昭和42年12月2日、3日の両日、東京で開催された日本原生動物学会第1回大会の総会の席上、本学会の刷新強化が決議され、直ちに新幹事によってその実現に向かったの活動が開始されました。そこで、先ず取挙げられた問題は機関誌の発行であります。学会に機関誌が必要なことは、今更申すまでもありませんが、残念ながら私達の学会では、企画があつたにもかかわらず、今日まで実現を見ず過ぎてしまいました。もちろん、会誌の発行となれば、予想外の費用と労力を要し、たとえそれが小規模なものであつても、容易には実現出来ないものであります。

しかるに今回、これらの障害を乗り越えて、ここに第1回大会の講演抄録集を本学会の機関誌の創刊号として発行する運びになりましたことは、全く会員各位のご声援とご協力の賜物と深く感謝しております。この事業は永続性のあるものとし、来年度は更に拡大して大会号の外に、主として原著(英文予定)掲載のための出版を加えようと検討中であります。

以上の計画が軌道に乗れば、少なくとも年2回の機関誌が発刊されることになり、我が国における原生動物学会の活動状況を自主的に世界に伝えることが出来、ひいては私達の学会を外国依存から脱皮した独立独歩の学会へと成長させることが出来ると確信しております。この理想実現のためには、更に広く我が国の原生動物研究者を糾合し、強力な組織化を計らなくてはなりません。この点についても、皆様の一層のご指導とご鞭撻をお願いいたします。

終わりに臨み、壯者を凌ぐ情熱をもって、本会の設立、発展に当たられた阿部徹前会長並びに公務ご多端の折から第1回大会を通して本会の再出発にご尽力下さいました農林省家畜衛生試験場の藤田澗吉場長に衷心より謝意を表する次第であります。

## 第1回 日本原生動物学会大会概況

会 長 農林省家畜衛生試験場長 藤 田 溥 吉 博士

会 場 農林省家畜衛生試験場 東京都小平市上水本町1,500

会 期 昭和42年12月2日(土), 12月3日(日)

### 日 程

#### — 第1日 12月2日(土) —

10:00~10:05 開会のことば

10:05~10:20 経 過 報 告

10:20~11:00 総 会

11:00~12:00 特 別 講 演

「テトラヒメナの分裂機構」

国立予防衛生研究所 渡 辺 良 雄 博士

13:00~16:00 一 般 講 演

#### — 第2日 12月3日(日) —

9:30~11:00 一 般 講 演

13:00~14:00 大 会 長 講 演

「最近の家畜原虫病の展望」

農林省家畜衛生試験場長 藤 田 溥 吉 博士

14:00~16:30 シンポジウム

「ルーメンプロトゾア」

司 会

日本獣医畜産大学長 梅 津 元 昌 博士



## 講演目次

### 特別講演

- テトラヒメナの分裂機構……………渡辺良雄(予研・病理)  
 総会長講演 最近の家畜原虫病の展望……………藤田 潤吉(家畜衛試)

### シンポジウム

- ルーメンプロトゾア……………座長 神立 誠(東大農)  
 1 人工ルーメン内の原虫……………湊 一(家畜衛試・細菌)  
     〃 映画……………須藤恒二(〃 〃 )  
 2 反芻胃内絨毛虫類のアミノ酸および蛋白質栄養……………小野寺良次(宮崎大、農)  
 3 ルーメン内におけるビタミンの生成ならびに  
     窒素化合物の転移に対するインフゾリアの役割……………高橋直身(明大、農)  
 4 ルーメン原生動物における生態学の立場……………栗原 康(東北大、理)

### 一般講演

- 1 *Paramecium multimicronucleatum* の接合時における核の変化の電子顕微鏡的研究  
 ……………稲葉 文枝, ○井上 照子(奈良女子大、動物)  
 2 2分裂期における *Blepharisma Ward* 系の核の電子顕微鏡的研究  
 ……………稲葉 文枝, ○外川ユミ子(奈良女子大、動物)  
 3 *Trypanosoma* の微細構造に関する研究  
 ……………猪木 正三, ○大野 芳明, 隅本 修(阪大、微研・原虫)  
 4 *Trypanosoma gambiense* の *p-rosaniline* 耐性形質転換因子の精製  
 ……………猪木 正三, ○小野 忠相, 大野 芳明(阪大、微研・原虫)  
 5 トリパノソーマの凝塊抗原に関する研究  
 ……………猪木 正三, 吉川 勝美, 大野 芳明, ○高柳 担(阪大、微研・原虫)  
 6 防御抗原の立場からみた *Trichomonas foetus* の cellular component  
 ……………○岡 好万, 伊藤 義博, 尾崎 文雄(徳島大、医・寄生虫)  
 7 *Trichomonas foetus* の細胞構造と遠心分画物の化学組成  
 ……………○伊藤 義博, 岡 好万, 尾崎 文雄(徳島大、医・寄生虫)  
 8 トリコモナスのアミノ酸取込みに関する2, 3の検討  
 ……………○高田 季久, 井関 基弘, 相原 宏司(大阪市大、医・医動物)  
 9 *Noctiluca miliaris* の生態に関する研究, 1. 一般形態……………安達 六郎(三重県立大、水産)  
 10 主として *Ceratium* を指標として考察した相模湾プランクトンの特殊性……………阿 部 徹  
 11 汚水系原生動物群集と群集構成状態による浄化能の指標化  
 ……………盛下 勇(荏原インフィルコK.K.研究部)  
 12 アラビアゴム濃度勾配法によるトキソプラズマの無菌的集嚢子法  
 ……………中林 敏夫, ○本村 一郎(長崎大、熱帯医研・疫学)  
 13 変温動物の組織培養細胞におけるトキソプラズマの増殖性  
 ……………猪木 正三, ○安 泳謙, 大野 芳明, 高柳 担(阪大、微研・原虫)  
 14 蛍光抗体法による感染マウス組織内のトキソプラズマ原虫の経時的観察  
 ……………○伊藤 進午, 角田 清(家畜衛試、寄生虫)  
 15 反芻胃内絨毛虫類の Life cycle について……………○板橋 久雄, 神立 誠(東大、農・栄養化学)  
 16 反芻胃内絨毛虫類の蛋白質摂取様式について  
 ……………○小野寺良次(宮崎大、農) 神立 誠(東大、農)

## 大会長講演

### 最近の家畜原虫病の展望

藤 田 潁 吉

農林省家畜衛生試験場

### *Recent advances in studies on the protozoan diseases of domestic animals*

Jinkichi Fujita

National Institute of Animal Health, Tokyo

第1回日本原生動物学会大会において講演の機会を与えられて下さった猪木学会長、会員各位に対し衷心より厚く感謝と敬意を表します。

これから述べます家畜の原虫病はその対象家畜が牛、豚、鶏等の経済動物に限り、犬、猫等の愛玩動物については触れませんし、また研究内容については主として家畜衛生試験場の研究者により行われたものであることをあらかじめ御断りしておきます。

第2次大戦後におけるわが国の畜産はとくに近年目覚ましく発展し、従来の副業的な少規模経営から多頭羽飼育と称せられる大規模経営（例えば養鶏…数千～十数万羽）が全国各地に出現している。また酪農の発展に伴い草地改良が公共的事業として全国的に強力に推進され主として乳牛、一部肉用牛などの放牧が急に盛んになってきた。

かかる家畜の飼育形態の大きな変化にもかかわらず、これに対応する衛生対策（集団衛生、環境衛生、放牧衛生）が不十分なことから予期せぬ種々の疾病が多発し畜産の発展に大きな被害を与えている。これらの疾病の中に原虫病が原因となっているものが含まれている（例えば、牛のピロプラズマ病、豚のトキソプラズマ病等）。

わが国の家畜原虫病の主なものには表に示すごとくであり、これらの中で重要なものについて家畜別にその概要を簡単に述べると以下のごとくである。

#### 牛のピロプラズマ病

わが国における牛のピロプラズマ（ピロと略）原虫の存在は古くから知られており、恐るべきダニ熱の原因のいわゆる大型ピロ *Babesia bigemina* はかつて九州、北海道においては常在地として問題となっておったが近年はほ

とんどその流行が見られていない。また全国的に広く分布しているいわゆる小型ピロ *Theileria sp.* はわが国では無毒性ピロとして一般には等閑視されておった。しかしながら前述のごとく戦後酪農の発展に伴い牛の放牧が盛んになるに伴い予期しない種々の放牧事故が多発し放牧衛生が大きな問題となっている。このなかでも従来ほとんど問題とされておらなかった小型ピロによる被害が著しく、本病に対する被害が再検討され、牧野のダニの防除とあいまって、実態調査、ピロ原虫の発育環、治療、予防法などの総合研究が石原らによって行われ研究はかなり進展した。日本の牛からは3種類のピロ原虫が認められているが種が同定されているのは大型ピロの *Babesia bigemina* のみである。

媒介ダニは *B. bigemina* では *Boophilus microplus* であるが他の大型の *Babesia sp.* では *Haemaphysalis neumanni* であり交互免疫も成立せず、かつ病原性も異なることから別種として取扱っている。小型ピロ *Theileria sp.* の分類は検討中であるが媒介ダニ、病原性などからして *Theileria sergenti* に酷似している。小型ピロの治療は8-aminoquinoline 化合物が開発され野外で広く応用されているが本剤に対する耐性株の出現が見られている。

予防法としては汚染牧野においては舎飼期において人工感染免疫してより放牧させる発症予防法が石原らにより提案され、全国各地の牧野で検討されかなりの成果が認められている。また媒介ダニの無毒化を目的とした休牧法も検討されている。

ピロ原虫以外の牛の住血原虫としては *Trypanosoma theileri*, *Eperythrozoon*, *Anaplasma centrale* が発見されている。

日本の家畜，家きんおよびミツバチに発生する主な原虫病

病 名	病原体 (宿)	宿 主	主 な 症 状
トリパノゾーマ病	<i>Trypanosoma</i>	牛	貧血，流産
トリコモナス病	<i>Trichomonas</i>	牛，ハト	生殖器病，肝炎（ハト）
黒 頭 病	<i>Histomonas</i>	シチメンチョウ，鶏	盲腸炎，肝炎
アメーバ赤痢	<i>Entamoeba</i>	イヌ，ネコ，サル	下痢
ミツバチアメーバ病	<i>Malpighamoeba</i>	ミツバチ	短命
住肉胞子虫	<i>Sarcocystis</i>	牛，ヒツジ，豚	一般に無症状
鶏 マ ラ リ ア	<i>Plasmodium</i>	鶏	貧血
ロイコチトゾーン病	<i>Akiba</i>	鶏	出血性病変，貧血
バベシア病	<i>Babesia</i>	牛，ヒツジ	貧血，血色素尿，発熱
小型ピロプラズマ病	<i>Theileria</i>	牛	慢性貧血
コクシジウム病	<i>Eimeria</i>	鶏，牛，豚	出血性腸炎，下痢
ノゼマ病	<i>Nosema</i>	ミツバチ	短命
トキソプラズマ病	<i>Toxoplasma</i>	豚，イヌ，ネコ	発熱，呼吸器症状，皮膚紫赤
バランチジウム病	<i>Balantidium</i>	豚，牛	腸炎，下痢
アナプラズマ病	<i>Anaplasma</i>	牛	貧血，黄疸，発熱
エピロスロゾーン病	<i>Eperythrozoon</i>	牛	貧血

豚のトキソプラズマ病

*Toxoplasma*(Tp)原虫の日本における存在は古く、1910年峰がモグラモチより発見している。家畜における Tp 症としてとくに注目されるのは豚の感染であって松林ら(1957)が最初に Tp 原虫を分離して以来、佐藤(1958)其他により続々集団発生例が報告されている。

鈴木らは補体結合阻止反応で抗体調査目的で全国各地の豚から集められた1,891例の血清を検査した結果陽性例162(8.6%)と報告している。徳富らは東京の市販の豚肉130例からマウス分離法で25例陽性(19.3%)と報告している。その他多数の調査例はいずれもかなり高率の陽性例が認められ公衆衛生面からも重要視されている。

わが国における人および家畜の Tp 症の本格的研究は1953年以来活発化し、実態調査、診断(原虫の検索と分離法、血清反応)病理、治療および予防法などが広範に行われ Tp 症の輪郭がかなり明らかにされてきた。

本症の診断法として組織中の虫体の検出は Giemsa 染色の外に PAS 染色法が角田により報告され、血清診断法としては dye-test が最も信頼出来る方法であるが一時に多数例に応用するには不適當で、信藤らは濾紙法で集めた豚乾燥血液の HA test 法を広く検索する方法を提唱している。

鶏コクシジウム病

コクシジウム病は全世界において重要な鶏病の1つで

あり、本病の防遏については世界各国とも非常に努力が払われている。

本病の防遏方法が sulfa 剤で有効なことが Levine(1939)によって発見されて以来予防、治療剤の研究は急速な発展を遂げるに至った。角田らは薬剤の作用機序を組織化学を応用して解明している点は注目すべき所見であろう。例えば発病初期の虫体はすべて無性生殖体(シizont)である。シizontはピロニン、メチールグリーン染色でピロニン好性を示す。これは原虫の細胞質内で RNA の合成が盛んなことを示している。薬剤投与により短期間にピロニン好性は失われる。このような薬剤はコクシジウムに殺虫的に働いていることを示す。薬剤耐性株では投薬によりピロニン好性は完全には失われない。この反応を利用すると薬剤耐性株を短期的に検出することが出来る。

予防剤として現在もっとも広く使用されているものの1つに Amprolium がある。使用量は0.004~0.008%を飼料に混入して与える。Amprolium はビタミン B<sub>1</sub>の誘導体のひとつで B<sub>1</sub>と拮抗作用をもつ。したがって飼料中に B<sub>1</sub>が4 mg/kg 以下の場合には効果が著しいがこれを越すと効果が減少し、7.5mg/kg になるとさらに著しくなり20mg/kg となると全く効かなくなることは本剤の応用に当り注意すべき点である。

鶏のロイコチトゾーン病

この原虫病は日本では1954年秋葉らにより発見されて

以来北海道を除き全国的にまん延し毎年夏期に流行する重要な鶏病の1つとなった。原因は住血胞子虫類(目)に属する *Leucocytozoon caulleryi* (Mathis and Leger, 1902) で東南アジアに限局して分布している。

本病に関しては中間宿主も不明であり、したがって予防、治療に関してもほとんど手がつけられておらなかった。しかしながら秋葉らが中心となって行われた総合研究の結果 vector がヌカカの1種 *Culicoides arakauae* であることが発見され、初めて人工感染に成功した(1960)。これを契機として研究が急速に進展し、各種薬剤のスクリーニングテストから微量の sulfa 剤, pyrimethamine の飼料投与により本病の予防に有効なることが発見された。pyrimethamine 0.00005%, sulfadimethoxine 0.0025%, sulfaquinoxaline 0.005%, sulfaisomezole 0.01%の

飼料添加で発症予防に成功した。この成果を1964年より実地に応用し、すなわち pyrimethamine 0.0001% 飼料添加が全国的に実施せられて以来、本病の発生がほとんど見られないようになった。台湾においても李(1965)により追試確認されている。

最近 *Leucocytozoon* 属を Bennet, Graham, Fallis et al. (1965) はあらたに *Leucocytozoon* と *Akiba* という2つの属に分け、したがって *L. caulleryi* は *Akiba caulleryi* とするよう提案している。これは black fly (ブユ) が vector となる *Leucocytozoon* に対し biting midges (ヌカカ) が vector となるものに新たな属を設け属名は vector の発見者秋葉の名を冠し Genus *Akiba* としたものである。

## 特別講演

# テトラヒメナの分裂機構

渡 辺 良 雄

国立予防衛生研究所病理部

## *Possible mechanism of cell division in Tetrahymena pyriformis*

Yoshio Watanabe

Department of Pathology, National Institute of Health, Tokyo

繊毛虫テトラヒメナは、細胞分裂の機構を解析する上で、数多くの利点を持っている。特に、(1)無菌的に完全合成培地で培養出来ること、(2)温度処理その他で高率な同調分裂を誘導し得ること、(3)種々の細胞内小器官の分離が可能なこと、(4)分裂間期中にも分裂環にともなって特有な形態形成が表層におこること、などが列挙される。筆者は同調分裂を誘導し得る実験系で、蛋白質の代謝と分裂との関係を主に研究して来た。以下2~3の問題について述べることにする。

### 同調化と蛋白代謝

近年筆者が誘導した同調球形化 (synchronous rounding) という現象は、通常同調分裂から同調性の獲得のみを行い分裂をきりはなしたものであることが形態形成からも生理学的分析からも明らかになってきた。この現象は、アミノ酸欠如合成培地で分裂能を失った細胞に温度処理を行って同調化させたもので、温度処理後通常同調分裂が出現する時間 (75分, 190分) にそれぞれ第1, 第2同調球形化をおこす。同調化は、種々の age にあった細胞の生理学的性状の一部を温度処理で娘細胞に近い状態に戻りさせることに主たる原因があると推察される。しかし、通常培地での細胞の世代時間は3.5~4時間であるが温度処理で同調化させたあとでは、はるかに短い世代時間になってくる。今までは同調分裂誘導の温度処理中、分裂が抑制されながらも種々の物質の合成は持続することが知られており (結果として、DNA, RNA, 蛋白量などは対数期の細胞当りの値の2倍以上となる)、種々の余剰物質の蓄積が世代時間の短縮する原因と考えられていた。しかし、同調球形化の系では、DNA も RNA も蛋白も対数期の細胞の約70%しかもた

ず、温度処理中も処理後もほぼ一定であることがわかってきた。またアミノ酸欠如培地中ではこれらの物質の合成率もきわめて低下することが知られている。従って、現在これらのことを考慮した上で最もありそうな同調化機構の推論をくだすと次のようになる。温度処理はまず第1に、生活環をまわすのに必要なある特定な蛋白質の機能的状態にある分子の構造に可逆的変化を与え非活性形にする。これは蛋白質の1次構造には関係がなく、その性状は温度処理を行わないときの娘細胞のものと同様と考えられる。第2に、反復温度処理中、この特定の蛋白の合成が僅かながらおこることが必要不可欠である (実際に、温度処理中にこの僅かな蛋白合成を阻害すると同調球形化がおこらなくなる)。勿論、温度処理中は合成されたものも非活性形で存在するが、温度処理後再び機能形へと一斉に分子変容し、その機能の発現により同調球形化や同調分裂がおこってくるものと考えられる。

### 分裂蛋白の分離

同調化そのものにも温度処理中ある種の蛋白合成が必要であることを上に述べたが、同調分裂系に於て、温度処理後も (全蛋白量は対数期の細胞の2倍以上持っているのに) 次の分裂がおこるまでに特殊な蛋白の合成がおこらなければ分裂しないことをデンマークの Zeuthen らが暗示した。これを「分裂蛋白」と仮称し、その蛋白が温度処理後45分頃までに合成されることを推測している。筆者は対数期の細胞でも同じ時期に分裂に必要な蛋白が合成されること、同調系でもパルス・ラベリングでその時期に合成率がたかまることなどを確認したので、その蛋白の分離を試みた。温度処理後分裂までの種々の

時期の細胞から水溶性蛋白と0.6M KCl 溶性蛋白分画をとり、更に DEAE-セルローズ・カラムで13の分画にわけ、その性質をしらべた。すなわち、分裂蛋白の特性から5つの選別基準(合成量、合成率、分裂や温度処理との因果性などから考えた)を設定し、最も基準条件に適合する蛋白分画を選択した。それによると、水溶性蛋白の「ピーク7」のみが全ての条件を満し、分裂蛋白がこの分画に存在すると考えられる結果を得た。更に硫酸分画と DEAE-セルローズ・カラムとの組合せで得た水溶性蛋白の66分画について種々の stage からその性質をしらべると「分裂蛋白」は32.5~52.5%硫酸で沈澱し、DEAE-セルローズ・カラムでピーク 7a(7の前半部)にくる分画に存在すると思われる。この小分画はセルローズ・アセテート膜電気泳動などでは単一バンドであり、実質的な分離に成功したと考えられる。分裂蛋白の生物学的機能については未だ判然としないが他方面からの研究結果と考え合せ、憶測を後述することにする。

#### 構造形成に参与する蛋白質

生体内で構造を保持している蛋白質は水分子よりも蛋白分子との親和力が強いゲル状のもので、その一部は0.6M KCl などのイオン強度の高い液で抽出されてくるものと想像される。0.6M KCl 溶性蛋白は、温度処理後分裂までの間に直接合成をとまなわない構造変化(conformation change)を行うことが、DEAE-セルローズ・カラムを用いた結果から暗示された。一方、この蛋白分画は低イオン強度で ATP を加えると、これを分解しながら筋蛋白でみられるような超沈澱現象をおこす。0.6M KCl 溶性蛋白分画は溶解度の差から4分画(FI~FIV)に分離出来るが、上のような ATPase の活性が強くなるのは FIII と FIV の組合せであり FII がそれに加わると活性が逆に低下する。ATP 分解からみると、FIII と FIV の場合も単なる加算以上の活性化がおこるのでその間に結合がおこって機能が変化したことが考えられ、FII も FIII や FIV との結合により機能的変化をしたと想像される。FIII、FIV はそれぞれ0.1M 及び 0.35MKCl に溶解ピークをもつ蛋白で FIII は温度処理後45分までに増量する。一方、FII はこれら真の KCl 溶性蛋白と結合する特種な水溶性蛋白で、45分頃から分裂直前までの間に KCl 溶性蛋白に結合してくる。in vivo でもこれらの結合が想像されるのは、0.6M KCl 溶性蛋白全分画の ATPase 活性を分裂にともなって測定した曲線と FIII/FII の量比がよく一致することからわかる。またこの結合がおこることは、分裂にともなう水溶性並びに KCl 溶性蛋白の SH/protein の曲線をよく理解し得ることからも推

測される。

ここで問題なのは、FII という分画の性質が分裂蛋白の性質と2~3の点でよく一致することである。従って、想像ではあるが、分裂蛋白は分裂のための構造形成を行う蛋白のサブユニットの一部かあるいは構造形成の assembly の過程に何んらかの役割を果す蛋白である可能性も考えられる。

#### 口部装置の分離と性状

分裂蛋白の生物学的機能に関し、Zeuthen らは新たに形成される娘細胞用の口部装置内の繊維形成に分裂蛋白が関与するらしいことを生理学的実験結果から憶測している。口部装置は水にも KCl にも不溶性であるのに、筆者らの分裂蛋白は水溶性であるので、その間の差異をうめるべく口部装置の分離とその蛋白の性質を調べた。口部装置は約170コを中心体が整然と配列して4枚の膜板を形成し、その間を多数のマイクロチュブルスで連結した形のもので、形成過程は温度処理後45分まで温度処理や分裂阻害剤に感受性が高く、同調の機構にも分裂の機構にもきわめて密接な関係をもっている。筆者は最近非常にきれいに口部装置を単離し得る方法を確立した。回収率は用いた細胞の40%前後で、分離した口部装置は1%ラウリル酸ソーダ、8M 尿素、0.1N 苛性ソーダなどで溶解し得る。そのほとんどが蛋白よりなり、<sup>3</sup>H-アミノ酸のラベルからみると、全蛋白の0.1~0.8%に相当し、分解したものは約6S 或は条件により2.3~2.5S となる。これらは分裂蛋白の部分精製物のものと可成りよく一致するが、超遠心で単一バンドになる口部装置蛋白を8M 尿素中でアクリラマドゲルの電気泳動を行うと約5本のバンドに分かれてしまう。最近 Taylor らは<sup>3</sup>H-コルヒチンがマイクロチュブルスのサブユニットに特異的に結合するという実験結果を得、そのサブユニットは水溶性の蛋白で、約6S であると述べている。筆者は、中心体の個々のマイクロチュブルスや中心体間を結合するマイクロチュブルスの断面がそれぞれまた約13コの球状蛋白のサブユニットからなることを考え、そのサイズから推測すると2~2.5S がサブユニットに相当すると思われる。6S はテトラマーに相当するのではないかと想像している。いずれにしても Taylor らの実験から類推出来ることは、出来たてのサブユニットは水溶性の小さい蛋白分子で、それがダイマーやテトラマーを形成しつつ assembly し、可視的なマイクロチュブルスを作り水溶性でなくなっていく過程が考えられる。Zeuthen と筆者が行ったちがったアプローチによる分裂蛋白の認識の差も、あるいはお互にその一面をみていたことによるものかもしれない。

## シンポジウム

### 1 人工ルーメン内の原虫

湊 一, 須藤 恒二

農林省家畜衛生試験場細菌部

#### *Behaviors of rumen protozoa in an artificial rumen*

Hajime Minato and Tsuneji Suto

National Institute of Animal Health, Tokyo

反芻家畜は単胃動物とことなり採食した飼料をそのまま栄養源として利用するのではなく、第1胃(ルーメン)内に生息する多種多様の微生物によって分解された終末産物としての低級揮発性脂肪酸(VFA)を胃壁から吸収し主要なエネルギー源としている。更にはこの飼料の分解の過程を通じて増殖した微生物体を蛋白源として利用している。したがって家畜の栄養にとって、このいわゆるルーメン発酵の状態が重要な意義をもっている。またこのルーメン微生物系は自然界における他の生態系にくらべて有機物の分解が極めて活発に進行しており生態系の解析方法をさぐり出すための適当な場であるともみられる。

複雑な生態系の解析には *in vivo* の状態を再現する技法がよくとられている。このルーメン微生物学の分野においても、1940年代からルーメン微生物集団を家畜から切り離れた条件のもとで培養をつづけようとするいわゆる人工ルーメン技法が検討されている。しかし、*in vivo* のどの特徴を主に再現しようとするかによって種々の形式の人工ルーメンが組立てられている。我々も生体の主要な特徴を具備するルーメン微生物集団を長期間にわたり培養しつづける人工ルーメンを組立てその中で安定化する微生物相を調べたので概要をのべることにする。

ここでは基質の質的差異が人工胃内で成立する微生物相にいかなる関連を有するかについてこの系の終末産物や原虫相を中心に調査している。

人工胃内にいれる接種菌液は屠場で屠殺された牛のルーメン内容物のガーゼ汁液2.5lである。これにCO<sub>2</sub>を通気しながら38°Cで培養をつづけた。この系にMcDougallの人工唾液6:吞水4からなる溶液を156ml/hrの速度で送りこまれている。また1時間に1回窒素ガスによる加圧方式で一定水位以上のものを系外に除くことで内容物が一定に保たれている。基質にはイタリアンライ

グラス乾草(Hと略)80g, H40g+アルファルファ乾草(Aと略)40g, H60g+完全配合飼料(Cと略)20g, などを用いた。いずれの基質もWiley氏ミルで粉碎して2mmの細かさに調製してある。

尿素を人工唾液に加えて連続注入する場合には乾草のみにくらべて産生されるVFA量が著しく増強された。この尿素量をdl当り120mg-Nにまで増やしてもVFA産生量に阻害効果を示さなかった。しかし尿素を加えてもこの人工胃内で安定化する原虫相には効果を示さず *Entodinium simplex* のみが10<sup>2</sup>/mlのレベルにおちついた。このことは乾草のような易利用性窒素の少ない場合に尿素が原虫よりは細菌群の生育に有効であることを示している。

内容物を均質に保つために攪拌機を200rpmおよび400rpmに設定して連続攪拌をするとVFA産生量にほとんど差を認めないが、原虫は400rpmの速度の系でよりすみやかに消失することを認めた。また1時間に1回5分間の攪拌にかえたところ連続攪拌で残りえなかった鞭毛虫類が10<sup>5</sup>/mlのレベルで30日間安定におちつくことをみとめた。これらの成績は原虫が乾草などによる機械的摩擦に弱いことを示している。

乾草(H)を1mmおよび2mmの細かさに調製し両者の人工胃内微生物相に与える影響を比べた。1日に産生されるVFA量には差がなかったが、原虫は細かい乾草の系でよりすみやかに人工胃内から消失した。これは最近のChristiansenの細粉乾草を与えるとルーメン内の原虫が少なくなるという成績と一致している。

乾草(H)にアルファルファを半分量に加えても産生されるVFA量にあまり差を認めないが、NH<sub>3</sub>-Nはより高い濃度レベルにおちついた。VFA組成比の面ではアルファルファの添加によってプロピオン酸の比率の増加と酪酸のその減少を認めた。原虫数の減少の速度は両者に差異を認めなかった。

乾草(田)に濃厚飼料を添加すると VFA の産生量が増加する。産生された VFA の組成比は乾草のみにくらべてプロピオン酸および酪酸の比率の増加を認めた。両系での増殖をつづける原虫種には差異をみとめ、乾草のみの系で *Entodinium simplex* のみが生き残るのに対して、それに濃厚飼料を添加すると *E. simplex* のほかに *E. na-*

*nellum*, *E. longinucleatum* および *E. caudatum* も ml 当り  $10^8$  のレベルにおちついた。この人工胃内では *Holotricha* は長期に培養をつづけられなかった。しかしその消失の速度は増殖がなくもっぱら稀釈によると仮定した速度よりもおそいのでこのような人工胃内でもある程度の増殖があったとみられる。

## 2 反芻胃内繊毛虫類のアミノ酸および蛋白質栄養

小野 寺 良 次

宮崎大学農学部栄養化学教室

### *Amino acids and protein nutrition of rumen ciliate protozoa*

Ryoji Onodera

Department of Agriculture, Miyazaki University, Miyazaki

反芻動物の第1胃・第2胃(以下反芻胃という)には、多種類かつ多数の微生物が棲息し、宿主動物の摂取した飼料の消化を助け、また、それら微生物自体は、宿主動物の直接的な蛋白質源ともなっている。

本報告においては、それらの微生物のうち特に繊毛虫類の反芻胃内における消化に果たす役割を知る目的から、アミノ酸および蛋白質に対する繊毛虫類の感応を検索した結果を考察する。

現在までに行われて来た反芻胃内繊毛虫類のアミノ酸の代謝に関する研究では、多くは、アミノ酸をN栄養源として利用する事を示している。しかし Abou Akkada and Howard (1962) は、カゼイン加水分解物が虫体蛋白合成に利用される量は無視できると述べている。他方蛋白質の代謝に関する研究でも、繊毛虫類は、種々の蛋白質をN栄養源としているものと考えられている。すなわち、現在迄の研究では、反芻胃内繊毛虫類のN栄養源としては、アミノ酸も蛋白質もほぼ同程度の重要性をもつとみられており、そのどちらが主要なものであるかは論じられていない。

我々は、まず、繊毛虫類の生き方、特にN栄養源とその獲得様式をできるだけ生態系に近い状態で研究する事にした。従って、反芻胃という生態系の中で彼らの主要なN栄養源は何かという問題設定で研究を始めた。

その結果始めに確認された事は、培地にアミノ酸を添加して繊毛虫を培養しても、或いは、添加しないで培養しても、常に培養前よりも培養後に、培地中の  $\alpha$ -アミノ態Nが多くなる事である。

次に、 $^{14}\text{C}$ アミノ酸を使用した実験では、虫体内に明かからに  $^{14}\text{C}$ アミノ酸が取り込まれ特にメチオンンが最も

多く取り込まれる ( $0.048\mu$  males) 事が確認された。しかし、繊毛虫と細菌との共存培養時に虫体内に取り込まれた  $^{14}\text{C}$ 活性は、繊毛虫を単独で培養した場合よりも常に高い値を示す事(約2倍)がわかった。なお、共存培養時に菌体内に取り込まれた  $^{14}\text{C}$ 活性は、各微生物体N当りで比較すると、単独培養時に虫体内に取り込まれた活性の2-10倍であった。反芻胃内細菌を  $^{14}\text{C}$ アミノ酸で前もってラベルしておき、それを培地に添加して繊毛虫類を培養すると、虫体は高い  $^{14}\text{C}$ 活性を示し、3時間の培養で虫体内に取り込まれた菌体N量は、 $13.7\mu\text{gN/mg}$  虫体Nと推定された。これをアミノ酸として最も多く取り込まれた  $^{14}\text{C}$ -メチオニン(の虫体内取り込み量(N量として  $0.672\mu\text{gN/mg}$  虫体N))と比較すると、実に20倍も多くのNが菌体として取り込まれている事がわかる。虫体内への細菌の取り込みについては、染色細菌を使用して顕微鏡下で確認された。その他の粒子の取り込みについても、本総会の一般講演(No.16)で述べた様に、確認された。取り込まれた菌体は、直ちに分解をうけ、培地中には非蛋白態Nが増加した。以上の結果から、反芻胃内繊毛虫類のN栄養源としては、細菌など粒状蛋白質が主要なN栄養源であると考えられる。また、アミノ酸が虫体内に移行する主要な経路は「アミノ酸→細菌→繊毛虫」であると考えられ、一種の食物連鎖の関係があると考えられる。

次に、蛋白質の摂取様式についてカゼインを用いて実験した結果、一般講演で述べたように、*Ophryoscolicidae* は、可溶性カゼインを消費せず、粒状のカゼインを消費したので、この種の繊毛虫は特異的な粒食性と考えられる。*Isotrichidae* は可溶性カゼインをも消費した。ま



た、*Ophryoscolecidae* の粒状カゼイン消費時の代謝産物としては、ペプチド態N、アミノ態Nおよびアンモニア態Nがそれぞれ約50%、30%および12%であり、*Iso-trichidae* が可溶性カゼインを消費した場合には、それぞれ約40%、18%および15%であった。また繊毛虫類の内因性N化合物の割合を検索した結果では、ペプチド態Nは5%前後であった。従って、カゼインの代謝産物としてペプチドが多い事は、繊毛虫の体内における蛋白質の消化の様相の一端を示していると考えられる。すなわち、虫体内での蛋

白質の消化は、不完全消化であると考えられる、そのうち、アミノ酸まで完全に消化されたもの一部が体蛋白合成その他に利用されるものと考えられる。これらの検索は、非増殖系の繊毛虫について行われたものであり、増殖系の場合は当然、体蛋白の合合成に、取り込まれたN栄養源が利用されると考えられるから、様相は変わってくると考えられる。しかし、これらの結果は少なくとも繊毛虫類のN栄養源としての主要なものを示唆し、また体内における消化の様相を示唆していると考えられる。

### 3 ルーメン内におけるビタミンの生成ならびに窒素化合物の転移に対する インフゾリアの役割

高橋直身

明治大学農学部農芸化学教室

#### *The role of infusoria on the formation of vitamins and the transformation of nitrogenous compounds in the rumen*

Naomi Takahashi

Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, The University of Meiji, Tokyo

反芻動物の第1、第2胃内には、原生動物と細菌とが生息し、これらの微生物活動による生産物は、宿主である反芻動物に利用されそれらの栄養に資する。本研究者は、反芻胃内における物質転換にかんする研究の一端として、これらの微生物中原生動物 (*Infusoria*) の第1胃内における窒素化合物の転移ならびにビタミンの生成にたいする役割を明らかにすべく実験を行なった。すなわち、一定の飼料で飼育した山羊、綿羊の第1胃内からフィステルを経て胃内容物を採取し、その中より原生動物を分離して第1胃内容液中で細菌と共存させて39°Cで培養すると、原生動物は生存可能であるが、細菌を超遠沈処理によって除去した第1胃内溶液中では24時間以内に死滅するのが認められた。さらに原生動物と細菌とを共存させて培養すると、時間の経過とともに菌体蛋白質は減少し、アミノ態窒素とアンモニア態窒素が増加するのが認められた。つぎに、原生動物の培養用塩類液にカゼイン、グリシンなどの蛋白質を添加し、炭酸ガスを通気して原生動物を培養すると、同様にこれらの蛋白質は減少し、それと並行してアミノ態窒素、アンモニア態窒素ならびに若干のペプチドが生成されるのが認められた。したがって、第1胃内において原生動物は、共存する細菌の菌体窒素をも含めて飼料中の蛋白質を摂取してこれらを代謝し、アミノ酸、アンモニア、ペプチドなどの低分子の窒素化合物を生成するものと解される。つぎに、

培地中にグリシン、アラニン、バリン、グルタミン酸、トリプトファン、リジンなど20種のアミノ酸を単独に添加して原生動物の培養を試みた結果、これらのアミノ酸はその種類によって相違はあるが、いずれもある程度消費され、それと並行してアンモニアの生成が認められた。また<sup>14</sup>Cでラベルされたアミノ酸の使用により、原生動物の体蛋白質内への取込み (incorporation) が認められた。しかし、尿素の分解には原生動物は関与せず、ウレアーゼ作用は細菌にもとづくものであることが明らかにされた。ビタミンについては、牧草抽出区分を山羊、綿羊に与えて、第1胃内に多数の原生動物を増殖せしめた場合と増殖以前の第1胃内容動物中のB群すなわちB<sub>2</sub>、B<sub>6</sub>、PaA、NiAなどの含量には両者間に大きな相違は認められなかった。しかしNiAの化学的形態をしらべた結果、細菌中のNiA活性物質はピリジニウム化合物としてはニコチン酸、ならびに5~6種のピリジニウム化合物であるが、原生動物においてはすべてピリジニウム化合物のみであることが明らかにされ、微生物間におけるビタミンの形態の転移が認められた。

質問 神立 誠 (東大 農)

ルーメン中の繊毛虫の摂取性について、*Oligotricha* は粒食性が主であるという説明に対して可溶性カゼインと粒状カゼインとの摂取状況に差があるということで、充分ではないかと考える。参考のために *Oligotricha* は

glucose を消費しないが、澱粉を利用する。この時に澱粉中に  $^{14}\text{C}$ -glucose をしませて与えるとその呼吸中に  $^{14}\text{CO}_2$  を検出できるので、これについての専門家の御批判をおきかせ頂きたい。

回答 高橋直身(明大 農)

この質問ならびに御意見は真に興味あり、且つ、重要な暗示をあたえるものと考えますので、さらに詳細な実験と検討を積んだ上でお答えしたい。

質問 小野寺良次(宮崎大 農)

織毛虫の培養前後で  $\alpha$ -アミノ態 N が減少しているようだが我々の実験では全く逆で、 $\alpha$ -アミノ態 N は培養後に増加する。高橋氏の実験では、抗生物質を使用しておらず20時間も培養しているので細菌による消費ではない

か。我々の実験では、織毛虫の内因性 N 化合物の中になりに多くのアミノ態 N を検出しているの、織毛虫は本来アミノ酸を培地に放出していると考えられる。

回答 高橋直身(明大 農)

Protozoa の種類、ポピュレーションなどによりいろいろと異なった結果がでると思われる。抗生物質はストレプトマイシンを使用した。培養前にストレプトマイシンの濃溶液で washed cell を作ったので bacteria の作用はさほどないと考えられる。もし bacteria による作用ならばすべての amino acid は一様に脱アミノされるが amino acid の種類により差があることは矢張り protozoa の選択性にもとづくものと思われる。

#### 4 ルーメン原生動物における生態学の立場

栗原 康

東北大学理学部生物学教室

#### *Ecological studies of the rumen protozoa of sheep*

Yasushi Kurihara

Department of Biology, Faculty of Science, Tohoku University, Sendai

一般に生態学者は、生物を考える場合、その生物本来のすみ場所につよくこだわる。ルーメン原生動物の場合には、いうまでもなく彼等のすみ場所は反芻動物という生体であり、もっと直接的には、ルーメンという消化器官である。だから原生動物の生態学的立場というのは、彼等の動態を生体内ルーメンとの関係においてとりあげること以外ならない。

in vivo において原生動物を考えると、まず遭遇する難問は基質を通じてのルーメン細菌群との諸関係である。従来 in vitro 実験で、原生動物に関する生理・生化学的研究が数多くなされてきたが、原生動物の無菌培養はおろか継代培養も非常に困難であることから、その結果の信憑性は必ずしも満足するべきものばかりとはいえない。in vivo での出来事を説明するにどの程度有効であったかという点についても、かなり問題を残しているように思われる。したがって、ルーメン原生動物の研究における生態学的立場というのは、(1)原生動物が生体内において、どのような役割を果しているかを知ることであり、もっと具体的にいえば、どのような faunation が生体の生理に最も望ましいかという家畜管理の方式確立を目標としている。(2)数多くの in vitro 実験による結果のうち、どれが生体内に適用しうるものであるか、つ

まり生体内における原生動物の動態を説明するのにどれが有効であるかを判定する、という2つの目標を持っている。以上の観点から、羊を生後直ちに親と隔離して、数頭の無原虫羊をつくり、同一の飼育室に入れて同一組成の飼料を与え、同じような空気由来、飼料由来の細菌感染の下にさらした。実験動物は triples である2頭の羊を選定した。これは体質的に類似しているの、個体差を出来るだけ消去しようと考えたからである。まず無原虫状態においた1頭の羊に *Entodinium* を移植し、安定相に達した後、*Polyplastron* を更に移植した。一方始めから正常な羊によくみられる混合原虫を移植して、(1)無原虫羊、(2) *Entodinium* のみをもっている羊、(3) *Polyplastron* と *Entodinium* をもっている羊、(4)多種混合の原生動物をもっている羊をつくった。これらについて細菌、原生動物、ルーメン活性の日週変化を比較した。又原生動物移植に伴う細菌の経時的変動を追跡した。このような実験によって原生動物の存否や faunation の相違による細菌相の応動、それに伴うルーメン活性の変動を in vivo レベルでしらべた。

1) 原生動物はいずれの種も細菌をとり込む。この事実の1部は Coleman (1964) の実験結果を支持する。この場合 *Entodinium* は生菌を選択に多くとり込む。

これはルーメン内容中液相部より澱粉顆粒のような固相部を多くとり込むことによるらしい。もしそうであれば湊らによる生菌数は液相部よりも固相部に吸着した形が多いという *in vitro* の実験結果を支持することになる。

2) *Entodinium* と *Polyplastron* の間には、基質特に澱粉に対する「うばい合い」がみとめられる。この事実は *Entodinium* が澱粉のみを分解する酵素をもち、*Polyplastron* は澱粉のみならずセルロース、可溶性糖類を分解できるというロエット学派の結果と矛盾しない。

3) 原生動物が存在すると、種類構成の如何をとわずルーメン内アンモニア濃度は高まる。この事実の一部は高橋による *in vitro* 実験を支持する。

4) 原生動物はバクテリアの *growth rate* や活性を促進させる。これはルーメン内の VFA 量の上昇によって反映される。

5) 原生動物の日週変化は、種類構成によってことなる。原生動物は細菌やルーメン活性の日週変動を変えてしまう。これは原生動物の存否によって極度な相違を示し、かつ原生動物の種類構成によっても異なる。

質問 板橋久雄(東大 農)

1 *Entodinium* が VFA 生成に大きな貢献はしていないとのことですが、他の研究者 Christiansen et al. (1967)によれば、mixed population でも、*Entodinium*だけの population でも差がないと報告されています。

私共でも Ento. を主体とした population で defannated とに大きな差がありました。この点如何ですか。

2. 細菌の問題については総菌数のみでなく、それぞ

れの種類の細菌のもつ活性も考えなければならぬと思えますが。

3. 粗セシイの消化における protozoa の役割はいかにお考えですか。そのようなセルラーゼ活性をもった細菌を accelerate するということですか。

回答 栗原 康(東北大 理)

1. *Entodinium* のみと defannated との間には VFA 生成にほとんど差がありません。しかし total count と viable count は defannated の方が Ento. だけより多いわけですから、*Entodinium* は VFA 生成に役立っているといえます。しかし私の実験では mixed にした時の方が Ent. だけより VFA 生成が大でした。Christiansen et al. の結果とのくいちがいは、動物個体差によるか飼料のちがいによるかよく分りませんが、我々の使用した動物は triples であり個体差を消すための配慮はかなりなされたことを附記します。

2. この実験では総菌数(死菌をふくめて)、可溶性糖類、澱粉、セルロース培地での生菌数、前二培地で優占した菌の morphological group についてしらべました。そして defannation と fannation によってかなり顕著な差がみとめられました。細菌のもつ活性は、*in vitro* fermentation rate についてしらべております。

3. セルロースを基質とする *in vitro* fermentation rate の日週変化のカーブは viable count のカーブとよく一致しているというデータをもっております。もっとも *in vitro* fermentation rate がどの程度 *in vitro* fermentation rate を反映しているかについてはもっと検討する余地があると思えます。

## 一般講演

### 1 *Paramecium multimicronucleatum* の接合時における核の変化の電子顕微鏡学的研究

稲葉文枝, 井上照子

奈良女子大学理学部動物学教室

### *Electron microscopy of the nuclear changes during conjugation in Paramecium multimicronucleatum*

Fumie Inaba and Teruko Inoue

Department of Zoology, Faculty of Science, Nara Women's University, Nara

*Paramecium multimicronucleatum* の接合過程の光学顕微鏡的観察は Barnett (1964) によりなされているが, 本研究では *Paramecium multimicronucleatum* の syngen 2, stock CH 323 (交配型Ⅲ) と CH 326 (交配型Ⅳ) を用いて, 接合開始より接合完了体において大核が完成するまでの核の変化を電子顕微鏡で観察した. 先ず食餌を調整して, 接合可能状態とし, 25°C で異なる交配型を混合すると, 直ちに凝集反応が起り, 約 1.5 時間後に接合対が形成される. 接合開始後, 初期は 30 分又は 1 時間, 中期は 2 時間, 後期は 12 又は 24 時間毎に材料を集めて, 低速遠沈で濃縮し, 1% オスミック酸 (pH 7.9) で 1 時間固定を行ない, エポキシ樹脂に包埋した. 超薄切片には, 酢酸ウラニール及び硝酸鉛で電子染色を施し, JEM-7 型電子顕微鏡で観察した.

栄養期の大核は約  $60 \times 30 \mu$  の紡錘形で, 4 個の大核は径約  $5 \mu$  の球形である. 接合開始後 30 分以内に小核は膨張し始め, クロモネマ塊は, ゆるんで全体に広がり, 小核は次第に紡錘形になる. 第 1 接合前小核分裂は約 3.5 時間後にクロモネマが一端に偏在し, 一方に片寄ったくびれを示す分裂像として観察される. 第 2 接合前小核分裂は 5~6.5 時間後にみられる. 第 3 接合前小核分裂の電顕像は, みる事が出来なかったが, 原核交換が行なわなるのは約 8.5 時間後であることが確かめられた. 移動核は径  $0.2 \mu$  の小さな塊状のクロモネマを含む丸い前端部 (径  $5.5 \mu$ ) と多数の平行する細管を含む細長い尾部 (長さ  $9 \mu$ ) をもち, 接合面の細胞質連絡をアメーバ運動により通過し, 相手方へ侵入する. 静止核は細胞質中に留まり, 楕円形 ( $6 \times 4.5 \mu$ ) で, クロモネマは太さ約  $60m\mu$  の細いらせん糸状を呈し, 全体にゆるく広がっている. 10~11 時間後に接合対は分離し, 接合完了体内で合核の分裂像がみられる. 大核原基の分化は約 12.5 時間後から仁の出現により起り始める. 以後, 大核原基は急

速に発達し, 電子密度の高い径  $0.3 \sim 2.5 \mu$  の不規則な塊状の仁が観察される. クロモネマは  $20 \sim 60m\mu$  の細いらせん糸として全体に分布する. 24.5 時間後, 大核原基内のクロモネマは約  $10m\mu$  の細いらせん糸として全体に広がっている. 一方, 小核原基は小さいままで, クロモネマが核内に散在しているもの, かたまっているものが同時に観察され, 同調的に分裂しないことを示す. 46 時間後, 大核原基内でクロモネマが部分的に径  $30 \sim 100m\mu$  のコイルを形成し始め, この頃, 接合後第 1 回の細胞分裂が起る. 約 70 時間後, 第 2 回細胞分裂が起り, 細胞内に 1 個の大核原基が含まれるようになるが, この時大核原基はほぼ栄養期の大核の状態となる.

質問 渡辺良雄 (予研 病理)

1. 小核中の microtubules はどこから出ていますか?
2. Microtubules と運動との間になにか関係があるとお考えでしょうか.

回答 井上照子 (奈良女子大 理)

1. 小核中の microtubules は観察の限りでは核膜の内側に接近しているのを見たことがありますが, はっきりと密着した像を観察したことがなく, 明確な答えをすることが出来ません.

2. 私は移動核において, microtubules はかなり大きな影響を及ぼしている, 即ち, 核の運動に関係していると考えます. 移動核の尾部に観察されることと, 稲葉らが既に観察した接合面の細胞質連絡部の通過中の核内に microtubules が観察されることから, 移動の原動力となっていると考えられます.

質問 斉藤 実 (横浜国立大)

1. 大核原基に仁が出現する時間及び第 1 回の細胞分裂を起す時間を聞きたい.

回答 井上照子 (奈良女子大 理)

1. *P. multimicronucleatum* においては, 大核原基の分

化の始めとして仁が出現する時間は接合開始後約12.5時間（接合対を形成するのが混合後1.5時間です）（異なる交配型を混合後約14時間）頃です。

第1回の細胞分裂は接合開始後約40~46時間（混合後

約41~48時間）に、すでに接合完了体が第1回分裂を終えているのを観察しています。接合時間、細胞分裂する時間は温度、培養時の栄養条件にかなり影響されます。

## 2 分裂期における *Blepharisma Ward* 系の核の電子顕微鏡的研究

稲葉文枝, 外川ユミ子

奈良女子大学理学部動物学教室

### *Electron microscopy of the nuclear events during binary fission in Blepharisma wardsi*

Fumie Inaba and Yumiko Sotokawa

Department of Zoology, Faculty of Science, Nara Women's University, Nara

異毛目に属する繊毛虫 *Blepharisma wardsi* の大核は2~6個の球形の節からなり、細い糸で結ばれている。分裂期に入ると節が漸次融合し、後部虫体に口域形成が起こる頃1つの塊状になる。虫体中央部がくびれ始める頃、塊状核は伸長を始め、虫体に分かれる頃に大核の分節が完了する。この分裂過程における大核及び小核の変化を電子顕微鏡で観察した。

固定はペロナール緩衝液で pH7.9 に調整した 1% オスマック酸を用いて氷室内で 30 分行ない、エポキシ樹脂に 1 個体ずつ包埋した。解剖顕微鏡下で分裂段階を判定した後、超薄切片にして、酢酸ウラニール及び硝酸鉛で電子染色を施した。電子顕微鏡は JEM-7 型を使用し、約 50 個体について観察を行なった。

1. 分裂間期の大株の核膜は厚さ  $23\text{m}\mu$  で、径  $100\text{m}\mu$  の膜孔が多数みられる。基質中のクロモネマの太さは  $100\sim 300\text{m}\mu$  である。小核は球形で、太さ  $70\text{m}\mu$  のクロモネマが網目状に固まっている。核膜は大核と同様で、径  $100\text{m}\mu$  の膜孔がみられる。

2. 塊状期の大核では、中空部をもつ径  $5\sim 10\mu$  の巨大な仁がみられる。クロモネマは径  $100\text{m}\mu$  の小塊として散在している。小核中のクロモネマは太さ  $30\sim 40\text{m}\mu$  の細いひも状で、核内全体にひろがっている。

3. 多少伸長を始めた大核では、仁の周辺部に径  $200\sim 300\text{m}\mu$  の電子密度の高い固まりが存し、仁の内部は径  $20\text{m}\mu$  の粒状を呈する。クロモネマ塊の間には、2本の糸からなる太さ  $10\text{m}\mu$  のらせん糸が満たしている。この時期の小核は分裂中期を示し、染色体と多数の紡錘糸がみられる。

4. かなり伸長した大核では、核膜の外側に細管が多数付着し、長軸方向に走っている。仁の数は増しているが、径は小さい。クロモネマはさらにほどこ、径  $100\text{m}\mu$  位の固まりはまばらに分布し、それらの間は太さ  $5\text{m}\mu$

の2本ずつ平行した糸が満たしている。この時期の小核は分裂後期ないし終期を示す。新核膜が旧核膜の内膜から形成され、紡錘糸は消失する。

5. さらに長く伸びた大核では、仁は少なく、大核内は2本の糸からなる太さ  $10\text{m}\mu$  のらせん糸で満たされている。小核は新、旧2重の核膜で囲まれており、クロモネマは太さ  $50\text{m}\mu$  のひもの密な固まりとなっている。

6. 分節が始まった大核では、節間部に、クロモネマが  $10\text{m}\mu$  の太さの糸から  $100\text{m}\mu$  の太さのひも状になる過程がみられる。細胞質中には、核膜に端を発する長い細管が、核の長軸に平行して走っている。節の部分では、仁は多少大きく、径  $0.7\sim 1.3\mu$  の球形を呈する。

7. 分節が完了した大核では、クロモネマは太さ  $100\sim 200\text{m}\mu$  のひも状で、分裂間期とほぼ同様である。小核も分裂間期と同様であるが、なお新、旧2重の核膜をもつものもあり、膜孔の径は  $70\text{m}\mu$  で幾分か小さい。

質問 渡辺良雄 (予研 病理)

テトラヒメナでは大核の分裂伸長時にあきらかな microtubules がみられますが、プレハリズマでも切片の方向がきちと縦にきれた場合には大核内にも小管がみえるのではないのでしょうか。

回答 外川ユミ子 (奈良女子大 理)

*Urostyla* の分裂期の大核中には明らかに microtubules がみられておりますが (菅沼, 稲葉; 1967: 動雑), *Blepharisma* では、すべて外部の、大核に接近した部分にのみ、みられました。切片で、大核内にみられている場合には、必ず、大核の核膜でかこまれていますので核膜が入り込んでいるものと考えております。なお、膜孔装置と microtubules とに何らかの関係があると思われるのですが、今のところそれを確認する十分な像がみられておりません。

### 3 *Trypanosoma evansi* の微細構造に関する研究

猪木正三, 大野芳明, 隅本修

大阪大学微生物病研究所原虫学部

#### *Studies on the fine structure of Trypanosoma evansi*

Shozo Inoki, Yoshiaki Ohno and Osamu Sumimoto

Department of Protozoology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, Osaka

家畜のズルラ病病原体 *Trypanosoma evansi* (台湾株) を接種感染したラットから, 全血を CGS 液 (クエン酸ソーダ, 食塩, ブドウ糖を各々 0.5% 含む液) に採取し, 3,000rpm, 5 分間遠心して原虫を集めた. 各々 phosphate buffer (pH7.0) で緩衝した. 1% glutaraldehyde, 1% osmic acid で 30 分間, 4°C で 2 重固定し, Luft の方法に従って包埋, 重合した. 切片は, 50% アルコール飽和 uranylacetate にて 30 分染色後 Reynold の硝酸鉛染色液で 10 分間 2 重染色した. 日立 HU11B 型電子顕微鏡を使用し, 75KV で検鏡した. 本実験でとくに興味のある所見は下記の通りである.

1 Kinetoplast: K 型 (kinetoplast をもつ) 原虫の kinetoplast 内には螺旋状の毛細繊維が見られ, 各繊維は 2 重になっているのが観察された. AK 型 (kinetoplast をもたない) 原虫の kinetoplast 様小体の中には無構造の dense な小塊が常に存在し, 上記の螺旋構造は認められない.

2 Microtubules: 細胞膜の直下 (subpellicular), 鞭毛の中, 核内に見られた. いづれも直径 27m $\mu$ , 厚さ 8m $\mu$  ぐらいの細管であるが, それらの総てが発生学的に同じものであるかどうかは明らかでない. subpellicular fibre の各繊維間の距離は約 13m $\mu$  である. 核内の細管は細胞分裂の時現われるように思われる.

3 膜: 細胞膜は厚さ 5m $\mu$  ぐらいの unit membrane である. その外側に厚さ約 11m $\mu$  の cell wall が認められた. 核及び kinetoplast の膜は約 9m $\mu$  の厚さの unit membrane の 2 枚から成っている.

### 4 *Trypanosoma gambiense* の p-rosaniline 耐性形質転換因子の精製

猪木正三, 小野忠相

大阪大学微生物病研究所原虫学部

#### *Purification of the transforming principle in the p-rosaniline resistance transformation in Trypanosoma gambiense*

Shozo Inoki and Tadasuke Ono

Department of Protozoology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, Osaka

4 鞭毛: 波動膜内の鞭毛に接して accessory filament があるが, 仔細に観察すれば格子状のものが層になって重なっていることがわかる. 鞭毛の中心の 2 本の細管の回りを取り巻いて, 円盤状に見える構造が, bottom plate から先端まで重なっている. 4 又は 5 枚目毎に, 1 枚の円盤が規則正しく斜めに傾いている像が見られる. しかし見方によっては, 繊維が螺旋状に細管を取り巻いているようにも見える.

質問 1. 阿部 徹

*Trypanosoma* の鞭毛の中軸に円盤状のものありとされたものは, tubules がスパイラル状をとったのではないのでしょうか?

質問 2. 渡辺良雄 (予研 病理)

鞭毛の 9:2 の中心の軸に円板があると申されますが, それはテトラヒメナなどでみられる secondary fibre がラセン状にまいているのではないのでしょうか?

回答 (1, 2) 大野芳明 (阪大 微研)

その円板は一枚ではなく, さらに小さく区画され中空です. 真中は central fibre の通る穴があり, 見方により tubule であるともいえると思います. ラセンであるか層状であるかは決定しにくいと思いますが, ラセンですと伸びた状態の時, 数ピッチずつ区画が出来ず, 一様に伸びるか, あるいは漸次間隔が増大 (小) するように思いますが……. 円板の外縁は secondary fibre と同じ位置にあります, その断面は点ではなく線 (円) に見えます. もう少し精度の高い写真を取ってはつきりさせたいと思います.

*Trypanosoma gambiense* はアフリカ睡眠病の病原体として知られる住血鞭毛虫であり, 鞭毛起始部に近く約 1 $\mu$

大の自家増殖性顆粒, すなわち kinetoplast をもっている。猪木およびその協力者らは1953年以来, この原虫の kinetoplast が消失する現象について 遺伝学的な研究を行ってきた。そして1957年猪木らはこの原虫の *p*-rosaniline 耐性の形質が形質転換しうることを発表した。この成績は細菌と同様, 原虫にも形質転換が存在することを初めて実証したものとして重要な知見である。しかしこの時の実験では donor として用いた *p*-rosaniline 耐性株の原虫はこれを凍結融解して得た lysate を使用しており, 従ってこれから更に形質転換因子を抽出して実験を行なう必要があるわけである。そこでこの点について実験を行なった。実験に用いた材料は *Trypanosoma gambiense* wellcome 株の *p*-rosaniline 感性株 (原株, 以下WSと略) と耐性株 (以下WRと略) であり, 形質転換には recipient としてWSを用いたがWS感染マウスの腹腔内に *p*-rosaniline を注射してAK型誘発試験を行なうと, kinetoplast を欠除した原虫, すなわちAK型原虫が約29%出現する。一方, donorとして用いたWRに対してAK型誘発試験を行なってみると, WSと違って約4%しかAK型原虫が誘発されない。従って感染マウスに *p*-rosaniline を注射してAK型誘発試験を行なうことにより, 感染原虫が *p*-rosaniline に対して耐性か否かを判定することが出来る。この場合, 誘発試験を行わなければAK型原虫の出現率は1%以下である。Donor からの DNA の抽出はまず SDS-phenol 法によって核酸を抽出し, ついでこれを RNase で処理し, 透析した後, 更にメチル化アルブミンカラムクロマトグラフィーで分画する方法によって行なった。すなわちまずWRに感染極期のラットから全血をとり, 遠心沈澱によって原虫を集め, それを1M NaCl に懸濁し, ついで2%SDSを1/10量加えた。その後, アセトン・ドライアイスによる凍結融解を10回反覆して原虫を破壊した。続いて精製した90%石炭酸水を原虫 lysate 液と同量加え, ゆるやかに1時間振盪した後, 11,000rpm で15分間遠心沈澱し, 上清の水層をとった。これに再び90%石炭酸水を加え, 以下, 蛋白層がなくなるまで同じような操作を

くりかえした。こうして最後に得られた水層をとり, それに同量のエーテルを加えて軽く振盪し, 混入した phenol を除去する操作を行ない, その後, 2倍量の95%エタノールを加えて核酸をとった。これに含まれる RNA は最終濃度50 $\mu$ g/mlの RNase を37°C 30分間作用させてから透析を行なって除去した。なお, この場合, RNase はこれに混入する DNase を破壊するためにあらかじめ80°C 10分間加熱し, その後, 使用した。このようにして得た DNA は Mandell and Hershey の方法に従ってメチル化アルブミンカラムクロマトグラフィーで分画した。その結果, DNA は塩濃度が0.67Mの時に単一のピークとして得られ, この標品中には RNA や蛋白質がほとんど検出されなかった。そしてこれによって形質転換が可能であった。従って猪木らが1957年に報告した *Trypanosoma gambiense* の *p*-rosaniline 耐性に関する形質転換因子が DNA であることがここに明らかとなったわけである。

質問 渡辺良雄 (予研 病理)

1. 形質転換を核の DNA がするとお考えですか, それとも kinetoplast DNA がするとお考えですか,

2. CsCl でリーシュマニアでは kinetoplast DNA と核の DNA がよく分けられています。試みられたことはございますか。

3. Akinetoplastの虫体にはミトコンドリアがあるのでしょうか。

回答 小野忠相 (阪大 微研)

1. *Trypanosoma evansi* の *p*-rosaniline 耐性株は kinetoplast のないAK型原虫ですが, これを donor として形質転換が可能です。従って核 DNA が形質転換因子となることは確実です。Kinetoplast DNA も可能性があると思いますが, これについては現在実験中です。

2. 私もあの論文に興味をもっており, セシウムクロライドを使ってぜひやってみたくて思っております。

3. 実験に使用しているマウス継代株では, K型, AK型 (akinetoplast form) 共にミトコンドリアがみられません。

## 5 トリパノソーマの凝塊抗原に関する研究

猪木正三, 吉川勝美, 大野芳明, 高柳坦

大阪大学微生物病研究所原虫学部

### *The studies of the agglomeration antigen on Trypanosoma gambiense*

Shozo Inoki, Katsumi Yoshikawa, Yoshiaki Ohno and Tan Takayanagi

Department of Protozoology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, Osaka

*Trypanosoma gambiense* のO(原型)→R(変異型→再発型)→O(原型)変異系については, 私達の教室から既に

多くの報告がなされている。

今回はこの基本型であるO型を決定する抗原物質を純

粹に分離し、あわせてその抗原の原虫細胞内の分布について調べた。寒天内拡散によるとトリパソソーマの抗原は5~6本の沈降線として示される。そこでこれらの抗原をR型の原虫抗原と対比して展開すると抗原池に近いゲル内に顕著な沈降線としてO型特有の沈降線を認めることが出来る。これがいわゆるO型を決定するO型特有の抗原であるが、硫酸分画すると30%飽和を中心に40%飽和において分画中にすべて含まれている。この分画を更にSE-セファデックスで分画すると400ml前後に目的の抗原を認める。沈降図形をみると単一のピークを示し、沈降係数は8.2Sと認めた。電気泳動をみると陽極に泳動する性質をもっている。細胞内でのこの抗原の分布はフェリチン抗体法によって観察されたが、その電顕切片像に現われる鞭毛の周囲及び鞭毛基質中にフェリチン粒子が認められたので、この抗原が鞭毛部にかなりの

局在性を示すものと判断された。

質問 中林敏夫(長崎大 熱研)

フェリチンは鞭毛のどこに特に多く認められるか、内部、外層、鞭毛起始部、遊離部等に関して?

回答 高柳 坦(阪大 微研)

鞭毛起始部、遊離部など鞭毛各部に認められますが、鞭毛の微細構造との対応は明らかではありません。

質問 渡辺良雄(予研 病理)

凝塊抗原は鞭毛に多いというお話ですが、当然cell中に鞭毛の組材になる蛋白が含まれていると思います。そのような細胞内の蛋白にフェリチン抗体がある程度結合するかどうかおうかがいします。

回答 高柳 坦(阪大 微研)

細胞内にも多少のフェリチン粒子は認められます。

## 6 防御抗原の立場からみた *Trichomonas foetus* の cellular component

岡 好 万, 伊 藤 義 博, 尾 崎 文 雄

徳島大学医学部寄生虫学教室

### *Cellular components and protective antigenicity in Trichomonas foetus*

Yoshikazu Oka, Yoshihiro Ito and Humio Osaki

Department of Parasitology, School of Medicine, Tokushima University, Tokushima

*Trichomonas foetus* 10<sup>7</sup> parasites の腹腔内攻撃はマウスに100%の致死感染を生ぜしむるが、10<sup>5</sup>~5×10<sup>6</sup> parasitesの感染に耐過したマウスはその後の致死感染に対し高い特異抵抗性を示した。しかし死虫免疫(2×10<sup>7</sup> parasites)では何程の抵抗性も認められなかった。そこで我々は生虫を構成する多くの抗原物質のうち、ある特定のものが自然の活性を失わない限り protective antigenとして作動するのではないかと仮定し解析を進めた。Teflon homogenate(0.001M MgCl<sub>2</sub>-0.25M sucrose)を differential centrifugation method により 12,000×G-sediment (LG), crude microsome (CM) 及び final supernant (FS)に分画し、更にCMは Na-deoxycholate と ribonuclease の処理を適宜組合せることにより crude ribosome (CR), crude ribosomal protein (CRP) 及び crude membrane structure (CMS)に分画し、これら各分画成分についての protective antigenicity を CF<sub>1</sub>系マウスを用いて分析した。その成績の概要は下記のごとくである。最初LG免疫群及びLG+complete adjuvant免疫群の比較においては両群ともに感染死をまぬがれた動物はみられず、adjuvant の効果も認められなかった。

ただこの両群は対照群に比して幾分の延命効果を表わした。この効果はLGに含まれるわずかのheavy ribosomeの影響と思われる。CM免疫群とCM+complete adjuvant免疫群は攻撃に対しても70~85%の高い耐過率を示した。すなわちCMの高い protective antigenicityの発動には adjuvant が必要でないことを示唆している。FSは宿主に高力価(1:2,048)の humoral antibody を産生せしむるにもかかわらず protective antigenicity に欠けた。CR免疫群とCR+complete adjuvant免疫群の比較においては後者で高い耐過率(80~90%)を認めただにもかかわらず前者ではこれが著しく低下(30%)した。これと全く同様の結果がCRP免疫群とCRP+complete adjuvant免疫群の比較において得られた。CMSの数回にわたる protective antigenicityの検討においてはその都度成績に動揺があったが、常に無視できない—ある程度の—耐過率が認められた。しかし、耐過マウスに慢性炎症が観察され腹腔内に多数の活動原虫を認めた。すなわちCMSの protective antigenicityにかなり不明確な結果を得たことは我々が採用したこの分画の製法上から、CRPあるいはその他の成分の



contamination の程度が影響し CMS 自体の結果と判定出来ないうらみがある。以上の結果を更に進展させるため我々は次のことを仮定したい。病原細胞——生きている——に存在する protective antigenicity は microsome に存在するが、その抗原特有の情報は ribosome (おそらく ribosomal protein) に print され、それが宿主細胞で解読され、反応する過程に至るまでのどこかで membrane structure (lipoprotein) の存在を必要とするのであろう。しかしこの membrane structure は complete adjuvant のような人工的な物質により代入することが可能であるらしい。この仮定は作業上のもので弾力性をもち今後の検討により修飾される可能性を十分に含むものである。

質問 猪木正三 (阪大 微研)

1. 血清抗体は感染防御に無関係ですか? そのように断言するのはまだ早すぎるように思う。

2. 感染防御抗原の分析は非常に詳しく行なわれているが、感染防御の機序について更に詳細に検討する必要があるか?

回答 岡 好万 (徳島大 医)

1. 無関係とは申し上げませんが、少なくとも主導性を持つものでないことは、断言出来る証拠が微生物領域の問題から挙げられています。

2. もちろん検討は今後の問題として数多く残されています。分子レベルで特に protein 合成に結びつけて防御免疫を開発するのはこれからであり、我々の実験は、その基本ベースを開いたにすぎません。

追加回答 尾崎文雄 (徳島大 医)

目下 visible immune reaction という意味での進め方もいささか考えておりますので、基礎的条件がうまく行きましたらそのうちにスタートしたいと思っております。

質問 中林敏夫 (長崎大 熱研)

Ribosomal protein を接種した場合、血清抗体は認められますか。もしあれば、この抗血清と原虫の間に in vitro で何かの反応が見られないだろうか。

回答 岡 好万 (徳島大 医)

もちろん抗体は血清学的に証明可能であり血清学的抗原抗体反応のレベルで観察出来ます。しかし、この抗体は防御抗体とは別のものであります。

## 7 *Trichomonas foetus* の細胞構造と遠心分画物の化学組成

伊藤 義博, 岡 好万, 尾崎 文雄  
徳島大学医学部寄生虫学教室

### *Cellular structure and chemical composition of centrifugal fractions in Trichomonas foetus*

Toshihiro Ito, Yoshikazu Oka and Humio Osaki

Department of Parasitology, School of Medicine, Tokushima University, Tokushima

マウス腹腔を場とする実験トリコモナス症の防御抗原性を追求するに当たってさきにわれわれは、原虫 homogenate の microsome 分画で免疫したマウスが原虫の再感染に耐過し、この分画に高い防御抗原性の存在することを証明した。このたびは超遠心分画物を化学組成と細胞構造の上から検討して抗原性の解析を行なった。実験には48時間培養の *Trichomonas foetus* を用い、0.25M-sucrose, tris buffer (pH7.2), 0.001M-MgCl<sub>2</sub> を溶媒として teflon homogenate を作成した。これを遠心分画し、1,300×G (Sed 1), 13,000×G (Sed 2), 43,000×G (Sed 3), 144,000×G (Sed 4) の各沈渣と 144,000×G 上清 (final supernatant) を得、これらについて lipids fraction (Schneider 氏法) から無機リン量を測定して、phospholipid 量に換算し、nucleic acid fraction (Schneider 氏法) から RNA (orcinol 反応), DNA (indole

反応) を定量し、また 10% perchloric acid の沈渣から、protein 量 (Lowry 氏法) を求め、一方各分画の塗抹法ネガティブ染色像で細胞構造を電子顕微鏡的に観察した。得られた化学成分の回収率 (%) 及び protein 量 (1 mg 当たり) は、(Sed 1) DNA 59.6% (81 $\mu$ g/mg), RNA 9.2% (81 $\mu$ g/mg), phospholipid 18.2% (215 $\mu$ g/mg), protein 12.2%; (Sed 2) DNA 24.8% (27 $\mu$ g/mg), RNA 25.0% (138 $\mu$ g/mg), phospholipid 31.6% (428 $\mu$ g/mg), protein 15.6%; (Sed 3) DNA 4.5% (7 $\mu$ g/mg), RNA 19.6% (154 $\mu$ g/mg), phospholipid 31.6% (428 $\mu$ g/mg), protein 11.0%; (Sed 4) DNA 1.8% (3 $\mu$ g/mg), RNA 33.0% (260 $\mu$ g/mg), phospholipid 6.8% (93 $\mu$ g/mg), protein 10.8%; (final supernatant) DNA 9.2% (3 $\mu$ g/mg), RNA 13.0% (22 $\mu$ g/mg), phospholipid なし, protein 50.4% であった。電顕像は、(Sed 1) 核成分

を主体とし細胞未破砕物、鞭毛等を含む；(Sed 2) 細胞膜由来と考えられる大破砕膜を主とし、glycogen 顆粒を認める；(Sed 3) 小破砕膜、小胞体膜が認められる；(Sed 4) 多数の Sed 3よりさらに小さい vesicle 状膜構造物とライボソームから成る。以上から DNA は大半 Sed 1 に集合し、これは電顕像からも核由来のものと考えられ、他の分画では遠心力により DNA 量が漸減しその回収率は homogenation の条件に左右されるものと思われる。RNA の分布は不均等で、Sed 1 の RNA は核小体、Sed 2, 3 のは membrane-bound ribosome, Sed 4 は free ribosome, final supernatant は t-RNA

が主体をなすものと思われる。Phospholipid の所在も不均等で、これは膜の破砕程度によって異なるものと考えられ、電顕像からは小胞体由来の phospholipid が多かった。なお、final supernatant において protein の回収率が高度であるにもかかわらず防御抗原性の低いことは興味深い。また microsomes 分画に該当する Sed 3, 4 には特記すべき化学組成上の特徴が認められず、むしろ小胞体、ライボソーム等の細胞構造的な特異性を有していた。さらに化学組成を細分析して細胞構造との関係を観察している。

## 8 トリコモナスのアミノ酸取込みに関する 2, 3 の検討

高田 季久, 井関 基弘, 相原 宏司  
大阪市立大学医学部医動物学教室

### *Studies on up-take of <sup>14</sup>C-labeled amino acids by Trichomonas vaginalis*

Suehisa Takada, Motohiro Iseki and Hiroshi Aihara

Department of Medical Zoology, Osaka City University Medical School, Osaka

*Trichomonas vaginalis* のアミノ酸代謝、蛋白合成能等を研究する基礎として各種アミノ酸の虫体内取込みの時間的観察を行ない、抗トリコモナス薬剤のそれにおよぼす影響についても検討した。また虫体構成アミノ酸組成を自動アミノ酸分析装置にて分析検討し、さらに虫体の遠心分画についての電子顕微鏡的観察も行った。各実験は *Trichomonas foetus* についても行ない *T. vaginalis* と比較検討した。アミノ酸分析の結果ではこの原虫特異的に欠損したアミノ酸や特に多量に含まれるアミノ酸は認められなかった。アミノ酸の虫体内取込みに関しては、<sup>14</sup>C-valine, <sup>14</sup>C-leucine を用いて実験を行なった。まず *T.v.* 4F株(あるいは *T.f.* トリコ株) を湿重で 3 g 集め、<sup>14</sup>C-valine(あるいは <sup>14</sup>C-leucine) を加えた incubation medium 30ml 3本に虫体 1 g ずつ浮遊させ 37°C に保ち、20分、40分、60分後に各々集虫し 0.25M sucrose 液にて 3 回洗浄した後音波破砕装置で虫体を破砕(10kc, 2.5分)し、遠心分画を行なった。1,000 × g, 10分の沈渣(P-1), 15,000 × g, 30分の沈渣(P-15), 105,000 × g, 60分の沈渣(P-105)および上清(S-105)の各分画についてその比放射能を gas flow counter で計測しまた蛋白量を Lowry 法にて定量した。その結果蛋白あたりの比放射能(c.p.m./mg)は S-105 に最も高く、次いで P-105, P-15, P-1 の順であった。Incubation の時間が長くなるにつれて、P-15, P-1 等の比放射能がだんだん高くなる傾向が一

応認められたがそう顕著ではなかった。Leucine よりも valine の方が多く取込まれ、*T.v.* と *T.f.* との差はあまりなかった。また抗トリコモナス剤として Trichomycin, Flagyl を用い各々 10μg/ml になるよう上記 incubation medium に加え <sup>14</sup>C-valine, <sup>14</sup>C-leucine の取込みに対する影響を調べたが、いずれの場合も対照の 50% 程度まで取込みを阻害した。ある分画で特徴的に抑えられることはなかった。各分画の生理的機能については目下検討中である。

質問 扇元敬司(家畜衛試)

細胞を破壊した時の条件はどのようでしょうか。とくに浮遊液はなにをもちいましたか。

回答 井関基弘(阪市大 医)

0.25M sucrose 溶液 30ml に虫体を湿重で約 1 g 量浮遊させて 10kc, 2.5 分行なった。

質問 河村信夫(慶大 医)

1. 音波発生装置を使う時、10kc, 1 分の条件で *T.v.* は完全に破砕されるか、
2. 音波による破砕と、凍結融解による破砕とに差がでてこないか、
3. 虫体の株による差に気付かれたことはないか、

回答 井関基弘(阪市大 医)

1. 1 分ではあまりつぶれない、
2. 出ると思われる、

3. まだ検討していない。

質問 渡辺良雄 (予研 病理)

1. 馬血清のないとき、アミノ酸の取込みはおこりませんか。

2. アミノ酸取込みを fraction にわけてみる意義はどこにあるのですか。

回答 井関基弘 (阪市大 医)

1. この実験の場合 suspension medium には馬血清は含んでいない。馬血清を加えれば、取込みが促進されることは間違いない。

2. 将来各 fraction の酵素活性や、それに対する抗トリコモナス薬剤の影響などを検討するための基礎とし

て行った。

質問 小野寺良次 (宮崎大 農)

1. *Trichomonas* は、N栄養源としてアミノ酸にどの程度依存しているか。

2. *Trichomonas* には口があるか。

3. 蛋白 (可溶) の吸収はあるか。

回答 井関基弘 (阪市大 医)

1. かなりの量と思われる。

2. 口は電顕では認められていないが、吸収を行なう特定の場所はあると考えられる。

3. あると思われる。

## 9 *Noctiluca miliaris* の生態に関する研究

### 1. 一般形態

安達 六郎

三重県立大学水産学部

## *Ecological study of Noctiluca miliaris*

### 1. *The general morphology*

Rokuro Adachi

Faculty of Fisheries, Prefectural University of Mie, Tsu

近年、沿岸漁場でしばしば赤潮が発生して水産上被害をまねている。著者はこの赤潮の生態を研究するために我国で随所に出現して赤潮を形成している代表的な種類として、現在 *Noctiluca miliaris* の研究にあたっている。一般形態の次には食性、性質を解析するための体内機構形態の観察、生活史、天然の生態観測へと進めたい考えである。ここではその一般形態について報告したい。

一般形態観察は形態面とその大きさの2点より行なっている。

1. 形態に関してはこの生物が夜光虫として古来より広く知られ、1791年に Bruguier がこの種の特徴である触手を観察しており、更に Huxly (1858) が歯状突起及び鞭毛を認めている。その後 Kofoid (1921) によってこの種の形態について整理、検討されて今日に至っている。そこで著者は、前者知見と観察結果を比較することによって Kofoid の説と相違点が生じた。それは、(a) *Noctiluca* には Kofoid の指示している横溝の下側線に相当する発達した部分がほとんど観られぬこと。(b) 従来まで歯状突起の所より鞭毛が走っているとされていたが、著者の観察では歯状突起の所でなく、少し離れた個所よ

り走っている。(c) 前記の a, b 相違点より発展させて *Noctiluca* の形態を解析してゆくと、Kofoid と大きな相違点に達した。即ち体頂部の変形とされていた桿状器は体下部で縦溝の一部分変形したもの、体下部の変形とされていた触手は体の中部にあたる。更に横溝及び縦溝の位置が異ってくる等である。(d) しかし鞭毛は縦鞭毛とし、歯状突起が横鞭毛の変形と考察する点は Kofoid の考えと同じである。

2. 次に *Noctiluca* の大きさを比較するために一般的な体構成形態及び部分一長、体幅、体厚、触手及び桿状器を多数の個体につき測定してその相互の傾向を求めた。その結果は、(1) 体長一長、体幅一長、の両者は正の相関を示しており、ほぼ一定な体形を示していた。(2) 体の一部分である触手及び桿状器は体の大きさと特に相関関係が認められず、この傾向は触手が著しい。このことは両者が体の大きさと比較的無関係な固有の構成部分と推察される。

質問 阿部 徹

ノクテルカの2本の鞭毛の内の細いものに、波動膜状構造が長軸沿いに発達してしまいませんか。

回答 安達六郎 (三重県立大 水産)

*Noctiluca* を多数観察していますと、まれに長い鞭毛の他に更に1本の鞭毛が認められることがあります(これは私は観察の方法に未だ不十分な所があるためかも知れません)。短鞭毛は長鞭毛の長さより非常に短いため

観察未だ充分ではありませんが、長鞭毛が長軸沿いに走っているに対して、短鞭毛は必ずしも一定していない様に思います。この短鞭毛に関しては更に今後検討して観察を行なってゆきたく考えています。御教示ありがとうございました。

## 10 主として *Ceratium* を指標として考察した相模湾プランクトンの特殊性

阿部 徹

東京, 小金井

### *Characteristics of phytoplankton from Shimoda Bay, revealed by morphological study of armoured dinoflagellates*

Tohru Abé

Koganei, Tokyo

相模湾をはきんでその東西に位置する油壺沖とのプランクトンと下田湾内外のそれとは著しい相違をみせる。ここに述べる諸現象は1936—7年に観察されたものであるが、油壺沖では黒潮海流より分派せる相模湾流は顕著でなく、プランクトンは温帯沿岸水域性のものである。下田湾口の沖1キロ附近には烈しい騒音を伴う西向流があり、湾口付近で採取されるプランクトンは概して oceanic 希ながら tropical のものが混在する。

上げ潮時、湾口内の赤壁南の水域からは、*Histioneis hippoperoides*, *H. pietschianic*, *H. mitchellana* が極く少数ながら採取されたが、それらは、大太平洋赤道流の東端域(米大陸沖)、ボルネオとズンダ列島との間、印度洋、大西洋ではカリブ海等のみより少数個体についての報告あるのみで、遠洋性、深層水域棲(300尋からの垂直曳網で採取)されている。

この赤壁南域に現われるプランクトンの特殊性を理解するに役立つ現象が、本来的に表層棲とされる *Ceratium* の解析から得られた。上げ潮時には、表層曳で長角大形態がかなり沢山採取できるのに、下げ潮期に入るやそれらは表層から姿を消し、数米の下層を水平曳して得る材料中には、3本の長角をことごとく基部から自切した残りの中体のみがおびただしく出現し、下げ潮がつづくこの層からも、角を喪失した *Ceratium* さえ見出しえなくなる。長角を3本ともに一斉に基部から autotomy によって棄て去る現象は文献中からは1例も見出されない。当時、湾内の定地点観測に従事していた文理大地理学科の方々に、満潮時直前から下げ潮に移った少時後までの海水表層の水温と塩分濃度との測定を依頼したとこ

ろ、筆者の予想と一致した結果、即ち、上げ潮時の低温高塩分がやや高温低塩分と変わり、その変化域が湾奥に注ぐ稲生沢川の河口付近から湾口に向かってかなりの速さでひろがる、という報告をえた。この報告にもとづけば *Ceratium* の異例なまでに顕著な autotomy を誘起した因子としては表層における急激な塩分低下が主要なものと想定される。

下田湾外の海底地形を海図上に等深線をむすんで描いてみると、溺谷状の凹溝が湾口付近から深さを増しつつ南々東の沖に向かってのびている。沿岸より小距沖の烈しい黒潮支流が、上げ潮にこの溺谷沿いの上昇流を誘起する可能性を想えば、純熱帯流を固有棲域とする *Histioneis* が溺谷末端の赤壁南域の表層に出現することも理解できようし、*Ceratium* の一斉な autotomy も説明できる。

油壺側のプランクトン相は、東京湾内の反時計回りの弱い湾流が、一方では相模湾流を西に偏在せしめ、他方では三崎半島の岬から東南の沖に流去する傾向を強め、一部は岬をまわって油壺沖に入るとして理解できる。

質問 安達 六郎 (三重県立大 水産)

1. *Ceratium* 類がオートトミーを起すことを興味深くうかがいました。従来までこの角の発達した角度で種を分けておられるのですが、この点、オートトミーを起した形態から元の形態を推理、関係上その形態に特徴的部分がありましたらお教え下さい。

2. これはオートトミーを起した角の根本で場所、位置は重要視されるものでしょうか。

3. オートトミーを起す原因として塩分に関係してい

様にうかがいました。塩分濃度の変化量が小さくても起こる。又は大きい際とお考えでしょうか。大約お教えいただければ幸いです。

回答 阿部 徹

1. 今後の研究に期待するほかありません。Hypotheca から出ている horns の伸展方向と湾曲度等が、さして種別の判定に役立ちえない場合のあることは、polymorphic chains の既出版報文を検討されてもわかりましよう。

2. 数個体で、同時に3本とも、根本から切り棄てられた報告は、私は知りません。

3. この因果関係を厳密精確に追求された信憑度の高い報告は今までありません。

質問 齊藤 実 (横浜国立大)

1. Histioneis の出現期と個体数についてうかがいたい。

2. Ceratium が角を切るメカニズムについてうかがいたい。

回答 阿部 徹

1. 報告例においても、下田湾口でも、観察個体数は、きわめて僅少につき、この点は答えられないが、津軽海峡では温海棲の poroceratium が冬期に特に出現することは、津島朝鮮海峡に由来する暖流末端が津軽海峡を東流する、その全域の海流の強弱に関係ありと考えざるをえないことが、われわれの理解をたすけてくれると信じられる。

2. メカニズムは不明。ただ、有殻渦鞭毛虫一般にいうことは、体表の殻板の外表が、時に応じて、体内に由来する細胞質の薄層でおおわれることがあることを考慮に入れられれば、わかると考えます。輪状の細溝が、殻板の外表から漸次に深まり、角を切断する結果を生ずることは観察される。

## 11 汚水系原生動物群集と群集構成状態による浄化能の指標化

盛 下 勇

荏原インフィルコ株式会社研究部

### *A study of the method for indication of the purifying activities and operating conditions of activated sludge by protozoa-fauna component of activated sludge*

Isamu Morishita

Research and Development Department, Ebara-Infilco Co., Tokyo

従来から都市の污水汚物、あるいは産業廃水等を衛生学的あるいは無害化のために使用されて来た処理方法に活性汚泥処理法がある。本法は細菌、原生動物および水酸化物等から構成され、凝集力、吸着能、および沈降性のある活性汚泥(activated sludge)と呼ばれるものを使用する方法である。活性汚泥に関する生物学的研究は諸外国においては比較的多く行なわれているが、我国においては污水汚物、廃水等の処理自体が近年になってはじめて全国的に行なわれるようになったためもあり、その研究報告例はきわめて少ない、特に原生動物学的立場からの例は皆無に近い。演者はこのような背景から特に原生動物について、水処理学的立場から、その意義を解明すると同時に原生動物生態学の立場からも検討するの必要を感じ全国に設置されている施設、あるいは研究室内で行なわれている実験装置等の活性汚泥についてその実態を調査検討して来たが今回はその一部を報告し、諸兄の御批判あるいは御援助を賜りたいと考えるしだいであ

る。

活性汚泥の原生動物群集はその装置に流入してくる原水水質あるいはその背景となる運転条件によって質的、あるいは量的に異なった面が認められ、いちがいにきまるものではないが、一応処理目的を達しえられる状態になった活性汚泥についてみると、孢子虫類をのぞいた他のすべての class に属するものが出現する。特にそのうちでも繊毛虫類はその大半をしめ、また繊毛虫類のうちでも Peritrichida に属するものはきわめて普遍的に優占種として出現する。

また Peritrichida 自体も原水水質によって棲分け傾向が認められる。なお原生動物としては活性汚泥処理装置の流入水 BOD が 800~1000ppm 付近までは出現するが、それ以上となると全般的に出現しない傾向がある。

このような原生動物群集から当然、その化学的背景、あるいは BOD 負荷、空気量などの運転条件を指標化し得るわけであり、今その 1 例として出現する原生動物を

有柄性(S)と無柄性(N)に分け上記のごとき諸事項との関連性をみてみると2~3のことがわかる。このS/N値法による指標化はあくまで便宜的なものであり、その表現方法、あるいは表現理論にも問題があり現在別方式を検討中であるので参考例として報告することを明記し、後日改めて機会をみて最終方式を報告する。S/N値法である程度指標し得るものについて2~3例をあげてみると次の如くなる。

1) S/N値が1以下の場合、活性汚泥のBOD除去率は70%以下となる。

2) 流入水のBODが200ppmを越えるとS/N値が小さくなる。

3) S/N値と活性汚泥が保持されている曝気槽に対するBOD負荷が0.3kg/kg-MLSS/Dを越えるとS/N値は急激に低下し0.6kg/kg-MLSS/D以上となるとS/N値は0.5以下となる。

なお0.6kg/kg-MLSS/D以上となると原生動物そのものの出現頻度がきわめてわるくなる。

以上の結果は現在に判明している結果の一部であるが、以上のことから原生動物群集の状態によって活性汚泥の履歴あるいは現在の状態を示し得る可能性のあることが考えられるので、水処理当時にも現在の維持管理上の問題をある程度解決し得るようになるとともに技術者不足によって生ずる施設から生ずる2次的公害をも特別な高度の技術を要せずして管理解決しえる可能性をも示唆するものと考えられる。

質問 板橋 久雄(東大 農)

1. 汚水系におけるbacteriaもかなり有機物の分解に貢献しているのではないかと思います。これと原生動物との関係は？ また原生動物はbacteriaを食べるのでしょうか？ 原生動物同志の共食いもあるのでしょうか？

2. 原生動物のsuccessionを支配している主動的な化学要因は物質的に明らかになっているのですか？

3. 原生動物の通常の濃度は？

回答 盛下 勇(荏原インフィルコK.K. 研究部)

1. 有機物の分解は1次的にbacteriaによって行なわれます。勿論微小な有機物粒子は原生動物にとられることがあります。一応有機物をbacteriaが分解し、そ

の結果増殖するbacteriaを原生動物が摂取して処理水の透明度を上げていると考えるのが妥当である。原生動物同志の共食もありますが発酵にあるものではありません。

2. 一応流入して来て活性汚泥と接触したときのBOD濃度、アンモニア性窒素など総合的な化学的条件と、DO、水温などの物理的条件の相乗作用が要因と考えています。単一の化合物あるいは複合物についてはまだわかりません。

3. 活性汚泥の種類と環境条件によって違いますが合流式の活性汚泥の場合、正常では10,000/ml前後です。活性汚泥の状態が悪くMonas, Bodoなどが出る場合は数万個体を記録することもあります。

質問 扇元 敬司(家畜衛試)

1. 材料採取の個所はどこでなさいましたか。

2. 指標にもちいられた原虫のecological nicheについて御教示下さい。

回答 盛下 勇(荏原インフィルコK.K. 研究部)

1. 曝気部のよく完全混合されている部分で採取します。

2. 現在のところすべてのspeciesあるいはgenusについて明瞭にされているわけではありません。Vorlicellaについては多少わかっている程度です。

質問 滝口 洋(三共K.K.)

1. BOD loadと原生動物の関係にpeakがあるがどのように考えるか。

2. 浄化能力と原生動物の関係の他にactivated sludgeの特徴の指標であるsludge volumeとの関係は認められないか。

回答 盛下 勇(荏原インフィルコK.K. 研究部)

1. BOD-loadingが低い場合、MLSSが一定とすると流入水のBODが低いこととなり、そのような状態では出現する原生動物種数は多くなるのでpeakが出る。またBOD ppmで生ずるpeakは原生動物の出現に適当な濃度があるためである。

2. Sludge volumeはBOD loadingあるいはBOD ppmにより影響を受けるbacteriaによる影響が多い。したがってSVと原生動物の直接的な関係はない。

## 12 アラビアゴム濃度勾配法によるトキソプラズマの無菌的集嚢子法

中林 敏夫, 本村 一郎

長崎大学熱帯医学研究所疫学部

*Aseptic collection of Toxoplasma cysts by the arabic gum density gradient method*

Toshio Nakabayashi and Ichiro Motomura

Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University, Nagasaki

目的：トキソプラズマ原虫の生理学または免疫学的研究において、本原虫を宿主細胞から純粋に分離しようとする試みは、Fulton, Westphal 及び常松らによって、RH株増殖型について詳細に検討されている。しかしながら、Beverley 株シストの純粋分離の実験はほとんど手をつけられず未解決の状態におかれている。今回、われわれは、アラビアゴム濃度勾配分離法を応用してBeverley 株感染マウスの脳組織からシストを分離することができたので報告した。

材料と方法：Beverley 株感染マウスの脳を無菌的に採取して、乳鉢内で磨砕し、10%脳乳剤を作る。この時ピペットで十分に吸引圧出を繰り返した後、2枚重ねたガーゼで濾過する。一方、遠沈管に比重1.120, 1.085, 1.070の3種のアラビアゴム分離液を比重の大なるものから順次毛細ピペットを用いて静かに重層する。最上部に脳乳剤をおく。各液層は1cmの高さに保つ。4,000G (6,000rpm) 15分間遠心沈殿を行ない（水平ローター使用）、上清部を除き、微かな痕跡としてみとめられる沈渣部を生食水で1回遠沈洗浄後生食水に浮游した。

成績及び考察：アラビアゴム法によってシストは回収率70~90%、純化率98%、マウスに対する感染率100%の成績をもって分離することができた。この方法は無菌的操作も可能であり、術式も簡易であって、原虫に及ぼす傷害も少なく、蔗糖及び硫酸銅による分離法と比較して好成績が得られた。アラビアゴム法は、今後、感染マウスの脳からシストを分離する実験に応用できるものと考えられる。本法の欠陥は、シストと同じ比重をもった組織片の混入を回避することができないことである。また、シストの回収率と純化度とは相互に相反する要素を含んでいて、両者をできるだけ100%に近づけるためには、今後、さらに検討を加えていかなければならないと考える。

質問 尾崎 文雄 (徳島大 医)

1. 濁度計では、はっきり判定しにくいように感じられますが、

2. 感染率はマウス系統によっても差があり得ますし、対照群と共に一定のシスト数、あるいは単一シストで、ことに長期保存のものについて一定時日後検査判定されたものをお示し頂ければ有難いと思います。各種実験に応用範囲も広いと思われます。

回答 本村 一郎 (長崎大 熱帯医研)

1. 2. の御質問につきましては、演者も同感でありまして、今後、御指摘の方面について検討したいと考えております。

質問 井関 基弘 (大阪市大 医)

1. 栄養型の混入はないか。  
2. 生理的活性を低めないために食塩を加える必要はないか。

回答 本村 一郎 (長崎大 熱帯医研)

1. Beverley 感染マウスの脳内において、増殖型原虫の存在、または脳を乳鉢内で磨砕する際、シスト膜の破壊による遊出原虫等の混入が予想されますが、今回の実験はシストのみを追求し、増殖型原虫については検討していません。

2. 予備実験の段階において0.2% NaCl 液を溶媒として用いましたが、結論的には、0.2% NaCl 液と蒸留水との成績はいずれも原虫に与える影響は大差ないものと判断しました。このため以後の実験はすべて蒸留水を溶媒として用いました。

質問 渡辺 良雄 (予研 病理)

1. 純化度98%、感染率100%とおっしゃいましたが、純度や感染率を求める基準があいまいに思います。

2. アラビアゴム以外に比重、粘度の高いもので分離を試みられたでしょうか。

回答 本村 一郎 (長崎大 熱帯医研)

1. 純化度及び感染率との関連性については今後詳細に検討したいと考えております。

2. アラビアゴム以外には、蔗糖または硫酸銅について検討しました。これ以外にも、たとえば、ポリビニールピロリドン等、アラビアゴムよりもすぐれた分離法が

あるかもしれません。今後検討してみたい問題だと考えております。

追加回答 中林 敏夫 (長崎大 熱帯医研)

純化度と称したのは、材料中の脳物質をどの程度除去したかを表現する1便法として呼称したのである。脳乳剤原液中の脳物質量の何%が除去されたのかの数値をもって示すことを試みた。純化度が低い場合には、ある程

度、濁度によって、表現することも可能と考えたが、純化の程度がかなり大きいので濁度による表現については疑義を持つと思う。ここでは、銅-フォルイン法によってN量からも純化度を求めてみた。正確な表示とはなり難いが、およそその見当はつくように思う。以後検討したい。

### 13 変温動物の組織培養細胞におけるトキソプラズマの増殖性

猪木 正三, 安 泳 謙, 大野 芳明, 高柳 坦

大阪大学微生物病研究所原虫学農学部

#### *The infectivity of Toxoplasma gondii to the cells of the poikilothermic animals*

Shozo Inoki, Eiken Ahn, Yoshiaki Ohno and Tan Takayanagi

Department of Protozoology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, Osaka

動物にはその種類によってトキソプラズマに対する感受性のきわめて高いものや、非常に低いものがあることが知られている。今回はきわめて感受性が低く一般的には感染を疑問視されている変温動物細胞とトキソプラズマの関係を組織培養で検討した。変温動物細胞は26°Cで培養するのであるが、この温度でHeLa細胞及びマウス腹水浮遊細胞についてみるとトキソプラズマは細胞内への侵入の割合は37°Cの場合とほとんど変化を示さないが侵入後の増殖がきわめておくれる。そこで両生類のトノサマガエル及びシヨクヨーガエルの両種細胞についてみると細胞内への侵入がきわめて困難であることがわかる。しかし1度侵入すれば温度の関係もあると思われるが増殖はきわめておそいが、2分裂像を認めることが出来るので増殖は可能であると考え。

質問 角田 清 (家畜衛試)

カエルの培養細胞中に *Toxoplasma* が侵入するからカエルが vector となり得ると考えるのは考え方が逆のようにおもう。カエルの体内での増殖は実際にたしかめた上での試験なのですか。

回答 高柳 坦 (阪大 微研)

この原虫は宿主域がひろいといわれているので細胞単位の試験を試みました。Vector になり得るか否かは別問題と致しまして細胞内への侵入、増殖が可能です。

質問 岡 好万 (徳島大 医)

口演の本論から幾分はずれるかもしれないが、*Toxoplasma* の増殖には必ず生きた細胞を必要とするといわれるが、その細胞は自己増殖能力を完全に備えたものでも、

備えていないもの(赤血球のごとく)でも良いのか。

回答 高柳 坦 (阪大 微研)

よくわかりません。*Toxoplasma* が必ず生きた宿主細胞を必要とすることには、やや疑問をもっております。

質問 中山一郎 (慶大 医)

組織培養時間48時間以上について観察されたか。

回答 高柳 坦 (阪大 微研)

両生類細胞については行っておりません。

意見 猪木正三 (阪大 微研)

1. トキソプラズマの感染経路はいまだよくわかっていないから、この種の実験が重要であるとする。

2. 変温動物の中でたとえ増殖しなくとも、ある期間生存しておれば、流行源として意義があると思う。

質問 安藤泰正 (日本獣医畜産大)

組織培養使用上、変温動物の初代細胞と継代細胞とでの比較はどうですか。

回答 高柳 坦 (阪大 微研)

継代細胞10代前後では差はみとめておりません。

質問 赤尾信吉 (慶大 医)

in vitro にて増殖した細胞を26°C以上(たとえば36°C)まで培養は可能でしょうか。*Toxoplasma* の増殖能はある程度温度差が影響すると思います。

回答 高柳 坦 (阪大 微研)

培養温度では、増殖するのに2~3倍の時間を要するように思いますが分裂は可能です。温度をもどせば増殖も正常にもどります。



## 14 蛍光抗体法による感染マウス組織内のトキソプラズマ原虫の経時的観察

伊藤進午, 角田清

農林省家畜衛生試験場寄生虫部

*Detection of Toxoplasma gondii in infected mice by means of the fluorescent antibody technique*

Shingo Ito and Kiyoshi Tsunoda

Department of Parasitology, National Institute of Animal Health, Tokyo

dd 系15g前後のマウスを RH 群と Beverley群(Bev. 群)との2群に分け, RH群にはマウス1匹当たり, RH株の増殖型原虫4,000個ずつ, Bev. 群には Beverley 株の cyst 80個ずつを, それぞれ腹腔内に接種した。接種後, RH株は全滅するまでの9日間毎日, Bev. 群は2~17日目の間は毎日, その後はほぼ定期的に感染マウスを採血または放血により殺処分し, 主要臓器を酢酸アルコール固定, パラフィン包埋後, 組織切片とし, 蛍光抗体法により, 両群マウスでの組織内原虫の推移を経時的に比較観察した。採取した血清については dye test を実施した。

感染マウスの経過は, RH群では5日目以後発病し, 9日目までに全例死亡したが, Bev.群では8~15日目にかけて軽度の発病があっただけで, その後大部分の例が回復し生き残った。

原虫はRH群が肝, 脾, 膵, リンパ節, 腹膜に3日目から, Bev.群が肝, 脾, 腎, 肺, 膵, リンパ節, 腹膜に3~5日目から認められ, その出現時期は両群共ほぼ同じか, Bev.群の方がやや遅れ目というところであった。その後両群共他の臓器にも原虫が認められるようになり, 特に肝, 脾, 肺, 膵, リンパ節, 輸卵管, 膀胱, 横隔膜, 腹膜など両群共, 共通した臓器で原虫の増数が見られたが, その程度および経過は両群の間かなりの差があり, RH群ではこれらの臓器, 特に肝, 脾, リンパ節, 横隔膜, 輸卵管などで5~6日目以後, きわめて多数の原虫が急速に増えたが, Bev.群では8~14日目(肺では11~23日目)の間に軽度~中等度の原虫増数がみられただけで, この時期を過ぎると原虫数は次第に減少~消失した。このように Bev. 群での原虫増数は RH群より, その speed がゆるやかで, その程度も弱いことが確

認された。一方, 腎, 心, 副腎, 卵巣, 腸では両群共, その群なりに他の臓器より少数の原虫しか認められなかった。次にRH群の脳脊髄では増殖型がわずかに認められただけで, その増数は最後まで見られず, cyst も認められなかった。一方 Bev. 群の脳脊髄では6~8日目に増殖型が, 8~10日目に微小~小型の cyst がそれぞれ出現し, 増殖型は10~17日目の間にその増数がみられたが, その後は減少~消失した。シストは微小~小型が増殖型の増数期とほぼ同時期に増数し, 増殖型の減少~消失に伴って中~大型が現われ, 時の経過に伴ってcystが大きくなる傾向がみられた。

Dye test 抗体は10日目頃に出現し, 15~20日目にその力価が peak に達し, 以後長期間高力価を持続していた。抗体は腹腔内諸臓器で原虫が盛んに増数している時期に出現し, 抗体価の上昇に伴って腹腔内諸臓器の原虫は減少した。一方脳脊髄の原虫は抗体の出現とほぼ同じ頃に出現し, 原虫増数と抗体価の上昇とがほぼ平行してみられ, 少なくとも250日目迄は両者共かなりの程度に認められた。

質問 中山一郎(慶大 医)

感染せしめた経路により病変の初期像は異なると思いますが本題は腹腔内接種後とうたわれては如何。

回答 伊藤進午(家畜衛試 寄生虫)

腹腔内接種ということは内容として明確におことわりしてありますし, 表題が長くなりますから, 特に接種経路を表題にうたう必要はないと考えます。

初期像については御指摘の通りだと思いますが, 真の初期像を知るためには蛍光抗体法も余り適当だとは思われませんが, 更に今回の報告はRH群と Beverley 群との比較ということが主眼でありますから念のため。

## 15 反芻胃内繊毛虫類の Life cycle について

板橋久雄, 神立誠

東京大学農学部農芸科学

*On the life cycle of rumen ciliate protozoa*

Hisao Itabashi and Makoto Kandatsu

Department of Agricultural Science, Faculty of Agriculture, University of Tokyo, Tokyo

反芻胃内微生物は主に細菌と原生動物に属する繊毛虫類に大別されるが、繊毛虫類については、その life cycle をはじめ性質に不明な点が多い。繊毛虫類の反芻胃内への定着については、乾草や糞の中に包囊体があり、それによる感染と、吐出内容物などによる感染(種虫説)が従来考えられてきたが、まだ知見が乏しく確定的でない。

繊毛虫類が反芻胃内の物質代謝にどのような影響を及ぼしているかを生体内で研究する際には、繊毛虫類を胃内から除去し、そのような状態の動物と通常の繊毛虫が存在する動物とで比較する必要がある。そこで、まず繊毛虫類の除去法に関する実験を行ない、その反芻胃内への定着経路について検討した。

(1) 動物は第1胃に内径的 10cm の大型フィステルを装着した雄山羊または雄めん羊(体重 50~60kg)を用いた。2日間絶食後、フィステルより胃内容物をすべて体外にとりだし、20~30lの水および生理的食塩水(39°C)で胃内洗浄し、ペンタマイシンを 500ml (1,000µg/ml)投入した。取り出した反芻胃内容物は遠心分離と加熱処理で繊毛虫を死滅させ、3時間後に約を1lを胃内に戻した。その後動物を他の反芻動物から完全に隔離した代謝箱に移し、市販配合飼料と滅菌処理したオーチャードグラス乾草を給与した。翌日より胃内容物を少量採取し、繊毛虫の出現を調べた。

(2) 山羊(双子2組と別に1頭)5頭を生後3日目に母獣から隔離し、互いに2~3mの間隔を保った代謝箱に1頭ずつ収容し、人工乳で哺育した。その後双子にはア

ルファルファペレット、オーチャードグラス乾草(滅菌処理)、配合飼料を徐々に与え100日目に離乳したが、別の1頭に与えた乾草は滅菌処理せず、また土壌にも時々接触させた。生後30日目より、双子の一方に成熟動物から採取した新鮮な反芻胃内容物を胃カテーテルを用い採種した。それぞれの動物の胃内容液は一週間おきに採取し、繊毛虫の出現を調べた。

その結果、(1)の方法は10回試みたが、繊毛虫が長期間発生しなかったのは1回のみで、その他は処理後1~2週間後に繊毛虫が出現し、その種類はいずれの場合も *Entodinium* で、日数が経過するにつれて個体数が増加したが、これは胃内洗浄が不十分で残存していた個体が増殖したためであると考えられる。(2)では、生後30日目はいずれの動物にも繊毛虫は発生しなかったが、反芻胃内容液を接種した2頭の山羊にはその後7日目より繊毛虫が出現し定着した。出現順序はまず *Entodinium* で、これに *Diplodinium*, *Isotricha*, *Ophryoscolen* が続き種類により異なった。一方、胃内容液を接種しない動物では、滅菌処理しない乾草を給与した1頭も含め、その後約1年半にわたり、繊毛虫は全く出現しないが、細菌数については変動が生じ、'small bacteria' と *Oscillospira* は繊毛虫が存在する動物にくらべかなり増加した。

これらのことから、自然条件下での反芻胃内繊毛虫類の発生は、乾草や土壌中に潜んでいると思われる胞のう体による可能性は少なく、繊毛虫を含んだ他個体の胃内容液や唾液による直接的な接触によるものと考えられる。

## 16 反芻胃内繊毛虫類の蛋白質摂取様式について

小野寺良次

宮崎大学農学部

神立 誠

東京大学農学部

*On the mode of protein intake by rumen ciliate protozoa*

Ryoji Onodera

Department of Agricultural Science, Faculty of Agriculture, Miyazaki University, Miyazaki

Makoto Kandatsu

Department of Agricultural Science, Faculty of Agriculture, University of Tokyo, Tokyo

1967年4月、京都で行なわれた第53回日本畜産学会大会において、我々は、反芻胃内繊毛虫類の窒素栄養源としてのアミノ酸の意義について、微生物生態論的観点から考察し、培地中の遊離のアミノ酸は、反芻胃内繊毛虫類に対する主要な窒素栄養源とはなり得ない事を指摘した。すなわち、 $^{14}\text{C}$ -アミノ酸を使った実験では、反芻胃内細菌のアミノ酸取り込み量は、繊毛虫のその2~10倍であり、繊毛虫単独培養時のアミノ酸取り込み量は、繊毛虫・細菌共存培養時の取り込み量よりも常に低い値であった。 $^{14}\text{C}$ -アミノ酸でラベルした細菌を培地に添加して繊毛虫を培養すると、虫体は高い $^{14}\text{C}$ -活性を示し、その時に虫体内に取り込まれた菌体N量は、遊離のアミノ酸として最もよく取り込まれたメチオニンのN量の20倍にも達していた。このような結果から、アミノ酸が虫体内に移行する主要な経路として「アミノ酸→細菌→繊毛虫」という一種の食物連鎖の経路が考えられる事を指摘した。これは、反芻胃内繊毛虫類の特異的な食物摂取様式に起因するものと考えられる。本報告においては、反芻胃内繊毛虫類の粒食性について、染色細菌等を用いて観察した結果と蛋白質特にカゼインの摂取様式の種類による相違について述べ、反芻胃内繊毛虫類の食物、特に、蛋白質の摂取様式について考察を進める。

培地としては、自然条件に近い状態が望ましいと考え、ザイツ濾過器で濾過した反芻胃内液を使用した。この培地に、フクシンで染色した反芻胃内細菌、酵母およびセルローズ粉末、その他クロレラ、炭素粉末、可溶性カゼインおよび熱変性させた難溶性カゼイン粉末を添加し、 $39^{\circ}\text{C}$ で30分~5時間培養した。Nの定量はマイクロケルダール法によって行なった。

その結果、繊毛虫類は、いずれもよく各粒子を取り込んでいたのが観察された。なかでも *Entodinium*, *Diplodinium* の取り込みは顕著であった。炭素粉末もよく虫体内に取り込まれていた事から、反芻胃内繊毛虫類は、栄養物質・非栄養物質を区別せずに取り込むと考えられ

る。すなわち、粒子のもつ栄養性に関する選択性はないものと考えられる。このようにして取り込まれた粒子のうち、可消化性の粒子は取り込み後短時間に分解され、培地中には、分解産物としての非蛋白態N (NPN) が増加した。

次に、蛋白質の摂取様式を更に検討するために、カゼインを用いて実験した。始めに、可溶性カゼインを培地に添加して混合繊毛虫類を培養すると、5時間に  $1440\mu\text{gN/mg}$  虫体Nのカゼイン蛋白が減少し、同時に  $1180\mu\text{gN/mg}$  虫体NのNPNが培地に増加した。第2回目の実験では、たまたま、混合繊毛虫の中に *Isotrichidae* が含まれていなかった。この時の可溶性カゼインの減少量は、5時間培養で  $10\mu\text{gN/mg}$  虫体Nであり、培地中に増加したNPNは、カゼイン無添加培養時のNPN増加量を差し引くと  $0\mu\text{gN/mg}$  虫体Nであった。次に、*Isotrichidae* の数を様々にして実験すると、可溶性カゼインの減少量と *Isotrichidae* の数との間には一定の関係があり、*Isotrichidae* の数が増せば、可溶性カゼインの減少量も増加した。しかし、*Ophryoscolecidae* との間には、一定の関係はみられなかった。一方、可溶性カゼインを変性させてつくった粉末の難溶性カゼインを添加して、*Ophryoscolecidae* のみを培養すると、5時間で  $349\mu\text{gN/mg}$  虫体Nのカゼインが減少した。*Isotrichidae* と *Ophryoscolecidae* とを含む混合虫体を、 $^{14}\text{C}$ -カゼイン(可溶性)を添加した培地で培養すると、虫体は高い $^{14}\text{C}$ 活性を示した。

以上の結果から、カゼインの摂取様式は、繊毛虫の種類によって異なり、*Ophryoscolecidae* は典型的な粒食性ではないかと考えられる。これに対して、*Isotrichidae* は、飲細胞運動および食細胞運動の両方の能力をもっているものと考えられる。

質問 栗原 康(東北大理)

クロレラ細菌などの取り込み実験での培養時間は?

回答 小野寺良次(宮崎大 農)

30分の培養です。

## 原生動物学会汎世界連盟について

阿 部 徹

本邦における原生動物学会の淵源は、1953年の中村健児博士発案並びに司会による原生動物シンポジウム（京都大学で開催の日本動物学会に併設）に発する。博士の意向を聞かされた阿部は翌年以降のこの集まりの維持と発展とを己が責務と思い定め努力を重ねた。

そこに2つの問題点があった。第1は最も基本的かつ素朴な原生動物とは何を指すのか—という疑問。第2は原生動物学と同学界の将来は如何にあるべきかという見通しである。

### 原生動物の定義づけ

原生動物と見なされる生物の属種は歴史とともに変遷してきたし今後も当然固定される見込みはないらしい。更に、研究者、編纂者の個人差もその定義づけに影響している。それらを考慮検討して、阿部はここでは一形態的には単細胞の姿をとりながら生態的には個体としての独立性と自主的な移動能とを備えている生物群—と一応定義しておくたい。この定義は第2回国際原生動物学会（1965年、London）の Committee of Ten の席上呈示され、更に阿部の提案により一植物的栄養を営む類を含む—の1項が念のため声明文（本巻32ページ掲示）に但し書きとして付記された。

### 原生動物学の展望

研究の初期には主として分類、形態の面の仕事が見られ、形態、機能、分化が原形質分化によって営まれているこの類では、形態、分化が把握されにくく、報告に多分に不確実性が含まれていたが、細胞学的新技術—鍍銀法、生体観察への位相差顕微鏡の導入、精緻な細胞生化学、電子顕微鏡学等—の適用によって、今日の形態学は旧態をとどめないほどに面目を一新されており、それに伴って分類学も高度の変態が要求されている。原生動物学の主潮はひとところ寄生虫学色が強く、寄生虫学に偏せねば原生動物学は成立せず、のきらいがあって今日なおその傾向が残っているが、ねらわれた宿主は人間から家畜を経て野生動植物へと移って、veterinary protozoa, rumen protozoa の2大領域に大別されてゆく動きが見える。生活史の問題は宿主・寄生虫相関々係として取上げられ、宿主転換、免疫等の機構論等へ展開された。それらとともに、病理学（寄生虫病学）、治療学、薬理学等に連なる分野は、生態学の一定域が特殊化したものと

も考えられ、医学、獣医学、生物学等からの多面的追究を受けている。

無機的自然環境を生活媒体としているいわゆる自遊生原生動物は、古生物学のほかに、陸水生物学、海洋（浮遊）生物学においても重視されており、近年特に土壌原生動物（soil protozoa）が注目されはじめた。これらは原生動物自体にとっては食性、海洋あるいは土壌としては生産力の疑問を解く鍵として、すなわち、食餌連鎖の最下段—無機栄養、細菌栄養と捕食（heterotrophic）栄養とをむすぶもの—としての未開の1分野であったが、これはまた生物体内外両面にわたる環境条件の変化と生物自体に発現する変化との相関々係とみての解折の道が開かれることを予測させる。汚水及び上水処理において浄化作用に果たす原生動物の役割も必ず近い将来に論議されると期待し得るであろう。

細胞生理学を正常な生活体について論議、発達せしめ得る最良の素材は原生動物である。遺伝子の組合せの違いが直接的に細胞の形態、生理、生化学の面で実証されるのもまた原生動物の持つ最大の利点の1つであろう。

化石生物の受取り方も目下変貌をとげつつある。現生生物にとっての呼吸酵素であるポルフィリン誘導体が、非生物界において石炭と石油とから検出されて以来の年月はまだ浅い。これは、浅海底由来の沈澱岩中に貯留されているばく大量の高分子有機物の生成と、浅海生ミクロプランクトンの大增殖とが、因果関係にあることを想定させる。

### 原生動物学のありかた

研究フロントあるいは学問の細分化ということは、既成のもの物理的な分割ではなく、既成の内から同一傾向あるいは特性のもののみを拾い出し、関連分野からも借用して、それらに以前には見なかった特殊性を持たしめて出来あがり、一括的な論議、考察、研究をより便宜的に進め得るように思索体制を組立てることの結果であると解してよく、細分化は、放置すれば無限に進む。細分化が進むほど学究あるいは考察者の視野は狭くなり、全体を誤りなく把握することがむつかしくなって、その解釈あるいは決論が狭く片寄ってもそれに気付かない可能性が強くなる。この片寄りから自己を解放させる道として、可及的多方面の関連分野を学んでいる学究及び先

輩らとともに、誠心をつくして謙虚な自由討議の場を持つにしくはないことは自明のことであろう。

日本に学会が生まれるならば、それは、前節にふれた諸分野及び将来原生動物を主役的に正面から、あるいは副次的に側面から、研究考察の対象とする現存及び将来現われるすべての分野を包含して最も総合的に消化し、同時に、自主的に機に臨んでそれらを統合、分割して分科会等で深く掘りさげて討議できる機構のものでありたい。世界の学会に対しても同じことがいえる。

### 日本の学会の国際的位置づけ

1963年の阿部の外遊では、Princeton でのシンポジウム出席以外のすべてを米欧の原生動物学界を虚心た懐な解折にかけることとした。したがって、日程と旅程とを予定せず、臨機応変の行動性を確保するために航空券は最少限の東京 → New York, New York → Brussel, Brussel → London, London → 東京の4枚とした。米国では当時米学会の会長だった Hutner その他の数氏、独では Grell, 仏、英ではそれぞれ数氏の訪問討議を予定したのみ。Hutner とは胸襟を開いて学会の昨日、今日、明日を語りあい、Grell とは深更まで、私見をのべ彼の胸をたたいてその本意を問うた。当時、Corliss が米学会からの特使として訪欧し、英では学会支部が生まれたが、仏学会人からは猛烈な反撃を食ったという。この大陸遍歴中に独、仏、スイス、イタリー等の民族意識らしいものに幾分かの認識を深め、世界学会に対する阿部の構想も漸次輪郭を明らかにし、更に実践の具体案も焦点を結び始めた。10月1日渡英、アフリカから来英される猪木正三教授の着英をまって同行を求め、第2回国際原生動物学大会(1965年、London)の Secretary, Dr. R.S. Bray と鼎談数刻、更に阿部は Edinburg に長駆して英支部の Secretary, K.M.G. Adam 夫人を訪ねて夫君を交え深更まで熟議した。

阿部の提案は、Super-National Union (World-wide Union) とその正しい運営の構想であった。そして『この案がもしも好ましいものならば、英支部は会合を持ち、席上それを英案として討議し、可決されれば英案として米学会主脳をつきあげてほしい。Hutner その他へは下工作がしてある。終始、日本と阿部の名は伏せてほしい』と最後に釘をうって欧州を去った。

1964年4月、Corliss から「その線に従って進む」と便りがあり、1965年の London 大会のカタログにその討議がうたわれていたので私費出国。会期中の1日、午餐会の後、Corliss が Union 案を公表、次いで大会運営のための Committee of Ten の10人が10カ国にわたるよ

うに指名(1963年阿部の提案)、全員の賛同を得て Union は第1歩をふみ出した。数日後、10人会は1室に集合、声明文案(本誌32ページ参照)を練り、但し書きを承認付記、4年毎の大会の中間で1~3回の会合をもつことも定めて散会した。1963年に Bray と Adam とに「英国案で」と念をおしたにかかわらず、London 大会では、実際的には阿部案であったことがかなりの人達に極秘情報として流されていたのが確認できた。以上本学会の生まれるまでの交渉のいきさつを念のため略記した次第である。

英支部を説いた骨子は、(1)各国、各民族の原生動物学会は、それぞれの伝統と特質とをみがきあげつつ、相互に対等な立場で助けあい、政治、社会、軍備力、経済等の下に奴隷化されることをさけて、人類の向上繁栄と平和とに尽くし得るように学会の運営を進める、(2)この Union への参加により、国籍を超えた世界人意識を持つことが、個人平等の意識と互敬とを養うことに役立つ、(3)国際学会がいずれの国の主催下に行なわれようとも、常にその運営と体制化とは、国際委員会の管理下にあることが必要不可欠、(4)国際委員会は、学界の向上、繁栄が政治、社会性、軍事からの圧力及び民族相互間の感情的対立又は齟齬によって妨げられないよう、万全の考慮と措置をとること、等の諸点を強調したものであった。

当時、この夢のような超現実的構想がそのまま現実化されると安易に判断したわけではなかった。ただ、火を吹き出そうとしている国際競争場裏にとび込んでみて、そのきびしさを膚に感じ、何がなされるべきかを模索し続けて得た結論の1つがこれであったということである。仏、独の出かたに疑念を抱いている向きがかなりあったが、いずれの民族、国家の独走も許さぬこの構想の正しい運営以外に、よい対策のあり得ないことを説いたこの東洋的発想が彼等を納得させたい。「世界の人間は1つ」という理想を学問の世界で生かし続けようとする努力が尊重されるべきであって、その提案者が何者であったかは問題とするに足らないものでしかない。運営委員会はその後、Leningrad と Nice とで開かれ召集状が郵送されてきたが、考えるところがあって出席しなかった。いずれにせよ、“The die is cast”であり、今後に残された問題は、この Union の精神と運営との是正を今後の方々の努力にまつのみである。

現在の原生動物学界の展望に際しても、学会のあってほしい姿の発掘にあっても、可能な限り広い視野に立って解折、省察することに努めた。両者が同じプリンシプルにたつことを必要と感じたからである。

## FORMATION OF AN INTERNATIONAL COMMISSION ON PROTOZOOLOGY\*

Recognising the practical need for the formation of a supra-national body for uniting the different groups of protozoologists of all countries in the world, the undersigned wish to present the following resolutions for adoption by the 2nd International Conference on Protozoology.

1. That an INTERNATIONAL COMMISSION ON PROTOZOOLOGY be formed before 1 January 1966 and that its membership meet annually, if possible, or at least once between International Conferences.

2. That such a COMMISSION work toward realisation of the following four objectives:

(a) To be active in planning future international Conferences: to decide on sites and dates; to collaborate with National Organising Committees at the appropriate time; to act as banker, for any funds available, in the interim between Conferences: and to fulfil any other obligations related to such Conferences.

(b) To study the question of the creation of an International Union, to draft the constitution for such an organization, and to present it to all groups for definitive decision before the 3rd International Conference on Protozoology:

(c) To explore means of establishing close relationships with international biological or other organizations, such as IUBS, FAO, UNESCO, and WHO.

(d) To promote, encourage, and maintain co-operation among protozoologists of all countries by serving as a clearing house—probably by establishment of a number of special committees generally chaired by a member of the COMMISSION for consideration of important matters of an international nature: such as worldwide register of protozoologists and of type-specimen and culture collections; study of the feasibility of centrally located bibliographic files and specimen-identification centres; endorsement of worldwide protozoological abstracting services; promotion of revisions, as needed, of systems of classification of Protozoa; strengthening the role of protozoology and the participation of protozoologists in the International Biological Programme.

3. That the composition of the COMMISSION be as follows:

(a) One representative from each duly constituted society, group, section or “associated society” of protozoologists which has a membership of 21–100 persons.

(b) Two representatives from any group with a membership between 100 and 500; and three representatives from any group with a greater number.

(c) The President and Secretary of the immediate past International Conference

---

\* In the broadest sense; e.g., the autotrophic flagellates are included.

on Protozoology, as the representatives of their society; and the President and Secretary of the immediate future Conference. The President and Secretary of the immediate future Conference shall serve as President and Secretary of the COMMISSION, as soon as their identity is known.

T.H. ABÉ  
J.C. CORLISS  
P.C.C. GARNYAM  
K.G. GRELL  
G.I. POLJANSKY  
P. de PUYTORAC  
Z. RAABE  
B.R. SESHACHAR  
J. VEISER  
A. ZUCKERMAN

5th August 1965.

### The International Commission on Protozoology

BELGIUM: Prof. J. Jadin (Antwerpen)  
CZECHOSLOVAKIA: Prof. O. Jirovec (Prague)  
                  Prof. J. Weiser (Prague)  
DENMARK: Prof. E. Zeuthen (Copenhagen)  
FRANCE: Prof. P.-P. Grasse (Paris)  
                  Prof. P. de Puytorac (Clermont-Ferrand)  
GERMAN FEDERAL REPUBLIC: Prof. K.G. Grell (Tübingen)  
GREAT BRITAIN: Prof. P.C.C. Garnham (London)  
                  Dr. R.S. Bray (London)  
INDIA: Prof. B.R. Seshachar (Delhi)  
ISRAEL: Prof. A. Zuckerman (Jerusalem)  
ITALY: Prof. T. Grippa-Franceschi (Genova)  
JAPAN: Prof. S. Inoki (Osaka)  
POLAND: Prof. Z. Raabe (Warsaw)  
U.S.A.: Prof. B.M. Honigberg (Amherst)  
          Prof. R.W. Hull (Tallahassee)  
          Prof. R.F. Nigrelli (Brooklyn)  
U.S.S.R.: Prof. G. Poljansky (Leningrad), chairman  
          Dr. I.B. Raikov (Leningrad).

## THIRD INTERNATIONAL CONGRESS ON PROTOZOOLOGY

### General

The Third International Congress on Protozoology will be held in Leningrad, USSR, from July 2 through July 10, 1969.

The Congress is being organized under the sponsorship of the Academy of Sciences of the U.S.S.R.

The Congress is organized under the auspices of the International Commission on Protozoology by the USSR National Organizing Committee.

The address of the National Organizing Committee and of the Secretariate is:

Institute of Cytology  
32 Pr. Maklina  
Leningrad F-121  
USSR

### The USSR National Organizing Committee

Address: c/o Institute of Cytology, 32 Pr. Maklina, Leningrad F-121, USSR.

*Chairman*: Prof. G. Poljansky

*Vice-Chairmen*: Prof. A.S. Troshin

Prof. A.A. Strelkov

Prof. E.M. Cheissin

*Secretary*: Dr. I.B. Raikov

*Members*: Prof. I.V. Abramov, Mr. I.A. Vanin, Prof. V.A. Vinogradov, Prof. I.G. Galuzo, Prof. M.M. Gollerbach, Prof. D.N. Sassukhin, Mr. I. N. Kisselev, Mr. S.G. Korneyev, Prof. N.A. Kolabsky, Prof. A.A. Markov, Prof. S.D. Moshkovsky, Prof. M.A. Mussajev, Prof. V.F. Nikoljuk, Mr. A.A. Rovnyakov, Dr. L.N. Seravin, Dr. K.M. Sukhanova, Dr. S.S. Schulman, Mr. G.G. Chakhmakhchev.

### Location and Schedule

The Congress will be held at the Taurida Palace, Vojnov Street, Leningrad.

The tentative schedule for the Congress is as follows:

Wednesday, July 2:

9 a.m.—3 p.m.: Registration

3 p.m.—6 p.m.: Opening session

Thursday, July 3:

9 a.m.—1 p.m.: Plenary session

3 p.m.—6 p.m.: Sections



Friday, July 4:

9 a.m.—1 p.m.: Plenary session

3 p.m.—6 p.m.: Sections

Saturday, July 5:

9 a.m.—1 p.m.: Plenary Session

3 p.m.: Annual meeting of the Society of Protozoologists.

Sunday, July 6: Full-day excursion.

Monday, July 7:

9 a.m.—1 p.m.: Plenary session

3 p.m.—6 p.m.: Sections

Tuesday, July 8:

9 a.m.—1 p.m.: Plenary session

3 p.m.—6 p.m.: Sections

Wednesday, July 9:

9 a.m.—1 p.m.: Plenary session

3 p.m.—6 p.m.: Sections

Thursday, July 10:

9 a.m.—1 p.m.: Closing session

The following events will take place in the evenings:

1. Meeting of the Sub-committee on Toxoplasma.
2. Motion picture demonstration.
3. Meeting of the Executive Committee of the Society of Protozoologists.
4. Reception.
5. Concert (tentative).

### Scientific Program

The final program will be established after receipt of the abstracts of papers. Tentatively the Congress will consist of specialized plenary sessions and of several sections working simultaneously. Some of the sections are intended to serve as continuations of the corresponding plenary sessions:

Plenary sessions	Sections
1. Cytology and Cytochemistry	1. Cytology and Cytochemistry
2. Ultrastructure	2. Ultrastructure
3. Morphogenesis and Life Cycles	3. Morphogenesis and Life Cycles
4. Genetics and Cytogenetics	4. Genetics and Cytogenetics
5. Biochemistry and Physiology	5a. Biochemistry and Physiology (including symposia on Synchronized Protozoa and on Axenic Cultures).
	5b. Motile Systems.
6. Ecology and Adaptations	6a. Ecology and Adaptations of free-

living Protozoa

- 6b. Ecology and Adaptations of parasitic Protozoa and Host-Parasite Relations (including Immunology and Pathogenesis)
7. Morphology and Physiology of some parasitic Protozoa (including symposia on Piroplasms, Toxoplasms, Amoebae, Trypanosomes, Trichomonads, Coccidia, and other pathogens). Morphological Diagnostics and Cultures.
8. Taxonomy
9. Types and Conservation of Strains
10. Evolution and Methodology

## 日本原生動物学会会則

第1条 本会は日本原生動物学会 (Japan Society of Protozoology) と称する。

第2条 本会は原生動物植物に関する研究をすすめ、その知識の普及、向上を図ることを目的とする。

第3条 第2条の目的を達成するために、年1回大会を開催し、会誌を発行するほか必要な事業を行なう。

大会においては、本会の運営を議する総会および学術講演を行なう。総会および学術講演会は、それぞれ臨時にまたは別個に開くことができる。これらの会合は会長の委嘱する委員が運営する。

会誌は原則として年1回発行する。このほか、不定期に別刊を発行することがある。但し、別刊は実費をもって会員に配布する。

第4条 本会会員は正会員、賛助会員および名誉会員とする。正会員は年会費1,000円を前納するものとし、会の主催する各種の会合に参加し、幹事を互選し、会誌に投稿し、会誌の無料配布をうけることができる。賛助会員は本会の主旨に賛同し、会の維持発展のため1口10,000円以上を納入するものとし、会誌の無料配布をうけることができる。名誉会員は幹事会の推薦により総会において決定する。

第5条 本会運営のため、会長1名、幹事若干名をおく。幹事は会員の互選により、会長は幹事の選挙によって決定する。

会長及び幹事の任期は3年とし、重任を妨げない。

会長は会を代表して会務を統轄する。幹事は幹事会によって会務を処理し、庶務、会計および編集の業務を分担する。

第6条 本会の事務年度は暦年とする。

第7条 本会に入会を希望するものは、別に定める手続きによって申し込むものとする。

第8条 会則の変更は幹事会の議をへて、総会において行なう。

### 付 則

1. 本会の事務局は当分の間、大阪大学微生物病研究所原虫学部門内におく。
2. 入会手続きは所定の申し込み用紙を用い、会費1年分以上を添えて会長あて事務局に提出するものとする。
3. 納入した会費は返却しない。会費を2年間滞納した場合は退会とみなす。
4. 本会則は昭和42年12月2日より施行する。

### 編集後記

編集をお願いして色々ご準備頂いた阿部幹事のたつてのお言葉によりまして、事務局に近いところの幹事の方々に会長から編集委員をお願いし、とりあえず会長が委員長を兼ねられ、柳生、稲葉、高田幹事とわたくしが当たることになりました。又事務局の阪大微生物学部の皆様と前田進行堂印刷所の前田政昭社長さんに大変お世話になってようやく発刊の運びになりました。

今後本誌を外国に送ってそのまま活用されるように、オリジナルは欧文で、名簿も英文とローマ字書きのものも、のせて行きたいと望んでおります。そのうちに投稿規定も作って体裁を整える予定ですが、皆様方のお力添えを心からお願いいたします次第です。(尾崎)

---

原生動物学雑誌 第1巻 第1号

The Japanese Journal of Protozoology Vol. 1 No. 1

昭和43年7月15日 印刷

昭和43年8月1日 発行

編集兼発行人：猪 木 正 三

印刷 人：前 田 政 昭

印刷 所：株式会社 前田進行堂印刷所

京線市中京区西ノ京南上合町81

発行 所：日本原生動物学会

吹田市山田上 大阪大学微生物病研究所原虫部門内

電話 (06) 878-5121代 (内学3131)

振替 口座：大阪 7 7 9 6

---