

昭和44年8月
August, 1969

原生動物学雑誌

第2卷 第1号

*the Japanese Journal
of Protozoology
Vol. 2 No. 1*

第2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.

原生動物学会誌 第2巻 第1号

目 次

第2回日本原生動物学会大会概況

講演目次

特別講演「細菌のエピゾーム」

シンポジウム「原生動物の遺伝」

一般講演

会員名簿

新入会員

英文名簿

投稿規定

原稿作製上の注意

日本原生動物学会 幹事

猪木正三(会長)

阿部徹	稻葉文枝	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	藤田溥吉
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)

稻葉文枝	尾崎文雄	高田季久	柳生亮三
------	------	------	------

第2回 日本原生動物学会概況

大会長 大阪大学微生物病研究所 猪木正三博士

会場 大阪大学微生物病研究所講堂 吹田市山田上

会期 昭和43年12月12日(木), 13日(金)

日程

—第1日 12月12日(木)—

10:00~10:40 総 会

開会のことば

幹事報告

10:40~12:00 一般講演 1~4

13:00~14:00 特別講演

14:00~17:30 シンポジウム(I) S1—S5

17:30~19:30 懇親会(微研食堂)

—第2日 12月13日(金)—

10:00~12:00 シンポジウム(II) S6—S8

13:00~16:40 一般講演 5~15

16:40 閉会のことば

講演目次

特別講演

細菌のエピゾーム 小関治男(阪大, 理・生物)

シンポジウム「原生動物の遺伝」

- S 1 ユーグレナ葉緑体の遺伝体系 坪由宏(神戸大, 教養)
- S 2 クラミドモナスの葉緑体 DNA 石田政弘(京大, 原子炉)
- S 3 クラミドモナスにおけるニコチン酸代謝の遺伝的支配 中村和郎(九大, 理・生物)
- S 4 ザウリムシの接合型遺伝子とその調節 樋渡宏一(東北大, 理・生物)
- S 5 原生動物の生活環(life cycle)における調節 三宅章雄(京大, 理・動物)
- S 6 *Euplates*(纖毛虫)における大核並びに小核の染色体 片島亮(広島大, 理・動物)
- S 7 テトラヒメナの大核および小核の分離とその遺伝形質
..... ○村松正実, 岩村幸雄(癌研) 三田隆(国立がんセンター)
- S 8 テトラヒメナにおけるヒストンの役割 岩井浩一(群馬大, 内分泌研)

一般講演

- 1 活性汚泥棲原生動物群集の特徴とその指標性 盛下勇(荏原インフィルコKK. 研究部)
- 2 イモリの赤血球に寄生する *Lankestella* の液胞について 佐藤盤根(阪大, 教養)
- 3 海産 *Ceratium* 属の分裂の観察 1 鳥海三郎(横浜市立東高校)
- 4 漚鞭毛虫類 *Noctiluca milianis* の形態に関する研究一体内の各器官 安達六郎(三重県立大, 水産)
(取り消し)
- 5 *Tetrahymena* の microtubules をめぐって 渡辺良雄(予研, 病理)
- 6 *Paramecium multimicronucleatum* の毛胞の電子顕微鏡的研究 稲葉文枝, ○畠光子(奈良女子大, 理・動物)
- 7 *Trypanosoma gambiense* 及び *Trypanosoma evansi* の kinetoplast に対する
p-rosaniline の効果特に電子顕微鏡による観察 猪木正三, ○小関洋子, 小野忠相(阪大, 微研・原虫)
- 8 膜トリコモナスの aldolase および alcohol dehydrogenase 河村信夫, 田中耕誠(慶大, 医・泌尿・歯)
- 9 *Trichomonas foetus* ライボソームの精製に関する経験 ○吉谷正人, 前田宣子, 伊藤義博(徳島大, 医・寄生虫)
岡好万, 尾崎文雄
- 10 鯨から発見された *Sarcocystis* 赤尾信吉(慶大, 医・寄生虫)
- 11 *Nosema* (=Encephalitozoon) *cuniculi* の増殖におよぼす抗腫瘍剤 Endoxan の影響 金田良雄(慶大, 医・寄生虫)
- 12 マウスに寄生する *Nosema cuniculi* の形態と発育について ○松林久吉, 金田良雄, 赤尾信吉(慶大, 医・寄生虫)
- 13 トキソプラズマのシスト内原虫数の推定と感染マウス脳内シストの
発育と分布について ○本村一郎, 中林敏夫(長崎大, 热帶医研・疫学)
- 14 トキソプラズマの病原性の変異について 高田季久, ○山森芳(大阪市大, 医・医動物)
- 15 マウス実験トキソプラズマ症に対する生体免疫の検討 ○伊藤義博, 吉谷正人, 岡好万, 尾崎文雄(徳島大, 医・寄生虫)

特 別 講 演

細 菌 の エ ピ ゾ ー ム

小 関 治 男 (阪大 理 生物)

エピゾームは1群の寄生的な遺伝要因の総称であり、宿主細胞の染色体とは独立に自律的な増殖を行なうこともでき、また宿主染色体に組み込まれてその1部となることもできるものとして定義されている。現在のところエピゾームの例は主に細菌で知られており、大腸菌の性決定因子Fや多剤耐性因子R、溶原ファージなどはその代表的なものである。エピゾームの実体は2本鎖DNAで、大腸菌染色体の1%程度の大きさのものが多く、自律的状態にあるものは一般に閉じた輪の状態をとることが最近明らかになってきた。同程度の分子量をもつ輪状DNA分子の存在は、ミトコンドリアDNA、ウイルスDNAなど多くの生物で報告されている。ここでは大腸菌エピゾームを中心に、そのような輪状DNA分子の組換え、増殖、伝達などについて総説的に述べたい。

 シンポジウム

S1 Genetic system of the chloroplast formation in *Euglena*

Yoshihiro Tsubo

Department of Biology, College of General Education, Kobe University, Kobe

The concept of autonomous inheritance of chloroplast seemed to have been substantiated by the finding made by a number of workers that chloroplasts in algae as well as in higher plants contain DNA whose biochemical and biophysical natures are, in many respects, different from those of nuclear DNA. However, very important problems are yet to be solved. Is this type of minor component of DNA really genetically functional? And how does this DNA correlate with the nuclear DNA? We do not yet reach a definite way of approach.

The chloroplast system of *Euglena gracilis* is particularly interesting. Irreversibly bleached (apoplastidic) cells fully survive when green cells are treated by various chemical or physical agents such as ultraviolet-light, heat and streptomycin, etc. Although each agent would have its own specific inhibition site concerning chloroplast development, the production of bleached cells would consequently depend on a common mechanism. Most plausibly, once the replication of chloroplasts, but not of cell or nucleus, was prevented by any agent, sooner or later apoplastidic cell would be segregated from green one upon cell division. This fashion was demonstrated in our experimental system using sulfanilamide (SA), one of the newly found bleaching agents, which interferes with the synthesis of folic acid. At a sublethal concentration of SA, cell division completely ceased and, when this was followed by a very gradual recovery of cell division, an increase of the frequencies in the appearance of apoplastidic cells was accompanied. Really mean number of chloroplasts per cell which was counted by fluorescence microscopy was diminishing in the recovery period through cell generation to generation.

Addition of paraminobenzoic acid completely recovered the SA-inhibited cell division. Therefore, the SA-inhibition in this case was the block of the folic acid synthesis. Folic acid is a cofactor for the thymidilate synthetase which catalyzes the methylation of deoxyuridine monophosphate to form deoxythymidine monophosphate. Neither thymine nor thymidine was effective for the restoration of the SA-inhibitited cell-multiplication. But when deoxythymidine monophosphate was added to the above mentioned recovery period of the experimenal system, not only cell division, but also replication of chloroplast recovered faster, than without added dTMP. In this connection, the bleaching occurred in the SA-inhibition would be based on the elimination of cytoplasmic DNA which would control the chloroplast formation in this alga.

質問 猪木正三（阪大 微研）

白子は chlorophyll 合成のみが阻害されているものか, plastid そのものが消失しているものか, どちらかお教え下さい。

回答 塙 由宏（神戸大 教養）

chlorophyll 合成だけが阻害された場合は, 一時的に白子になるだけで, plastid をもっている。遺伝的に白子になったものには, もはや plastid はないものです。すなわち遺伝的白子の生産は plastid の複製阻害の結果として, plastid が排除されるのです。

質問 小関治男（阪大 理）

S欠損状態で得られる, 細胞当たり 1 ケの葉緑体をもつ

た個体は, その後, 葉緑体の数を増加しますか?

その様式, 条件等についてお伺い致します。

回答 塙 由宏（神戸大 教養）

Sを考えれば, 数は複元します。その時, 葉緑体の数の複元の後に細胞が分裂します。

質問 阿部 徹

ユーゲレナの染色体数が変化するという報告ありとのお話をしたが, ユーゲレナの染色体数とその変化が正確に報告されている文献を承りたい。

回答 塙 由宏（神戸大 教養）

Epstein ら (Biochim. Biops. Acta) 1966年にそれを暗示するものが掲載されています。

S 2 Characterization of chloroplast DNA from *Chlamydomonas* cells

Masahiro R. Ishida

Research Reactor Institute, Kyoto University, Kumatori-cho, Sennan-gun, Osaka

Suggestive evidences have been reported of DNA in plastids¹⁾⁴⁾, in mitochondria²⁾ and in the kinetoplasts³⁾ using histochemical staining, radioautographic and biochemical techniques. DNA-like fibril in chloroplasts was also observed by electron microscopy⁴⁾. The genetic analysis suggested that certain characters were controlled by the extrachromosomal gene which might be contained in chloroplasts⁵⁾⁶⁾. However, isolation of chloroplast DNA from cells by the biochemical procedures could not be successful until 1963.

In 1963, we succeeded in isolating the chloroplast DNA from *Chlamydomonas* cells, and it was named "satellite DNA". Furthermore our studies revealed that the abundance ratio of satellite DNA to nuclear DNA in the cells of this alga was low, i.e. 3~5%⁷⁾. The presence of such extranuclear DNA might give rise to the following problems; 1) Does chloroplast DNA have genetic activity? If so, what kind of character is determined? 2) How is the duality of both nuclear and chloroplast DNA's from the biochemical and genetical points of view? 3) Origin of such extranuclear DNA.

For dissolving these problems, physical and chemical properties of chloroplast DNA from *Chlamydomonas reinhardtii* were studied. For the extraction of chloroplast DNA, cells were disrupted in the W-medium by a French pressure cell or grinding in a mill, then intact chloroplasts were isolated by ultracentrifugation in 0.5~2.5 M discontinuous sucrose gradient at 25,000 rpm at 2°C for 90 minutes followed by the differential centrifugation⁷⁾. DNA was isolated by the Marmur's method⁸⁾ or phenol method for the subsequent analysis by CsCl-buoyant density ultracentrifugation. For quantitative analysis, DNA was extracted with hot N-perchloric acid and determined by Dische's diphenylamine test⁹⁾¹⁰⁾.

Amount of DNA was 1.2×10^{-11} mg per chloroplast. However, CsCl-density gradient

analysis showed that intact chloroplasts at this purification step were contaminated with about 60% nuclear DNA. Therefore, DNA content per chloroplast was about one half of this value, i.e. 0.5×10^{-11} mg. This value corresponded to about 9×10^6 nucleotides according to the calculation of Gibor and Izawa¹¹⁾. The experiment on hyperchromicity showed that chloroplast DNA was double-stranded, so the number of nucleotide pairs will be 4.5×10^6 . Assuming a triplet code for amino acid transcription, these nucleotide pairs were sufficient for coding 1.5×10^6 amino acids, but this value contained nonsense codes as well.

UV photograph of DNA in CsCl buoyant density obtained by Beckman Model E analytical centrifuge showed the main and satellite bands. For base analysis, separation of both kinds of DNA was carried out in CsCl-buoyant density in SW-39 rotor of Spinco Model L at 18°C at 33,000 rpm for 66~70 hours. Base composition of chloroplast DNA differs from that of nuclear DNA, that is, GC-content of the former was 39.3%, while that of the latter was 62.1%. Density of the DNA was 1.720 g/cm³ in nucleus and 1.702 g/cm³ in chloroplast.

From the phylogenetical point of view, the following regularity on GC-content was found, that is, GC-content of chloroplast DNA from such the algae as *Chlamydomonas*, *Chlorella*, *Euglena* and *Porphyra* is distributed in the range of 30~40%, while that of nuclear DNA ranges from 50 to 65%, viz. GC-content of nuclear DNA is generally higher than that of chloroplast DNA in the algae. In contrast to such relation, GC-content of chloroplast DNA from many higher plants such as *Spinach*, *Beta* and *Tabacco* ranges from 40 to 50%, which is rather higher than that of the nuclear DNA ranging from 30 to 40%.

References

1. Granick, S. (1955): in *Encycl. Plant Physiol.* **1**, 507
2. Chevremont, M. (1962): *Biochem. J.* **85**, 25
3. Clark, T.B., and F.G. Wallace (1960): *J. Protozool.*, **7**, 115
4. Ris, H., and W. Plaut (1962): *J. Cell Biol.*, **13**, 383
5. Sager, R., and Y. Tsubo (1962): *Arch. Mikrobiol.*, **42**, 159
6. Sager, R. (1962): *Genetics*, **47**, 982
7. Sager, R., and M.R. Ishida (1963): *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* **50**, 725
8. Marmur, J. (1961): *J. Mol. Biol.*, **3**, 208
9. Dische, Z. (1930): *Mikrochem.*, **2**, 26
10. Ishida, M.R. (1954): *Memo. College Sci. Kyoto Univ.*, Sr. B. **21**, 55
11. Gibor, A., and M. Izawa (1963): *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, **50**, 1164

質問 村松正実（癌研）

Chloroplast から分離した DNA の 40%が satellite の位置にあって、60%は main band に一致するから、これは核 DNA の contamination であるとおっしゃいましたが、これが本当に核 DNA に由来するという証拠はありますか。例えば Chloroplast の DNA に核 DNA

と似た GC 含量の部分があるという可能性をどう除外するかという事ですが。

回答 石田政弘（京大 原子炉）

現在の実験では、核 DNA のコンタミネーションの全くない葉緑体を精製することは、極めて困難であります。intact の葉緑体の enrich によって核 DNA と葉

緑体 DNA の存在比から推定している現状です。

質問 村松正実（癌研）

1) MAK カラムで DNA ピークの附近に出てくる放射能ピークは RNase-sensitive ですか？

2) Pre-illumination によって出来る RNA が Chloroplast DNA の上に作られたという事を証明するにはラベルしたこの RNA と Chloroplast DNA との Hybridizationを行なってみるのが一番早道だと思います。

回答 石田政弘（京大 原子炉）

1) 一般的に高等植物などにも DNA 附近に広く放射能がでてくるようで、これは DNA や RNA 以外にもポリリン酸の種々の分子量のものが原因している。RNase によって、ある部分の放射能の低下、すなわち消化される部分もあります。分子種については目下検討中です。

2) hybridization につきましては計画中ですし、また精製された intact な葉緑体中の RNA 形成を in vitro でやろうと思っています。

質問 渡辺良雄（予研）

クロロプラスト 1 ケあたりに DNA がいくつぐらい入っているとお考えですか？

回答 石田政弘（京大 原子炉）

精製しました intact chloroplast 1 個あたりの DNA 量は、 $1.2 \times 10^{-11} \text{ mg}$ ですので、この値から計算すると長さも計算できると思います。ただし 1 個の葉緑体に何個の DNA 分子があるかということは、今お答えできるデータを持っていません。文献によると、電顕写真より 150μ という値がえられています。この場合、どうも環状ではなさそうだという結論です。

質問 小関治男（阪大 理）

クラミドモナスの葉緑体 DNA は GC 39% というお話をでしたが、

1) 抽出されている DNA は intact なものとお考えですか？ 分子量は？

2) GC % の分布は homogeneous ですか？

ファージなどのように、fragment に切れば GC の偏在がみられますか？

回答 石田政弘（京大 原子炉）

1) 完全に intact な葉緑体 DNA を分離精製することは、技術的にむつかしいので、Marmur 法、フェノール法で一応は抽出しているのですが、どのくらい切れて分子量の低下をきたしているかは不明。

葉緑体 DNA の含量が非常にわづかであるので、大量の藻体を処理しなければならないという困難性もあります。電顕的な少量のサンプルを取り扱う様にはゆかない。抽出にはできるだけ機械的な操作はさけるようにしている。

2) GC の分布は超遠心プロファイルからは、heterogeneous とは思えない。sonication すれば、バンドはプロードになるが、ピークとしては分離できない。

追加 村松正実（癌研）

今の phylogenetic な問題ですが、これは明日お話しする事になって居りますが、Tetrahymena の核 DNA は大核、小核共、大変 AT-rich であり、GC 含量が 30% を割る程です。石田さんの図によると、higher plant のしかも非常に AT-rich なものに匹敵する。これは Tetrahymena の分類学上の位置から考えて大部ずれていますね。

回答 石田政弘（京大 原子炉）

DNA の GC 量というような一つの化学量から phylogeny を論ずるのはどういう意味があるかは、色々と問題があると思います。むしろ DNA 間の hybridization の方が、まだしも生物学的な意味をもつものと思いますが。しかしながら、高等植物や動物になるにつれて GC 量が 40% 前後に収れんしてくることも、phylogenetical に何か意味がありそうですし、また核 DNA と葉緑体 DNA の GC 量が藻類のグループと、高等植物のグループでは、逆の関係になっていることも何か意味がありそうに思います。Tetrahymena の場合、例外のようですが、この例外にまた意味があるかもしれません。

S3 クラミドモナスにおけるニコチン酸代謝系の遺伝的支配

中村和郎*

九州大学理学部生物学教室

Genetic control of biosynthesis, transport, and regulation in the nicotinic-acid metabolic system in Chlamydomonas

Kazuo Nakamura*

Department of Biology, Faculty of Science, Kyushu University, Fukuoka

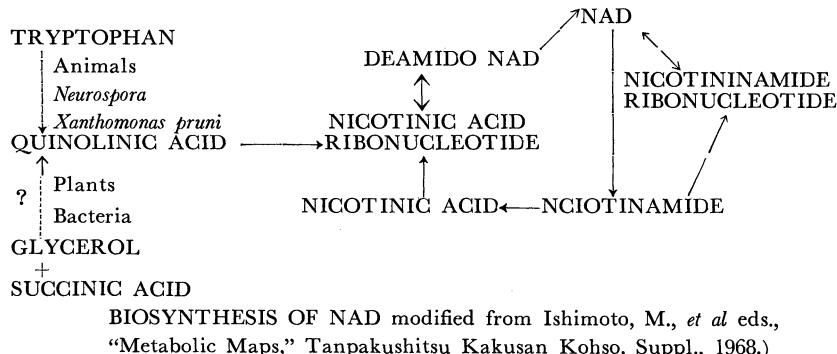
Chlamydomonas は半数性単細胞の生物であるが、その細胞は核をもち、減数分裂をおこなうなどの点で本質的には高等生物のものである。*Chlamydomonas* は合成培地に増殖でき、配偶子形成の誘導や交配などの生活環の制御が容易で、突然変異株が比較的容易に得られ、また、四分子による遺伝子分析が可能であるなどの特徴をもっている。しかも、細菌類での研究方法の多くを利用できるので、protocaryotes において得られた分子生物学上の知見を eucaryotes に拡張するのにも適している。したがって、*Chlamydomonas* は遺伝学や細胞生物学上多くの貢献を将来期待できる研究材料の1つであるといえよう。この観点から筆者らは、4分子分析法を用いて、細菌類で開発された水準での遺伝子解析が可能な実験系を *Chlamydomonas* において開発することを試みた。nicotinamide 要求性は *Chlamydomonas* において最も頻繁に得られる突然変異の1つであるので、このビタミンの代謝系は上述の試みに好都合な対象である。

この機会に、筆者らが *Chlamydomonas eugametos* から分離した nicotinic acid 代謝変異株についておこなった実験^{1)~3)}を中心にして *Chlamydomonas* 遺伝学の一端を紹介したい。

(1) 栄養要求変異：紫外線を照射して得られた12株の

nicotinamide 要求性変異株は、野生型株との交配でいずれも 2 : 2 の分離を示す4分子をつくり、それぞれ單一の遺伝子によって野生型とちがっている。これらの変異株相互の交配をしらべたところ互いに連鎖関係のない5つの遺伝子座、nic-4(4株), -5(5株), -6, -7, -8, に分けられ、それぞれの centromere から 2.4, 3.7, 3.4, 36.4, 3.9 units の距離にあることがわかった。nic 変異株とこれら相互の交配から得られた重複変異株について栄養要求性を吟味したところ、nic-4 および nic-6 変異株は最少培地に quinolinic acid または nicotinic acid を補なっても生育した。nic-5, nic-7, および nic-8 変異株は nicotinic acid を利用できるが、quinolinic acid を利用できない。現在では、NAD 生合成経路において quinolinic acid から nicotinic acid ribonucleotide を生成する過程は、図に示すようにただ1つの酵素反応によると考えられている。筆者らの得た結果は、この過程にあきらかに異なった3種類の遺伝子が関係する未同定の酵素反応が存在する可能性を強く示している。

(2) 輸送変異：nic-5 変異株は nicotinic acid を利用でき、nic-6 変異株は quinolinic acid または nicotinic acid を利用できるが、spontaneous に見出された mod-1



* Present address: Department of Biological Sciences, University of Lethbridge, Lethbridge, Alberta, Canada

遺伝子との重複変異株 (*nic-5-mod-1* や *nic-6-mod-1*) は培地に両物質を加えても生育しない。ところが、これらの重複変異株は nicotinamide を利用でき、また *mod-1* のみをもつ株は最少培地にも生育するので、前者では nicotinamide から脱アミノされた nicotinic acid を、後者では合成された quinolinic acid を、それぞれさらに NAD にすすめる酵素系に欠陥がないことを示す。*mod-1* は nicotinic acid や quinolinic acid を生合成酵素系に輸送する系に影響をおよぼす遺伝子と考えられる。この仮説は *mod-1* 株が 3-acetylpyridine に抵抗性を示すことによって支持される。*mod-1* 株は pyridoxamine や 2-amino 3-phenyl butanoic acid に cross-resistance をもたない点でその作用の特異性を示している。また、*mod-1* の作用は Ca^{++} , Mg^{++} , NH_4^+ , K^+ などの陽イオンによって修復される。この *mod-1* は *nic-5* と *nic-6* のいずれとも対立関係ではなく、centromere から 27.4 units 離れている遺伝子である。

(3) 調節変異 : 3-acetylpyridine 抵抗株として分離された *apy-1* 変異株は nicotinic acid (またはその類似物質) を構成的に野生型株の 8 倍以上生成して培地中に分泌する。*apy-1* はいずれの *nic* 遺伝子とも対立関係や連鎖関係にない遺伝子で、centromere から 16.0 units 離れている。調節作用の異常を示唆する *apy-1* の作用の詳細については quinolinic acid 生合成経路の解明にまつところが多い。

Chlamydomonas のビタミン代謝系に見出された生合成

酵素構造遺伝子、輸送遺伝子、および調節遺伝子についての解析は高等生物における代謝機構の解明に役立つものであり、最近開発された *Chlamydomonas* でのヘテロ 2 倍体の合成⁴⁾ はこのような系における遺伝子作用の解析に、さらに、有力な方法をつけ加えるものであろう。また、*Chlamydomonas* が属している phytoflagellates は多細胞生物への進化の分岐点に近く位置するものと考えられているので、この材料における代謝系の今後の遺伝学的解析は分子レベルでの進化の理解ともつながっている点で興味深い。

文 献

- 1) Nakamura, K., and C.S. Gowans, *Nature, London* **202**, 826 (1964).
- 2) Nakamura, K., and C.S. Gowans, *Genetics* **51**, 931 (1965).
- 3) Nakamura, K., and C.S. Gowans, *J. Bacteriol.* **93**, 1185 (1967).
- 4) Ebersold, W.T. *Science* **157**, 447 (1967).

質問　坪由宏(神戸大 教養)

調節遺伝子は *nic* 系以外の代謝系に関しても調節作用がありますか?

回答　中村和郎(九大 理)

調節遺伝子 *apy-1* をもつ細胞は thiamine と phenylalanine との代謝拮抗物質には cross-resistance を示しません。この限りでは、特異性を示すものと考えます。

S 4 ゾウリムシの接合型遺伝子とその調節

樋渡 宏一

東北大学理学部生物学教室

佐藤勝紀*

宮城教育大学生物学研究室

Mating type gene and the control of its expression in Paramecium

Koichi Hiwatashi

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

Katsunori Sato

Biological Laboratory, Miyagi College of Education, Sendai

Paramecium caudatum の接合型はこれまで知られているものはすべて一対の対立遺伝子によって決定されてい

* 現住所：東北大学農学部畜産育種学研究室

て、優性対立遺伝子をもったものが一方の型で、劣性ホモの遺伝子型をもつものが他方の型になっている。この実験に用いた系統の属する syngen 3 においても、一方の型 VII は +/+ または +/mtV で他方の型 V は mtV/

mtV であることはすでに発表した(Hiwatashi, 1968)。一般に mtV/mtV の遺伝子型をもつ接合型は安定であるが、+ / + または + / mtV の遺伝子型をもつ方はしばしば+遺伝子の発現が不安定である。この場合特徴的なことは、+ 遺伝子の発現が抑制されると mtV/mtV と同じ表現型になることであって、接合型形質そのものが現れなくなるのではない。

われわれはこの優性遺伝子の発現がどのような要因によってコントロールされているのかを解析するために、極端に+遺伝子の発現の不安定な系統である d2-95a という株を用いた。この株は遺伝子型は + / mtV であるが、+ 遺伝子の発現が、環境条件によって容易にしかも可逆的に変化するものである。この株は1日1回以上の分裂を行なわせるように培養液の濃度をコントロールして培養すると接合型はVIで+遺伝子が発現するが、1日0.5回以下の平均分裂速度を維持するように培養液濃度をコントロールすると接合型は常にVであって+遺伝子の発現が抑制される。しかし低分裂速度の状態で培養されたものは高分裂速度の培養にもどすと直ちに接合型はVIIにもどる。すなわち+遺伝子の発現の抑制は可逆的である。

われわれはまず高分裂速度で増殖しているゾウリムシを低分裂速度または分裂停止の状態に移したときに、VI→Vの変化がどういう条件に支配されているかを、媒液の組成やインヒビターの作用をしらべることによって追求した。まず対数増殖期にある細胞または定常期に入る直前の細胞をよく洗って、磷酸緩衝液 (Na 塩だけのものおよびK塩を含んだもの) Tris-塩酸緩衝液、Dryl 液 (磷酸緩衝液にクエン酸ソーダと CaCl₂ を含んだもの)、Exhausted medium (ゾウリムシやその飼である *Aerobacter* が増殖できないほど栄養分の消費しつくされた培養液) などに移すと、接合型VIからVへの変化は培養液中に放置しておいたものに比べて約1日おくれることがわかった。対数増殖期の細胞を洗って24時間だけ定常期の培養液の上澄に懸濁して Dryl 液に移したものは洗った直後から Dryl 液に入れたものに比べて約1日 VI → V の変化が早かった。このような定常期培養液の上澄の作用は25°Cでは見られるが10°Cで作用させた場合には見られない。そして25°C、10°Cともはじめから Dryl 液に移した場合には差は見られなかった。このような事実はVI→Vの変化すなわち+遺伝子発現の抑制に定常期の培養液中の成分が関係するある種の代謝過程が関与していることを暗示する。

このことを更に検討するために、VI→Vの変化がどの

ようなインヒビターによって阻止されるかをしらべて見た。実験はつぎのように行なった。すなわち、対数増殖期から定常期に入る直前の細胞を Dryl 液でよく洗い遠心して集め、これを2つに分けて一方は定常期の培養液上澄と Dryl 液とを1:1にませたもの、他方は上と同じ培養液上澄とインヒビターをとかした Dryl 液とを1:1にませたものに移し、24時間後に両方とも細胞を Dryl 液で洗い、以後毎日接合型をテストする。まず Actinomycin D の作用をみると、10μg/ml 24時間処理のものはVI→Vの変化が対照に比べて10日以上おくれ、対照は4日目に殆んど 100% Vに変化しているのに、処理した方は12日目になっても 2~3%しかVにならない。濃度や処理時間を変えると、5μg/ml 24時間で2日、5μg/ml 6時間処理でもまる1日の遅延がみられた。このインヒビターのよく知られている作用から考えてつぎにRNase の作用をみると、0.25mg/ml 24時間処理でまる2日の遅延がみられた。Kanamycin, Streptomycin, Guanidine-HCl などにも類似の VI→V 変化に対する遅延の効果が認められたが、Actinomycin D や RNase 処理程著しくはない。これに反して Puromycin や Cycloheximide には殆んど作用が認められず、また 2-4 dinitrophenol や NaN₃ にもはっきりした効果は認められなかつた。Actinomycin D の作用で特に注目したいのはこれがVI→Vの変化を抑制するだけでなしに、一度Vに変化してしまったものを処理すると一時的であるがVIに戻ることである。すなわち完全にVになってしまった細胞を Actinomycin D 10g/ml 24時間処理を行なうと、処理後約3日後に10~20%がVIにもどった。しかしこれは自続することなしに1~2日で再びVに変化した。

これらの結果から、接合型遺伝子の発現がどのようにコントロールされているかについての1つの仮説を述べてみよう。Butzel (1953) Taub (1963) によると、*Paramecium aurelia* のいわゆる A group に属する syngen では一方の接合型物質はもう一方の接合型物質の先駆物質であるという考え方が出されている。これはいわゆる pure-type stock が常に一方の接合型にしか現れないことや、two-type stock に放射線などで突然変異を誘起すると pure-type stock が現れるがこの反対はないこと、two-type stock は pure-type stock に対して優性であることなどの事実にもとづいている。*Paramecium caudatum*においては接合型の一方が優性、他方が劣性対立遺伝子によって決定されることとは先に述べたが、優性遺伝子によって支配される接合型は非常に屢々相手の接合型を現すものがでてくるのに対して、劣性ホモの方は

接合型の表現が極めて安定であるという事実は *P. aurelia* の接合型遺伝子の作用とよく似ている。ここでもし接合型VI物質がV物質を先駆物質として合成されると考えると、優性対立遺伝子+はこの合成反応をコントロールしている遺伝子であると考えられよう。したがってこの遺伝子の発現が抑制されると VI → V の変化がおこるであろう。普通の安定な VI は接合能力をもつ時期(定常期)には常にこの遺伝子が働いているが、d2-95a のような不安定な VI では定常期に入ってしばらくするとこの遺伝子の働きが抑制されて VI → V の変化がおこり、また低い分裂速度で増殖するとこの遺伝子ははじめから発現しない。先に述べた Actinomycin D の作用はこの遺伝子の作用を抑制しているのであろうか、もしそうだとすると Actinomycin D を作用させた場合には VI → V の変化は促進されるはずであるが事実は逆である。また同じ処理によって安定な VI の系統を V にかえることができる筈であるがこれはできない。したがって Actinomycin D は

接合型遺伝子と別の遺伝子の作用を抑制していると考えた方がよさそうである。もし VI 表現の不安定な系統と安定な系統のちがいが接合型遺伝子とは別の、接合型遺伝子の働きを抑制する作用をもった遺伝子のちがいだと仮定すると説明には好都合である。事実予備的な実験によると VI 表現の不安定という形質が接合型遺伝子とは別個の遺伝子によって支配されていることを暗示する結果がえられている。この遺伝子を仮に Even-type inhibitor (偶数接合型抑制遺伝子) と名づけると、d2-95a はこのインヒビターをもった系統であって、このインヒビターは低分裂速度で培養したときや、定常期に入ったときに働く。この働きを Actinomycin D によって抑えるとインヒビターは働かなくなり、接合型遺伝子に対する抑制がとれて VI → V の変化は抑制され、また V になったものは VI に戻る。この仮説が正しいかどうかは VI 表現の安定な系統と不安定な系統の交雑実験によって確められるであろう。

S 5 原生動物の生活環における調節

三宅 章雄

京都大学理学部動物学教室

Control mechanism of the life cycle in Protozoa

Akio Miyake

Department of Zoology, Faculty of Science, Kyoto University, Kyoto

原生動物の生活環には、分裂、接合、自家生殖、シスト形成一出シスト、成熟一老衰一若返り、など様々なものが見られる。いづれにおいても、ある状態の細胞から出発し、有性的あるいは無性的の一連の変化を経た後、最初とよく似た状態に戻る。

すでに多くの種類の原生動物で、個々の細胞は 2 種以上の生活環のいづれでもとり得ることが知られている。例えば、ゾウリムシ *Paramecium aurelia* の細胞には、分裂、接合、自家生殖の何れでも行ない得る時期があるが、そのような場合、これら 3 つの可能性のいづれをとるよう “決定” されるかは主に環境要因によるものである。すなわち、栄養条件がよければ分裂し、不十分な栄養条件の下では自家生殖を行ない、不十分な栄養条件の下で相補的な接合型の細胞が接触すると交配反応を経て接合する。しかし、*P. aurelia* の細胞は常にこのような状態にあるわけではない。接合後 2 分裂で増殖を続けると、未熟期一成熟期一老衰期の一連の過程を経て死亡

するが、この間、自家生殖や接合を行ない得るのは、それぞれ、ある期間に限られている。従って *P. aurelia* の細胞は、2 分裂、自家生殖、接合を行ない得るが、実際に個々の細胞がこれら生活環の何れを行なうかは内的および外的要因によってきめられる。

これらの生活環は世代の変化を伴なうものではあるが、個々の細胞がこれら幾つかの可能性の中いづれをとるかの機構を遺伝子型の相違に帰することはできない。100% ホモの細胞から出発した細胞集団の中でこれらすべての生活環が繰返し行なわれ得るからである。従って、その機構については、i) 遺伝子活動は直接関係ない、あるいは ii) 同じ遺伝子型の細胞の間で遺伝子の働き方に相違が生ずる。などの可能性を考えるべきであろう。

後生動物の生活史に見られる細胞分化など細胞間の相違は、主に同じ遺伝子型の細胞の間で遺伝子の働き方に相違が生ずる結果であると考えられているが、後生動物

の生活史と原生動物の生活史における諸変化の間の相同性を認めれば、これは ii) の考え方を支持するものであろう。また最近ゾウリムシの接合機構について行なわれている研究の結果も ii) の考え方とよく合っている^{1,2)}。もし、ii) の考え方方が正しいとすれば、原生動物、特に繊毛虫類は生活環における遺伝子作用調節機構の絶好の研究対象と考えられる。その理由は、繊毛虫の一部のものでは、a) 遺伝子型、表現型の同じ細胞が比較的簡単に大量に得られ、b) これらに生活環のある特定の変化、例えば接合や自家生殖を一齊に人工的に誘導できる、c) メンデル式の遺伝法則に従う多くの形質が知られており³⁾、従来の遺伝学的方法を用いて生活環における遺伝子の役割を研究する道が開かれている、などである。b) については例えば *P. multimicronucleatum* では KCl + アクリフラビン + Ca 欠除条件が約60分で接合を⁴⁾ KCl + アクリフラビン + Ca 欠除条件 + フイシンが自家生殖⁵⁾を、それぞれ同一クロソ、同一接合型の多数の細胞に一齊に誘導することが見出されている。大量の細胞にこれらの誘導法を用いれば、接合や自家生殖に伴なう細胞内の物質の変化を直接調べることが可能であろう。

引用文献

- 1) Miyake, A., *Proc. XII Internat. Cong. Genet. Tokyo, II*, 263-264 (1968)

- 2) Miyake, A., *Japan. J. Genet. suppl. in press* (1969)
- 3) Sonneborn, T.M., *Adv. Genet.*, **1**, 263-358 (1947)
- 4) Miyake, A., *J. Exp. Zool.*, **167**, 359-380 (1968a)
- 5) Miyake, A., *Proc. XII Internat. Cong. Genet. Tokyo, I*, 72 (1968b)

質問 渡辺良雄（予研 病理）

マスで activation をしないで、接合をおこすもの同様をそれぞれ activation したとき、60分以後では常に接合がおこるとお考えでしょうか。

回答 三宅章雄（京大 理）

ゾウリムシを単離して接合誘導に有効な処理をすると、マスの場合と同様、約60分で、接合可能の状態となり、この状態がしばらく続いた後に再び接合できない状態になるとされています。*Paramecium multimicronucleatum* を単離し、相手の接合型から分離した繊毛で処理し、数10分後に幾つかの細胞を1ヶ所に集めると数分間で接合対ができる始めることがわかっていますが、もっと長時間後に集めた場合どうなるかについては確実な実験結果はありません。接合対の形成に先立って、細胞の先端部で繊毛の消失が局部的に起りますが、単離して activate した場合、一度消失して、数時間後にはまた元に戻るので、その頃には接合できなくなっているのではないかと考えています。

S 6 Chromatin-elements of macronucleus (*anlage*) and micronucleus in *Euplotes patella*

Ryo Katashima

Zoological Laboratory, Faculty of Science, Hiroshima University, Hiroshima

A recent work revealed that macronuclear anlagen take place endomitosis and lowly polytenization of the chromatin-elements in the development, and that these elements are the same as those appearing in micronuclear mitosis. These results are mentioned here.

Diploid animals were crossed to amicronucleates for obtaining the conjugating pairs and haploid exconjugants. They were fixed at regular intervals, and stained with Delamater's basic fuchsin for the nuclear apparatus.

The conjugation includes 6 nuclear divisions. Of these, the 2nd one seems to be meiosis I, the 3rd to be meiosis II, and the others to be mitotic. The chromosomal bivalents appear in meiosis I : 24 ($2n=48$) in number; about 1.5μ in length. Meiosis II forms 4 chromatin-rods, which are equal in size and always divide longitudinally. Similar rods are also found in the other mitotic divisions: their number is constantly 8 in diploid nucleus

and 4 in haploid. Judging from the data, the chromatin-rods are stabl in number, divide longitudinally, and each of them may include 6 chromosomes. Such the rods may be precisely useful as a cytological tool for genetic works. On one side, the chromatin rods are comparable with "chromosome-aggregates" named by Devidé and Geitler (1947). However, their opinions that the compound chromosomes are unstable in number and divide transversely do not apply to the present case.

A hemycaryon divides twice to produce 4 products. One of them swells to become a macronuclear anlage, and it forms 4 compound chromosomes. These rods become double in structure, split longitudinally, and then produce 8 daughter rods to complete the 1st endomitotic division. At this stage, the rods are V-shaped and arranged complicatedly in the anlage. The 8 rods further take place endomitosis twice to yeild 32 daughter rods. The rods in these divisions behave like those in the previous one. The present situation is comparable with the well-known endomitotic sage found by Grell (1953) in the developing anlagen of *Suctoria*. However, he has obtained no information about the chromatin-elements of the micronucleus.

The 32 chromatin-rods begin swelling, and each of them becomes a "sphere" which reacts slightly positive to the nuclear stain. The sphere then differentiates into a coiled string. They grow further, and finally develop into uncoiled chromatin-cords, which are 20~30 μ in length and 1.0~1.5 μ in width. Several cords bear a faint indication of the banding pattern characteristic of the giant chromosomes. This may be interpreted as due to lowly polytenization.

Polytene chromosomes have been known in the anlagen of *Nyctotherus* (Golikova, 1964) and in *Styloynchia* (Ammermann, 1964; Alonso and Pérez-silva, 1966), but no endomitosis has been found in those cases. On the contrary, Grell's analgen including endomitosis produce no giant chromosomes. Thus, the anlagen of *Euplates* may be said to follow the new developmental course which has never been reported till now.

質問 渡辺良雄（予研 病理）

1. ポリテンの時期は短いと思いますが、そのあとどうゆう様な方式でふえているとお考えですか

2. *Euplates* の染色体はテロセントリックであるのに endomitosis を行なっているときに出でてくるV型の染色体はなんとお考えになりますか。

回答 片島 亮（広島大 理）

1. ポリテンの一連の変化を示す原基は、接合完了後約80から85時間目の範囲のものに限られる。ポリテン期以降の時期について、公表できる程度の結果はまだえられていない。

2. 内分裂では有糸分裂と同様な紡錘糸はみられません。従って、内分裂の娘集合染色体の分離には有糸分裂とは別な機構が存在すると想像しています。御質問の染色体は私が説明いたしました、真の染色体なのか、それ

とも集合染色体をさすのか不明ですが、恐らく後者だと思います。集合染色体が、真の染色体と同様な端部、中央部、次中部等の動原体型であるかどうかの検討は今後に残されています。

質問 村松正実（癌研）

結局、接合後何回か普通にクロモソームが分裂して行き、途中から Polytene になってゆくと考えられるわけですか？そうすると何回迄、はっきりクロモソームの分裂が見えるのですか？

回答 片島 亮（広島大 理）

大核原基では最初3回の集合染色体の内分裂がみられ、その後低度の多糸化がおこるようです。

質問 阿部 徹

ザンメルクロモゾームと判断される根拠、核相の時間的前後関係を云々される根拠を伺いたい。

回答 片島 亮(広島大 理)

減数分裂で出現する染色体数 ($2n = Ca. 48$) と有糸分裂であらわれる染色体数 ($2n = 8$)との比較から、後者を

集合染色体と判断した。核相の決定は、接合対がはなれて接合完了体になってからの時間的経過を基準とした。

S7 テトラヒメナの大核および小核の分離とその遺伝形質

村 松 正 実, 岩 村 幸 雄

癌研究所化学部

三 田 隆

国立がんセンター

Isolation and properties of DNA of micro- and macronuclei from Tetrahymena pyriformis

Masami Muramatsu and Yukio Iwamura

Department of Chemistry, Cancer Institute, Japanese Foundation for Cancer Research, Tokyo

Takashi Mita

Division of Biology, Research Institute, National Cancer Center, Tokyo

細胞の分化は、遺伝物質である DNA の変化を伴なわずにただその transcription の状態が変る事によってもたらされると一般に信じられているが、最近両棲類の卵細胞においては遺伝子の一部即ちリボソーム・シストロンが数百倍にも増加している事が明らかにされた。一方、双翅類の唾腺染色体の DNA puff の存在も、必要に応じて遺伝子の一部の複製が行なわれる可能性を示唆している。パラメシウムやテトラヒメナの大核は、接合後的小核より生ずるが、この間に DNA 量は数10倍に増加する。これが小核ゲノムの均一な倍数化によるものであるか、或は何か特殊なシストロンの増幅によるものであるかは、これら細胞の遺伝形質発現の調節機構よりみて興味深いところである。これを知る目的で *Tetrahymena pyriformis* var. 1 より、その大、小核を分離し、その DNA の解析に着手した。

先ず細胞のペレットを $0.25M$ sucrose- $3.3mM$ $CaCl_2$ に懸濁し、終濃度 $0.2\sim 0.3\%$ の Nonidet P40 を加えて溶解する。この cell lysate から、大、小核を分離する方法を 2 つに分ける事が出来る。その 1 は比較的少量の小核を得るのに適した方法で、先ず固型の蔗糖を cell lysate に加えて溶解し、終濃度 $2.4M$ となし、Spinco 25.1 rotor で $25,000rpm$ 120分遠心すると大核分画が得られるが、この上清を稀釀して終濃度 $2.2M$ となし、同じく $25,000rpm$ 120分遠心すると、少量の大核の混在する小核分画が得られる。この分画を $15ml$ の $0.34M$

sucrose に懸濁して約 1 分間 sonicate すると、大核のみが選択的に破壊されるので、この sonicate を等量の $0.88M\sim 1.0M$ sucrose に重畳して $3,800rpm$ 20分遠心すると極めて純粋な小核分画が得られる。その 2 は、なるべく大量の小核を得るためのもので、最初の cell lysate を Spinco SW 25.2 (なければ 25.1 でもよい) を用いて $25,000rpm$ 、10分間遠心し、そのペレットを $2.5M$ sucrose に懸濁し Spinco SW 25.2(或は SW 25.1) rotor で $25,000rpm$ 60分遠心する。ペレットは大核分画である。上清は水で終濃度 $2.15M$ sucrose 迄稀釀して、同じく SW 25.2 rotor で $25,000rpm$ 90分遠心し、得られた粗小核分画を上述の音波処理によって精製する。かくして得られた大核および小核分画より Marmur 法に準じて DNA を抽出した。小核の量は非常に少ないので、アルコール沈澱を行なわず、除蛋白と透析をくり返した。これら DNA を $CsCl$ 平衡密度勾配達心法で調べると、大核、小核共にやや巾の広いパターンを示したが、そのピークは大核で $\rho = 1.694$ 、小核で $\rho = 1.690$ であり、その差は僅少である。アルカリ $CsCl$ による遠心でも大核 $\rho = 1.704$ 、小核 $\rho = 1.698$ とやや大核の密が高いが、これは一方をラベルする事による同時遠心で確かめる必要があろう。P から計算される塩基組成は、大核で $35\% GC$ 、小核で $31\% GC$ となり、極めて AT-rich な DNA であることがわかる。大核が AT-rich である事は知っていたが、小核もそうである事から、小核か

大核の生成に際して、AT-richなsegmentの選択的な増幅が行なわれるのではない事が明らかになった。次にリボソーム・シストロンの増幅の可能性をみるとために、 $10\mu\text{g}$ DNA を Millipore filter につけ、Gillespie, Spiegelman の方法に準じて、 ^{32}P でラベルしたリボソーム RNA と hybridization を行なった。その結果大核 DNA の飽和点は 0.25%(DNA) 小核 DNA では 0.28% という値が得られた。この値はなお予備的なものであり、更に種々の条件による実験で決められねばならないが、何れにせよ、大核においては両棲類の卵にみられるような大きなリボソーム・シストロンの増幅はないものと考えられる。以上の結果は、大核 DNA が小核ゲノムの均一な増加によるものである可能性に味方するが、決定的ではない。従って他の可能性を追究するために、DNA-DNA hybridization, などを用いて検索を進める予定である。

質問 樋渡宏一（東北大 理）

以前に佐藤英美氏が *Paramecium* で sexually mature な時期になると immature な時期に比べて nucleolus の数が増えるという事実を見ている。大核の nucleolus というものが Metazoa の nucleolus と同じものと考えてよいか問題はあるが、未熟期と成熟期で ribosomal loci の量に差があるかどうか興味あるのではないか。

回答 村松正実（癌研）

このテトラヒメナは成熟期にあるわけですが、未熟期のをみるのも面白いかも知れません。

追加 三田 隆（国立がんセンター）

使用した mating type IV は未使用の mating type III と 100% conjugation する能力があり、充分 mature している生理的状態にある。

質問 今本文男（阪大 微研）

1. DNA-RNA の hybridization に関して、特異的な hybridization がおこっているという証明を試みられましたか？

2. 大核と小核の DNA 間の homology を DNA-DNA hybridization の手法で試みられましたか？

3. Nonidet で処理された核は生物活性（例えば RNA 合成能）をどの程度保持していますか？

回答 村松正実（癌研）

1. Competition 実験などで確める予定ですが、未だやっておりません。

2. これも是非やりたいと思っております。

3. この系ではやっておりませんが、三田氏が a-micronucleate な GL 系ではやっており、充分、合成能を保持しているそうです。小核についても調べてみたいと考えております。

質問 兼田正男（広島大 教養）

Micronucleus の ribosome gene と macronucleus の ribosome gene と等しいというのはどういうことでしょう？

回答 村松正実（癌研）

等しいというのではなくて、大核 DNA 中に、小核 DNA 中と同程度の割合で存在するというのです。

S 8 テトラヒメナにおけるヒストンの役割

岩井 浩一

群馬大学内分泌研究所

The role of histones in Tetrahymena

Koichi Iwai

Institute of Endocrinology, Gunma University, Maebashi

ヒストンは DNA と結合した塩基性蛋白質として発見され、またそのように定義されている。ヒストンは広く高等生物の各種の細胞核中に存在するが、ある種の魚類の精子核中に存在する塩基性蛋白質でプロタミンと呼ばれているものも、ヒストンの特殊型と見なされる同族の細胞核塩基性蛋白質である。高等生物のヒストン（およびプロタミン）は染色体または染色糸の構造保持に関与

するほか、DNA の複製と遺伝情報の RNA への転写に抑制的に作用していると考えられている。われわれは下等生物でも纖毛虫テトラヒメナや緑藻クロレラなど核をもつ单細胞生物にはヒストンの存在を確認したが、バクテリアには見いだされていない。したがって、核をもつ細胞にはヒストンが存在し、核の形成に関与していると考えてもよさそうである。さらに、分化した細胞ばかり

りでなく、テトラヒメナのような単細胞生物でも、遺伝情報の複製・伝達がヒストンの関与する同じ基盤の上で行なわれると考えることができる。なお、ヒストンは1種類の細胞にもいくつかの分子種が含まれているが、こういうヒストンの本性はその機能の二面性と関係があるようである。

Tetrahymena pyriformis GL のヒストンは子ウシ胸腺のヒストンとアミノ酸組成が全体的には似ているが、リシン／アルギニンの比は高く、その分子種には一部に相違のあることをディスク電気泳動で明らかにした。さらに、同調培養系の細胞周期におけるヒストンの質的・量的変動を DNA 合成との関連において追求し、細胞周期の各時点における DNA の複製と遺伝情報の発現との関係を明らかにしようとしている。分裂期 M、それに続く G₁ 期、DNA 合成の最盛期 S、2 回目の分裂前の G₂ 期の細胞から得られるヒストン全体のアミノ酸組成にあまり変化は見られず、その分子種にも大きな変動はないようである。しかし、ヒストン/DNA の重量比はそれぞれ 1.0 ± 0.1 , 1.1 ± 0.1 , 0.9 ± 0.0 , 0.9 ± 0.0 で、G₁ 期に最高値を示す傾向がある。さらに、同時にリシン、チミジンがそれぞれヒストン、DNA に取り込まれる速度を見ると、DNA 合成のない G₁ 期にもヒストン合成が明らかに認められ、細胞周期中のヒストン合成

期は DNA 合成期より少し先んじている傾向が見られる。これからヒストン/DNA 量比の変動を説明することができるが、その生理的意義はまだ明らかでない。他方、アクチノマイシン D が G₁ 期に存在すると 2 回目の分裂を阻害するが、その他の時期に存在しても影響を与えない。DNA 依存 RNA 合成を阻害するアクチノマイシン D が与える分裂阻害効果と、同じ RNA 合成抑制効果を及ぼすヒストンの合成がこの時期に開始されることと、関連があるかどうかは今後の問題である。なお、テトラヒメナは数種のステロイドホルモンによって増殖阻害を受ける。しかしこの阻害は可逆的であって、アクチノマイシン D の特異的作用とは機構的に違うようである。ステロイドは細胞質に取り込まれるが、核には入らない。ミトコンドリアには結合していて、おそらく呼吸阻害を通じて DNA, RNA の合成を阻害し、ついに増殖を阻害するものと思われる。

以上のように、原生動物にはヒストンが存在することでバクテリアとは異なり、むしろ高等生物に似ている。バクテリアについて発展した遺伝とその情報発現に関する分子生物学が、原生動物を経て高等動物にどのように適用されるかはすべて今後の問題である。原生動物の遺伝に関する分子生物学はいま始まろうとしているのである。

一般講演

1 *Protozoa-community in activated sludge, its features and applicabilities for indicating the water quality*

Isamu Morishita

Biological Laboratory, Research and Development Department, Ebara-Infilco Co., Ltd.,

It is well known that an activated sludge is composed of various living matters including bacteria, fungi, protozoa and metazoa, and hydroxides and other non-living matters. At present, however, there still remain a number of points unexplained about the interrelation of the organisms. The writer has been engaged in the ecological investigation on the protozoa-community which appears very universally in various activated sludge and has a variety of forms. Hereinafter is shown an outline of the results of this investigation.

1. Activated sludges investigated are about 150 specimens from various raw waters (sewage). Detected from them are *Sarcodina* in 27 species of 15 genera, *Mastigophora* in 18 species of 11 genera and *Ciliophora* in 124 species of 59 genera, in total of 187 species. This suggests that the dominant protozoa in activated sludge is *Ciliophora*. As for the *Ciliophora*, *Peritrichida* is found as dominant, and detected up to now are in 61 species of 7 genera of 2 families.

2. Feature of protozoa-community

The community depends in consequence on chemical properties of the raw water, or the community formed has the unique composition according to the particular raw water system. Features of communities can be described as follows in terms of the composition of the *Peritrichida*.

a) Combined system sewage:

Vorticella+Epistylis+Opercularia type=VEO type

b) Separated system sewage:

Vorticella+Opercularia+Epistylis type=VOE type

c) Supernatant of digested human excrements:

Opercularia+Epistylis+Vorticella type=OEV type

d) Diluted human excrements: *Vorticella* type=V type

3. Habitat segregation of *Peritrichida*

Habitat segregation of *Peritrichida* in activated sludge occurs with BOD or COD concentration or raw water and it has a limiting range of existence for each genus in a way. For instance, *Vorticella* 50 to 850 ppm (BOD), *Opercularia* 75 to 850 ppm (BOD), etc.

4. Indication of water quality, etc. in terms of *Peritrichida*

The *Peritrichida* appears very universally and dominantly in activated sludge as described above. Based on the ecological properties of the *Peritrichida*, the writer has for-

mulated and investigated on the following systems to indicate the nature of activated sludge or water quality.

a) Based on the condition of the *Peritrichida* in the protozoa-community appearing dominantly:

i) *Peritrichida* index ii) Protozoa index iii) PC index

b) Based on the individual number of *Peritrichida*, specific genus (for instance, *Vorticella*) or species per unit amount of activated sludge:

i) TNP index ii) NSP index

Examples of the system using these systems are as follows.

i) *Peritrichida* index

This system can be used for activated sludge classification or to indicate BOD concentration. For instance, in the case of BOD concentration, the index form VE type means 100 to 250 ppm, and O type 850 ppm.

ii) Protozoa index

This system can be used to indicate water quality (BOD, COD) or BOD removal rate (%). For instance, the index of greater than 10 means BOD or COD concentration of treated water of 15 ppm or lower, or BOD removal rate of 80% or higher.

iii) PC index

This system can be used to indicate water quality (BOD, COD) or BOD removal rate (%).

iv) TNP index or NSP index

Either one of the two systems can be used to indicate water quality (BOD, COD) or BOD loading more concretely than any of the three shown above. In this way, it is possible to indicate the water quality or other environmental factors by means of the *Peritrichida* as protozoa present in activated sludge.

質問 藤田潤吉（家衛試）

活性汚泥中の原虫数の濃度はどの位の変動があるものですか。

回答 盛下 勇（荏原インフィルコ K.K 研究部）

活性汚泥によって異なりますが一般的には $10^3 \sim 10^4$ /ml

混合状活性汚泥 1 ml です。なお多い場合には 10^6 程度となります。（但しこれらの数はいずれも纖毛虫の場合 monas のごとき鞭毛虫類が dominant species の場合には $10^{6\sim 8}$ 程度になることもあります。

2 イモリの赤血球に寄生する *Lankesterella* の液胞について

佐 藤 磐 根

大阪大学教養部生物学教室

Study on the nature of vacuoles of Lankesterella minima found in erythrocytes of a newt

Iwane Sato

College of General Education, Osaka University, Toyonaka

Lankesterella minima(=*ranarum*)は欧洲(ドイツ)のかエルに、かなり、ふつうにみられるもので1910年代にW. Nöllerによってくわしくしらべられた。日本では峰直次郎(1911)がカエル(トノサマガエル?)に発見している。この原虫は現在は *Eimerida* 目に入れられているが、寄生個所は *Haemosporidia* 目の原虫に似て血管系内寄生、すなわち、血管内皮細胞内で多数分裂がおこり、赤血球内に入った裂虫がヒルの吸血によって他個体に移植されるものである。この際ヒルは単なる伝播者で、その体内での原虫の増殖はない。筆者はイモリの赤血球核の細胞学的研究を行なっている際に、しばしばこの原虫を赤血球の細胞質内にみた。イモリの赤血球内に被囊している原虫は長さが 16μ 、幅 4μ 位の葉巻型、その中央部に核、その両側に1個ずつの大型の液胞のあるのが、この原虫の著しい特徴である。W. Nöllerはグリコゲンの細胞化学的検出などを行なって、この液胞の本性を知ろうとしたが、明らかな結論には達していない。筆者の標本では、いつもこの液胞中に大形の四角形板状、またはときに六角形の結晶がほとんど例外なくふくまれていることに注目した。欧洲でのこの寄生原虫の記載、日本での峰直次郎の観察にも結晶の存在は記されていない。原生動物にはおそらく代謝産物としての炭酸石灰の結晶がみられる場合があるが、筆者のみでいるこの原虫の結晶は、次の事実から無機物の結晶ではなく、ヘモグロビンの結晶と判定した。

1) この結晶形は、イモリのヘモグロビンの結晶と同形である。

2) 標本は Zenker 液(水酢酸5%含有)固定、haematoxylin 染色後に0.5%塩酸アルコールで弁色を行なっている。この何れの一方でも炭酸石灰の結晶は、たちま

ち溶解し去る。ヘモグロビン結晶はたん白質であるから、この固定液によってよく保存される。

3) 結晶の偏光性は固定(重金属水溶液によるたん白質の凝固)によって失われる。

4) 固定された結晶は haematoxylin に染る。これも無機物結晶の示す性質ではなく、固定されたたん白質結晶にはみられる性質である。以上の根拠から、この原虫の示す結晶がヘモグロビンであると推定される。すなわち、この裂虫は赤血球内に侵入し、多量のヘモグロビンを摂取し、それをほとんど消化することなく被囊する故、ヘモグロビンは結晶化して、一種の貯藏物質となっているのではないかと考えられる。すなわち *Lankesterella* にみる大型の2つの液胞は食胞とみなさるべきものと推測される。

しかし筆者にはなお、2つの疑問が未解決のまま残されている。すなわち、イモリの赤血球内では、明らかな結晶を示すのに、何故カエルの赤血球内で結晶の観察例がないのかとゆう事である。カエルよりもイモリのヘモグロビンの方が結晶しやすいのかも知れないが、これを実験的に証明することには成功していない。他の一つの疑問は筆者のイモリの採集地(京都府亀岡城跡外濠)のイモリには寄生例をかなり見るが、同地のカエル(トノサマガエル、ツチガエル)に何故発見されないかとゆうことである。寄生頻度のあまり高いものでないから、カエルの血液の検査数がまだ少くて、寄生例に出あわさないのかも知れない。いずれにしても、筆者の観察しているものが、カエル寄生のものと異なる種とすべきものとの根拠は持ち合せていない。

文献その他に親切なる御教示をいただいた福岡教育大学の石崎英夫教授に厚く御礼申し上げる。

3 Observation on cell division in marine Ceratia. I

Saburo Toriumi

Yokohama Municipal Higashi High School, Yokohama

Binary fission of the genus *Ceratium* had been observed by Lauterborn in 1895. He carried out the observation with a fresh water species *C. hirundinella* O.F.M. Though there are works reported about cell division of marine *Ceratia*, it seems that no observation of complete binary fission has been done about marine species.

This paper reports preliminary studies on the cell division about marine *Ceratia* in cultures.

The material was collected from surface water with a tow net at Sagami Bay. A single cell of *Ceratia* was picked up with a capillary tube under a low power binocular microscope. The cell was washed several times with sterile culture medium and inoculated into culture medium in a small petri dish. The culture vessels were kept at $20 \pm 1^\circ\text{C}$, and usually illuminated by artificial light in the range of about 2,500 Lux, but sometime natural daylight was utilized.

The culture medium used in these experiments is shown in Table 1.

The main results obtained in these experiments are as follows.

1. The cell is often separable from single cell isolates in the culture medium shown in Table 1.

2. Division rate of the *Ceratia* used in these experiments was not great.

3. Complete binary fission of the same species was clearly observed during daytime in these experiments.

4. The onset of cell division was marked on the right anterior margin.

5. The line of fission was not transverse but passes obliquely across the cell. This fission line is similar to that of fresh water species observed by Lauterborn.

6. Under a light intensity of 2,500 Lux, a *chain* formation was observed in the following species.

C. bucephalum var. *heterocamptum* Jörgensen

C. candelabrum (Ehrenberg) Jörgensen

C. furca Dujardin

C. lunula Schimper

C. massiliense (Courret) Jörgensen

C. tenue (Ostf. et Schm.) Jörgensen

C. deflexum (Kofoid) Jörgensen

C. gibberum Gourret

C. macroceros (Ehrenberg) Cleve

C. molle Kofoid

C. trichoceros (Ehrenberg) Kofoid

7. It was observed that the light intensity was one of the conditions for the chain formation to take place.

Table 1 The culture medium used in this experiment

Sea water 1000 ml

NaNO_3 100 ml

Na ₂ HPO ₄ I2H ₂ O	20.0 mg
Na-glycerophosphate	0.01 g
B ₁₂	1.0 g
Tris-(hydroxymethyl)-aminomethane	1.0 g
EDTA	0.03 g
V. Mix. I*	10.0 ml
Biotin	1.0 g
Ca-pantothenate	0.1 mg
Thymine	3.0 mg
Riboflavin	50.0 g

*One ml of Vitamin mixture 1 contains: thiamine HCl, 0.05 mg; nicotinic acid, 0.01 mg; p-aminobenzoic acid, 0.001 mg; and inositol, 0.5 mg.

4 取 消 し

5 *Studies on the microtubules of Tetrahymena pyriformis*

Yoshio Watanabe

Department of Pathology, National Institute of Health of Japan, Tokyo

In the present study, attempts were made firstly to determine whether the protein subunits of the microtubules playing various roles are common, and secondly to investigate whether microtubules can be rearranged *in vitro* from protein subunits.

(1). Microtubular protein fraction was prepared from the outer-fibers of cilia isolated from *Tetrahymena* cells. The fraction contained two protein components in polyacrylamide gel electrophoresis. The components were confirmed to be microtubular subunits, since it was demonstrated electron-microscopically that the antiserum specific for these proteins pronouncedly bound to ciliary microtubules. The antiserum also reacted with the protein taken from isolated oral apparatus or from dividing macronuclei, and a common precipitin line on agar gel plate appeared. Moreover, when the cells were stained with fluorescein labeled antiserum specific for ciliary microtubules or for oral apparatus, fluorescence was localized mainly within cilia, kinetosomes and oral apparatus. An interpretation may be drawn from this result that microtubules having different biological functions are assembled from common subunit(s) with the different "nucleus" of polymerization under various environmental conditions. (2). *In vitro* reconstitution of microtubules was attempted with oral apparatus protein. The apparatus is composed of about 170 centrioles, inter-centriolar microtubules and inter-centriolar fine fibers (50 Å in width). Protein subunits were obtained by dissolving the isolated oral apparatus in N/10 NaOH. Under this condition the protein appeared as a single peak, S₂₀^W being 3.5. As pH of this solution was gradually lowered, oligomer formation occurred and the relative viscosity increased. Although there was no visible precipitate down to pH 8.6, linear rearrangement of the subunits would take place. Lowering pH below 8.0 yielded visible flocculent precipitates.

The precipitation reaction was obviously accelerated by the addition of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Ca^{++} or Mg^{++} (final concentration: 6%, 20 mM or 30 mM, respectively), but rather inhibited by the addition of K^+ or Na^+ (20 mM). Electron-microscopic observations revealed that the acceleration of precipitation may be attributed to the enhancement of the lateral aggregation of linearly rearranged subunits (40~50 Å in width). In most cases, the lateral aggregation of the fine fibers occurred at random; while in some cases, appeared ribbon-like or microtubule-like structures with orderly arrangement. Seed-directed polymerization is an interesting subject for our research in future.

6 *Paramecium multimicronucleatum* の毛胞の電子顕微鏡的研究

稻葉文枝, 畑光子

奈良女子大学理学部動物学教室

Electron microscopy of the trichocysts in Paramecium multimicronucleatum

Fumie Inaba and Mitsuko Hata

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

Paramecium multimicronucleatum の syngen 2, CH 323 系を用いて休止状態にある毛胞の微細構造と、薬剤処理によって発射させた後、毛胞の再生する過程とを電子顕微鏡で観察した。発射刺激には三宅（未発表）による 0.05% lysozyme 液の瞬間的処理を行ない、毛胞発射後、レタス液で洗浄し、正常培養液で 12 時間まで飼育し、毛胞を再生させた。電顕用資料には無処理の虫体および処理後 12 時間までの種々の時間飼育した虫体をそれぞれ 1% オスマック酸と 1.19% 重クロム酸カリの等量混液 (pH 7.9) で氷室内、1 時間固定し、エタノール脱水を経て、エポキシ樹脂に包埋した。切片は酢酸ウラニールと硝酸鉛で染色し、JEM-7 型電子顕微鏡で観察した。無処理の虫体における休止状態の毛胞は Seder と Porter (1955) が既に電子顕微鏡で観察しているように、虫体表面の外質隆起部で形成されている四角形の横うねの中央に、体表に垂直に埋まっている。毛胞は倒立した釘状の尖端部、これに続くにんじん形の本体と、尖端部を被う帽状部とから成り、尖端部と本体はうすい顆粒層につつまれている。さらにその外側に全体を包む薄膜が存在する。毛胞は全長約 5 μ (尖端部 2 μ, 本体 3 μ), 最大の巾 0.7 μ, 顆粒層と外膜は厚さ 10 mμ, 外膜のうち外端から尖端部の約半分迄の部分は肥厚して厚さ 30 mμ である。電子密度は尖端部が最も高いが、本体は Sedar と Porter の観察した電子密度の低い無構造状態と異なり、帽状部と共にかなり高い電子密度を示す。帽状部は纖維状構造

を示すが、尖端部と本体には互に 60 に交わる 3 方向の明らかな周期的構造（暗部 30~50 Å と明部 10~40 Å）が観察される。このうち、長軸と直角をなすものは 4 本が 1 単位となり、そのうち内側の 2 本は顆粒層についているように見える。

毛胞の発射された直後の虫体外質部には多数の不規則形の小胞 (径 0.1 μ 位) が観察され、外皮は所々ふくれ、外皮下空胞は縮小している。毛胞再生過程は 5 期に分けることが出来る。

1. 原基胞期：発射後 2 時間の虫体に、体表から 10~30 μ の内質部に、薄膜（厚さ 10 mμ）にかこまれ、内部は纖維状物質で充たされたほぼ球形（径 0.1~1.3 μ）の原基胞が多く観察される。このような原基胞は発射後種々の時間の虫体にも観察されるが、2 時間後に特に多かったので、発射により急激に数を増したものと考えられる。

2. 前駆体期：発射後 4 時間の虫体では、本体の前駆体である電子密度のやや高い塊が原基胞の中心部に現われる。原基胞の直径が増大し、2.0~2.5 μ に達する間に、前駆体も原基胞の前端の外膜をおして成長し、前駆大の径が 0.6 μ 位になる頃、その先端が平らになり前駆体は本体に分化する。

3. 前毛胞期：原基胞の隆は 2.0~2.5 μ に達した後減少するが、本体の径はさらに増大して 0.9~1.0 μ になり以後減少する。その間に本体は電子密度のやや高い外層と低い内質の別を生じ、又本体の先端に尖端部が形成さ

れ、尖端部に密着して帽状部が形成される。

4. 若毛胞期：尖端部と本体の周囲に顆粒層が形成されはじめ、帽状部は尖端部と離れて外膜に密着するようになり、本体の外層と内質の電子密度の差が消失し若毛胞となる。若毛胞は体表から3～7μの皮質部に体表に

対し種々の方向をとって遊離している。

5. 完成毛胞期：若毛胞は外質隆起部の正常位置について完成毛胞となる。発射後6時間の虫体には各発生段階のものが混合して観察されたが、発射後8時間以後には殆どが完成毛胞として観察された。

7 *Trypanosoma gambiense* 及び *Trypanosoma evansi* の kinetoplast に対する *p*-rosaniline の効果

—特に電子顕微鏡による観察—

猪木正三、小関洋子、小野忠相
大阪大学微生物病研究所原虫学部

The effects of p-rosaniline on the kinetoplast in *Trypanosoma gambiense* and *Trypanosoma evansi*

—Electron microscopic observations—

Shozo Inoki, Yoko Ozeki and Tadasuke Ono

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

トリパノソーマ属のキネトプラスト(K)は、核とは独立して、自己増殖能を持ち、DNAを含み、核分裂に先行して2分裂をする。しかし、自然の状態においてもたまたま、Kを欠いた原虫(AK)が出現するが、薬剤又は色素処置によって、AKを多量に誘発することが出来る。

1953年以来、猪木及びその協同研究者によって、薬剤や色素で誘発されるAK型原虫の出現機序について研究されてきた。今回は、電子顕微鏡を用いて*p*-rosaniline(*p*-ros.)によるAK誘発時における原虫の微細構造の変化について観察した。使用した原虫は、*T. gambiense* W. *p*-ros. 感性株(W.S.)及び*T. gambiense* W. *p*-ros. 耐性株と、*T. evansi* 及びAK型*T. evansi*の4種である。観察したこれらの原虫は、感染マウスから採取した血流型原虫である。そのKは、正常時においては、ミトコンドリア由来の2重膜(キネトプラスト膜)の中に存在する。このキネトプラスト膜(K膜)は、原虫の増殖期(log-phase)よりも、感染極期(stationary-phase)の原虫にはっきりと見られる。又*p*-ros.作用も、stationary-phase時よりも、log-phase時の方が強い。すなわち、log-phase時に*p*-ros.をマウスの体重1kg当たり5mg(5mg/kg)で処置すると、原虫のKに変化が現われるのに対し、stationary-phase時には9mg/kg以上の処置ではじめ

て、Kに変化が現われる。だから本実験では、すべてstationary-phase時の原虫に10mg/kgの処置を行なった。原虫はマウスの血液と共に固定し、後、遠沈(2,000rpm 15分)で血球と分け従来の方法で電顕観察をした。

T. gambiense (W.S.)に*p*-ros. 10mg/kg 4時間処置を行なうと、核には変化が認められず、Kのみに異状がみられる。すなわち、Kの紐状体の端に無構造のelectron-denseな小塊が生じ、K膜が消失している原虫が多数観察された。この紐状体の端にみられる小塊は、*p*-ros.投与後その影響によって、紐状体になる物質が異状になったものである。紐状体とこの端に生じた小塊とは、次の原虫の細胞分裂によって分けられて、小塊を持った方の原虫がAK型となってみられるものと考えている。*T. gambiense* W. では、このAK型原虫は、AK型の株が得られないことから、増殖不能な原虫と考えられている。そこで、*p*-ros. 耐性株*T. gambiense* (W.R.)に同様の処置を行なった所、前述のような紐状体の異状は誘発されたが、K膜の消失は見られない。又*p*-ros.の濃度をあげて(20mg/kg, 40mg/kg, 60mg/kg) 4時間処置を試みたが、矢張り同様の結果を得た。

一方、*T. evansi* に、*T. gambiense* (W.S.)と同様の処置を行なうと、紐状体の異状は認められたが、K膜の消失は認められず、次におこる原虫の細胞分裂によって生

じたと考えられる AK 型原虫では、K 膜内に electron-dense な不定形の小塊がみられた。又 AK 型 *T. evansi* 原虫（長年本研究室に経代されている）を電顕で観察すると、上に述べたものと同様に、K 膜内には electron-dense な小塊がみられた。すなわち、*T. evansi* の AK 型では、光学顕微鏡的な観察では、K が完全に消失しているものとされていたが、電顕観察によって、electron-dense な小塊の存在と、K 膜の存在がみとめられた。

以上のような観察結果から、*p*-ros. によって誘発された AK 型原虫の生存と、K 膜の存在との間に相関関係があるように思われるが、一方、フラビン系色素によって誘発された AK 型原虫の場合では、電顕観察によって、紐状体の DNA の減少及びその形態的変化は認められるが、K 膜の存続することが報じられている。我々も *T. gambiense* W. で、猪木の acriflavine による AK 型誘発実験と同じ条件下で処置を行ない、電顕で観察し

たが、矢張り K 膜は存続し紐状体の形態的変化 (*p*-ros. の場合とかなり異っている) を観察することが出来た。このことは、*p*-ros. でも、acriflavine でも AK 型原虫を誘発することは出来ても、構造的に微細に観察すると、その作用機序が、かなり異っていることを示しているといえよう。

追加 猪木正三（阪大 微研）

1. *T. evansi* の増殖性 AK 型には DNA を含む紐状構造が欠けているが、kinetoplast 膜がある。オートラジオグラフィーでみるとこの膜構造物では DNA 及び RNA の合成が起っていないらしい。従ってこの膜構造の増殖性の説明は困難である。最近核酸を含まない Scappy virus が報告されているが、これと対比して興味がある。

2. この電顕成績を利用して *p*-rosaniline 耐性の形質転換を再確認しようと考えている。

8 Detection of aldolase and alcohol dehydrogenase in *Trichomonas vaginalis*

Nobuo Kawamura and Kosei Tanaka

Depratment of Urology and Department of Dentology, School of Medicine, Keio University, Tokyo

The presence of aldolase in *Trichomonas vaginalis* has already been reported by Baernstein and the present authors also demonstrated it by a biochemical method. In the present study an attempt was made to demonstrate the localization of the enzyme by a staining method with nitrobluetetrazolium used by Nepveux-Wegmann. In this method, the reaction product is water-soluble and some investigators believe that the reaction does not always indicate the localization of the enzyme. However, similar results were gained by the polyvinyl pyrrolidone method and the activity has already been demonstrated biochemically. Therefore, it will be significant to demonstrate the localization of the enzyme by Nepveux-Wegmann's method.

Aldolase was mainly localized near the surface of the cell and also around the nucleus. The localization is clearly different from that of dehydrogenases such as succinic, malic, lactic and alcohol on which the present authors have already reported. Those dehydrogenase are mainly localized in the cytoplasm apart from the nucleus.

The presence of alcohol dehydrogenase has already been demonstrated cytochemically by the present authors. Its activity was tested biochemically using DPN in the present study. The results are indicated in Tables 1 and 2. The control (Table 1) and the test (Table 2) groups indicated a definite difference and the presence of the dehydrogenase activity was demonstrated. It is not yet clear, however, whether this enzyme is working in *T. vaginalis* cell or not and what meaning it does have.

Table 1 Control group

Exp. No.	Start	1 min	2 min	3 min	Differ.	Unit
1	176	176	176	176	0	0
2	151	149	149	148	—	—
3	141	140	141	140	—	—
4	202	199	195	195	—	—
5	195	196	196	196	0	0

Table 2 Test group

Exp. No.	Start	1 min	2 min	3 min	Differ.	Unit
1	115	115	118	121	6	0.13
2	201	206	206	211	10	0.22
3	303	312	322	328	25	0.56
4	135	140	139	140	5	0.11
5	246	248	252	256	10	0.22

The figures indicate the absorbance in the photometer.
Experiments of the same number in Tables 1 and 2 were carried out with the same material.

9 *Trichomonas foetus* ライボソームの精製に関する経験

古谷正人, 前田宣子, 伊藤義博, 岡好万, 尾崎文雄
徳島大学医学部寄生虫学教室

On the refining of *Trichomonas foetus* ribosomes

Masato Furuya, Noriko Maeda, Yoshihiro Ito, Yoshikazu Oka and Humio Osaki
Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University, Tokushima

Trichomonas foetus の生虫 10^7 コの感染はマウスを死に至らしめるが、生虫 10^5 コで前処置したマウスは再感染(10^7 コ)に対して強い抵抗を示す。この防御能は生虫から分画したマイクロソームを用いても再現可能であり、さらに抗原決定部はライボソームに局在すると考えられる。この「防御抗原」決定部を追跡するためにはライボソームの精製とその細分画が必要であるが、肝あるいは大腸菌に用いられる精製法ではデスオキシコール酸ナトリウム(DOC)処理によってRNA(ライボソーム由来と考えられる)の損失が著しく、又從来報告されている紫外外部吸収極大、極小比(260/235m μ の吸光度比)と電子顕微鏡所見が一致しなかった。そこで、(1)溶媒中のMg⁺⁺濃度の検討、(2)ベントナイトの添加、(3)*T. foetus*最終上清液(可溶性タンパク質の分画)のマイクロソーム溶媒としての利用、により精製過程におけるRNAの

損失を比較し、さらに、(4)ショ糖密度勾配遠心分画法、(5)凍結融解による粗ライボソーム溶液中の膜質の凝集、を適用して粗ライボソームからライボソームの精製を試みた。

その結果、(1)と(2)の場合、マイクロソーム溶液(1mM Mg⁺⁺を含む)のDOC処理に伴うRNAの可溶部への移行を抑えることは出来なかった。可溶部に認められたRNAはマイクロソーム中のRNAの約60%に相当し、伝令RNAを考慮にいれてもかなりのライボソーム由来のものが可溶部に移行したものと考えられる。一方(3)の*T. foetus*最終上清液(1mM Mg⁺⁺を含む)でマイクロソームを懸濁してDOC処理を行なった場合、RNAの可溶部移行は平均20%程度に抑えることが出来た。この抑制が最終上清液中の金属イオンによるものか、ある種タンパクの作用に基くものかについて追究し

ている。

粗ライボソームを精製するに当たり、ショ糖密度勾配遠心法によりタンパク/RNA 比が約 1:1 のもので電子顕微鏡的にも膜構造物質がほとんどないライボソーム溶液を得ることが出来たが、この方法は収量と簡便さの点で非常に劣る。さらに高浪の方法ではまったくライボソームを得ることが出来なかった。そこで(5)の方法を用いて膜物質を凝集させ 10,000×G, 10分の遠心によって膜

構造物質を除いた。この溶液の紫外外部吸収比は 1.8~2.0 であり、高浪が精製ライボソーム値として報告している 1.6~1.7 を上回るものである。さらに電子顕微鏡観察で、この比が 1.6 のものではかなりの膜構造物質がライボソーム溶液中に認められたが、1.8~2.0 のものではこれらはほとんど見られなかった。以上の結果から紫外外部吸収の比が 1.8~2.0 のものは *T. foetus* の精製ライボソーム標品として免疫実験にも適するものと考える。

10 A *Sarcocystis* species found parasitic in a whale

Shinkichi Akao

Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University, Tokyo

A large number of opaque white string-like structures were found in muscle of a whale by chance. They were arranged parallel to the muscle fibres and varied 10–20 cm in length and 0.5 mm in breadth. By light-microscopic examinations, it was found that they were Miescher's tubes of *Sarcocystis* which contained a large number of banana-shaped organisms measuring 7–8 μ × 2~3 μ in fresh smears. In stained smears, they had a nucleus and their cytoplasm was highly granulated.

Electron microscopic studies were made on these organisms. The nucleus is situated at the posterior one third of the cell and is surrounded by two layers of the nuclear membrane which has a few nuclear pores. Two conspicuous bodies are situated anterior to the nucleus. One is adjacent to the nucleus and has a membranous structure like a crystae of mitochondria. A similar structure was reported in *Besnoitia jellisoni*. The other is situated more anterior, round in shape and almost homogenous in structure, and is located in a large vacuole. These structures have never been found in *Sarcocystis* hitherto reported. Mitochondria, Golgi complex and endoplasmic reticulum can be found.

At the anterior end, there are a polar ring and a conoid, just as in *Toxoplasma*, and these organelles constitute a mouth-like structure. In some specimens a vacuole which is located posterior to the conoid and is connected with exterior by a tube-like structure can be seen.

This figure may indicate the presence of pinocytosis through these organelles. Sarcconemes, extending backward from conoid to near the nucleus and submembranous fibrils extending backward beneath the plasma membrane can also be seen as in *Toxoplasma*.

Two types of division were found. One is the binary fission which seemed to be longitudinal. The other is the endodyogeny producing two daughter cells in a mother organism. The former seemed to be more common than the latter.

11 *Effect of endoxan, an anti-tumor substance, on the growth of Nosema (=Encephalitozoon) cuniculi*

Yoshimasa Kaneda

Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University, Tokyo

Most of laboratory animals are very often infected with *Nosema cuniculi* and their infections are mostly latent. It is well known that *Nosema cuniculi* when inoculated into peritoneal cavity of mice, grows in the macrophage cells. The highest population of the parasites is usually obtained about two weeks after the inoculation. Even at this time, however, the number of the infected cells is very small and it takes much time for microscopic examinations to find out the parasites. The infected macrophage cells decrease in number gradually thereafter to disappear sooner or later. In the present experiment, endoxan, an anti-tumor substance, was tested to promote the growth of the parasites. This substance is believed to inhibit the protein metabolism, and consequently antibody production. A daily dose of 1.0 mg of endoxan was injected intraperitoneally, starting at the time of inoculation. The population of *Nosema* was estimated by the number of infected macrophage cells among 500 cells in the peritoneal fluid. When endoxan was given for 4 days, 6 days and 14 days, the number of infected cells was definitely larger than that in control mice at 9 and 12 day periods after inoculation. When endoxan was given for 3 days before the inoculation, the number of infected cells was not always larger than that in control mice. These results clearly demonstrated that daily injections of endoxan after the inoculation of *Nosema cuniculi* definitely promoted the growth of the parasites in the peritoneal cavity of mice. As long as endoxan definitely promoted the growth of *Nosema cuniculi*, it may be effective for the provocation of latent infection. As stated above, *Nosema cuniculi* in control animals disappeared from peritoneal cavity mostly within 30 days after inoculation. These mice, which had been infected for more than 30 days, were checked for the absence of this parasite in the peritoneal fluid and injected with 1.0 mg daily dose of endoxan for 6~10 days. The parasites reappeared in the peritoneal fluid of mice after they have once disappeared. These results indicated that the provocation by endoxan injections seemed to be possible in some cases, but this procedure can not be available for the selection of uninfected mice for experimental purpose. Experiments were also carried out with HeLa and L cell cultures in order to determine whether endoxan promotes the growth of the parasite in those cells. Endoxan was added, 2 mg in amount, in culture medium starting at the time of the inoculation of *Nosema* and was kept for 48 hours. The growth of *Nosema* in control culture cells was not recognized in cultures inoculated with a small number of infected cells, but in cultures inoculated with a large number of infected cells the aggregations of the parasites in culture cells were found very often. No significant differences were recognized in the number of infected cells between experimental (endoxan added) and control (without endoxan) cultures.

質問 高田季久（大阪市大 医）

1. Endoxan を用いた時の脳内の *Nosema* に対する影響どうでしたか。

2. 上に関連し、Endoxan のため脳内の囊子様集団が activate されて全身にちらばり感染腹水内細胞が増えるのでしょうか、それとも腹水内細胞中のものが増加し、他の細胞に感染するのでしょうか。

回答 金田良雅（慶大 医）

1. あまり多くの実験をしておりませんので、はっきりしたことは申せませんが、*Nosema* の集団が増加する傾向はみられないようです。

2. Endoxan によっておこる誘発は何故起るのかわかりませんが、腹水細胞中のもの以外が activate されて再び腹水細胞中に虫体が現われるものと考えています。

12 Morphological studies on *Nosema cuniculigrowing* in mouse peritoneal cavity

Hisakichi Matsubayashi

Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University, Tokyo

By the effect of endoxan, an anti-tumor substance, to promote the growth of *Nosema cuniculi* in mouse peritoneal cavity, it has become possible to make an electron microscopic study of this parasite. The general morphology of the spore coincides with that of other species of *Nosema* already reported.

The spore wall is made of 3 layers, the outer and inner layers being very thin and the middle one being about $100 \text{ m}\mu$ thick. The polaroplast extends backwards to the posterior vacuole. The polar filament forms 4—5 coils around the posterior vacuole and the filament itself is composed of outer and inner sheaths which is filled with substance and does not look like a hollow tube. At the center of the inner tube there is an axial fibril.

The proliferative forms were found in the vacuoles of host cell cytoplasm. They are found adhering to the cytoplasm with their one end of the body, as if hanging from the cytoplasm into the vacuole. They have an electron-dense large nucleus, but the nuclear membrane is indistinct. Mitochondria, Golgi complex and endoplasmic reticulum were not detected.

Various stages from these proliferative forms to the mature spore were found. In these intermediate forms a tiny polar filament, having no internal structures, appears first. As it develops, it becomes larger in diameter and makes a coil at the posterior part of the cell. The cell wall becomes thicker gradually and completes the spore formation.

Dividing forms of trophozoites were found. They are elongated in shape having a constriction at the middle. Each half has a nucleus.

質問 川俣順一（阪大 微研）

1. 実験に使用されたマウスはどういう系統で、どう

いう条件で入手、飼育されたものですか。

2. 実験用マウスにおける感染経路は、

3. Endoxan を使用された理由

4. この研究は制がん物質のスクリーニングに当っても重要な問題を提供するものと考えられ、大へん興味あ

る重要な研究と思います。

回答 金田良雅（慶大 医）

1. 慶大微生物学教室より分与された純系 ICR マウスで、当教室で継代されているマウスを使用しました。当教室では種々の実験に使用されたマウスとは全く別部屋で飼育されています。

2. はっきりした感染経路はまだわかっておりません

が、感染マウスの尿に *Nosema* の spore が出され、それが口より入るという感染経路が現在考えられています。また経胎盤感染をするという報告もあります。

3. *Nosema* に対する抗体産生を抑制するのではないかと考えて Endoxan を使用しました。

質問 一色放菟四郎（神戸学院大 生）

1. 昭和12年頃江本修教授方が、偶発脳炎の家兎脳から *Microsporidia* と形態的に区別のつかない、*Encephalitozoon cuniculi* 類似物が発見されたことを記載しておられます。

その後、宮本教授（東京農工大）が神経性犬瘡熱病の大脳神経細胞から Kantorowicz の指摘する小体を見つけられ、江本教授が連名で、西カ原の農林省熱疫調査所における水曜会で、口演発表をしておられ、かつ江本

教授著の教科書にそのことを記載しておられます。

以上の両例が、ただ今ご報告の *Nosema cuniculi* と思われます。

2. 兔の例において、なんらかの症状がありませんでしたか。

回答 金田良雄（慶大 医）

兎にマウスの *Nosema* を接種した場合、めだった症状を示したものはありませんでした。兎でいわれています様に腎臓へ多数寄生するということはマウスではみられません。これらのことから兎で報告されている *Nosema* とマウスに寄生しているものとでは多少異なるのではないかと思われます。しかしこのことは今後更に研究してみなければはっきりとの致しません。

13 トキソプラズマのシスト内原虫数の推定と感染マウス脳内シストの発育及び分布について

本村 一郎、中林 敏夫

長崎大学熱帯医学研究所疫学部

Estimation of the number of parasites contained within a cyst, and growth and distribution of cysts in the brains of mice infected with Toxoplasma gondii

Ichiro Motomura and Toshio Nakabayashi

Department of Epidemiology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University, Nagasaki

演者らは昨年度の本学会において、アラビアゴム重層遠心沈殿による *Toxoplasma gondii* (Tp) 感染マウス脳からのシストの分離法について報告したが、今回は前報に引き続き次の実験を行なった。

I. 改良したアラビアゴム重層遠心分離法 前回の分離術式のうち分離液の比重と遠心力等を変えて、以下の成績を得た。(1)アラビアゴム重層法は蔗糖重層法と比較して分離前の脳乳剤から高いシスト回収率と高度の脳組織除去率が得られた。(2)比重1.050及び1.070のアラビアゴム分離液を用い、1000G (2500rpm) 15分間の遠心沈殿によって満足すべき結果が得られた。(3)1%脳乳剤をアラビアゴム重層法によって遠心沈殿し、平均92.3%のシスト回収率と約99%の脳組織除去率(比濁法により測定)を得た。(4)本法によって分離されたシストはマウスに対する感染性に著明な変化が認められなかった。本法は無菌的操作も容易であり、分離術式も簡便であることから今後感染マウスの脳からシストを分離する実験に広

く応用できるものと考えられる。

II. Tp 感染マウスの経過日数と脳内シストの発育及び分布。Tp シストの検出には脳組織が広く用いられているが、脳の如何なる部位に原虫が多く分布されているかを知ることは重要である。本実験は Tp の Beverley 株を用いて接種マウスの感染経過に伴なうシストの発育や脳内各部位(嗅葉、大脳、小脳、間脳、橋・延髄)におけるシスト数について検討し、以下の成績を得た。(1)マウスの脳内から最初にシストを検出したのは腹腔内接種後15日であり、その後45日目まではシストは次第に発育しその大きさを増す。一方、シスト数は25日目に最も多くその後減少した。(2)マウスの脳内におけるシストは接種後15~45日間で大脳に最も多く全シスト数の58~68を占めたが、一方、橋・延髄におけるシスト数は最も少なく、総数の1.6~4.3%であった。また、脳 1mg 当りのシスト数から密度指数(脳全体のシスト数を100とする)を求めるとき、大脳は121~141となり、橋・延髄の14~40

と比較して多数のシストが大脳に分布していた。Tp 感染マウスからシストを検出する実験において検査材料としては大脳が好適であると考えられる。

III. Tp シストの大きさとシスト内原虫数との関係。
従来、Tp シストを用いた感染実験において接種原虫数はシストの数をもって表現されているが、これは極めて不明確な表現といわざるを得ない。何故ならば、シスト1個といえども感染の経過に従ってその中に含まれている原虫数は数十～数万に及ぶと考えられているからである。本実験はシストの大きさとシスト内原虫数との関係を検討し次の成績を得た。実験方法は Beverley 株感染マウスの脳を1ヶ月後に採取し、アラビアゴム重層法によってシストのみを分離する。十分に稀釀後シストの直径を計り、次に1%トリプシン液を加えてシスト膜を溶解後顕微鏡下でシスト内原虫数を実測した。この際、ゴースト様変性原虫は算定から除外した。その結果、50個のシストの直径とシスト内原虫数との関係を調べ、 $Y = 1.02X + 0.92$ の回帰直線を得た。日常、Tp 感染実験においては40 μ 以下のシストが大半を占めていることからみてこの直線は十分応用できるものと考える。一方、シスト内原虫の長、短径を測定し原虫1個体の体積は約 $16\mu^3$ と推定されるので、30 μ のシストの体積が $14130\mu^3$ とすれば約883個の原虫が理論的には含まれることになる。しかし上記の回帰

直線から原虫数を求めるとき約340個の原虫が30 μ のシスト内に含まれていることが知られ、理論的数値よりも少なかったが、このことは、シスト内における原虫の構造、機能、生活の場、運動等を考慮すればかなりの空間も必要であることから納得できるものと考える。

質問 伊藤義博（徳島大 医）

感染マウスの経過日数25日目のシスト数と30日目のシスト数に極端なひらき（21400～48800, 1600～7600）がありますがこれについて、シストそのものが減少したかどうかについて御教示下さい。

回答 本村一郎（長崎大 热帯医研）

マウスにおける Tp の感染実験においてはシスト数はマウスの個体間の差異によってかなり大きなバラツキがあります。25日目にシスト数が最大に達してその後減少したことはこのバラツキによる差とみるか、30日前後に抗体産生が顕著に発現したための結果であるのか、この点不明です。今後、30日前後を細密に検討してみたいと考えております。

追加 中林敏夫（長崎大 热帯医研）

シストの大きさと内在原虫数との関係については Beverley (1958) の報告を引き合いとして比較したが、他にこの点についての報告、あるいは御経験を御教示願いたい。

14 トキソプラズマの病原性の変異について

高田季久、山森 芬

大阪市立大学医学部医動物学教室

On the variation of pathogenicity of Toxoplasma RH strain

Suehisa Takada and Kaoru Yamamori

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

我々の教室に保存しているトキソプラズマ RH 株 (PH-O 株と略す) は約10年前に慶應大学医学部寄生虫学教室より分与をうけたものであるが、最近、慶大保存の原株 (RH-K 株と略す) との間に、マウスに対する病原性にかなりの差の存在する事が判明した。そこで、我々は、今回あらためて、慶大より原株の再分与をうけ、その詳細について、検討したが、その結果は以下の如くである。

弱毒株 (Beverley 株, HS 株, S273 株) をあらかじめ接種したマウスに、1～2ヶ月後、両 RH 株を Chall-

enge した場合、RH-O 株では、Control (RH-O 株のみ接種) に比べて、生存期間はやや延長されるが、大多数のものが30日以内に斃死する。ところが、RH-K 株では、ほとんどのものが30日以上耐過生存した。上記実験において、RH-O 株 Challenge (栄養形 10^4 コ) 例計90頭のうち、30日以上生存したマウス数 (以下“生存数”と略す) は11頭で、他の79頭はすべて30日以内に斃死し (以下“斃死例”と略す)、それらの平均生存日数は11.8日であった。また、RH-K 株 Challenge 例155頭のうち、生存数は125頭で、斃死例30頭の平均生存日

数は13.1日であった。

Control として、健康マウスに夫々両株を接種した場合は、いずれも、全例斃死したが、しかし、マウスの生存日数にやや差が認められ、RH-O 株接種45頭の平均生存日数は7.3日であり、RH-K 株接種40頭のそれは8.3日であった。

使用マウスの系統による差を見るため、dd 系および ICR 系について比較したが、ICR 系の方が dd 系よりも両 RH 株に対して、抵抗性が強い様であった。しかし、この場合も、RH-O 株は、いずれの系統のマウスに対しても、RH-K 株より強い毒性を示した。

すなわち、dd 系においては、RH-O 株 Challenge 例70頭中、生存数2頭で、斃死例68頭の平均生存日数は11.9日であったが、RH-K 株の場合は Challenge 例95頭中、生存数75頭で、斃死例20頭の平均生存日数は12日であった。また、ICR 系においても、RH-O 株 Challenge 例20頭中、生存数9頭で、斃死例11頭の平均生存日数は11日であり、RH-K 株では Challenge 例40頭中、生存数30頭で、斃死例10頭の平均生存日数は15.4日であった。

次に、Challenge 後の両 RH 株のマウス体内での動向を知るため、Challenge 後、一定の期間毎に、生存マウスを屠殺し、その血液、腹水（腹腔洗浄液）、脳、心臓、肝臓、肺臓、脾臓、腎臓等の各臓器を健康マウス腹腔内に再接種して、RH 原虫の有無、および、再接種マウスの致死までの日数により、その増殖の傾向を観察した。その結果、RH-O 株では明らかに毒性が強く、2日後からすでに、血液をのぞく全臓器で検出され、6～10日においては増殖の傾向を示し、21日に致るも、ほとんどの臓器より検出された。これに反し、RH-K 株では、2日後において、脳を除く他の臓器からは検出されなくなり、それ以後は1～2例の臓器より検出し得たにすぎず、増殖の傾向は全く認め得なかった。ただ、例外的に1ヶ年後において、脳より検出された1例があった。

また、健常マウスに両 RH 株を接種し、その体内での動向を、前述同様マウス再接種法により観察したところ、RH-O 株の方が各臓器での増殖力の強いことが示

された。すなわち、RH 株接種2日後では、両 RH 株とも血液をのぞく全臓器に分布し、それほどの差は認められなかつたが、4日後および6日後では、再接種マウスの致死日数に差が生じ、4日後では、RH-O 株は RH-K 株より1～4日早く斃死し、6日後では、同様に3～7日早く斃死した。この事実は、接種臓器内の原虫数および毒力の差を示すものであると考えられる。

以上の結果は、マウスに於て、RH-O 株が RH-K 株よりも明らかに病原性が強い事を示すものであつて、約10年の間に、同一 RH 株であったにもかかわらず、どちらかの株の病原性あるいは毒力に変異が生じたものと考えられる。

質問　岡 好万（徳島大 医）

1. *Toxoplasma* 毒力株は環境によって更に毒力が上昇するのか。一体、毒力物質の産生ということは適応現象だけでは説明が出来るのですか。

2. *Toxoplasma* の免疫（マウス）で問題にしたいことは、たとえ Beverley 株による前感染といえども、宿主の macrophages に取込まれる以外に、免疫に関係のない細胞に積極的に侵入するものが多数あると思います。このことは免疫成立を阻害すると思います。これらの点について御意見をうかがいたいのです。

回答　高田季久（大阪市大 医）

1. 私どもの得た成績では、original の RH 株よりも10年余の継代の間にマウスに対する毒力（致死力）が上昇したものと考えられます。しかし、これがお説の様な毒力物質によるものか否かは不明です、むしろ増殖力の増大を考えた方が良いのではないかと思います。又適応現象か又は、突然変異であるかについては全く検討いたしていませんので、現在のところ何とも言えません。

2. Beverley 株よりも更に毒力の少ない HS 株ですと、一定の時日と共に脳以外からは発見されなくなりますし、当初から他の臓器から見出される量もなは様です。従って、免疫成立を阻害するまでには至らない様に考えています。

15 マウス実験トキソプラズマ症に対する生虫免疫の検討

伊藤 義博, 古谷 正人, 岡 好万, 尾崎 文雄
徳島大学医学部寄生虫学教室

Living-cell immunization against toxoplasma in mice

Yoshihiro Ito, Masato Furuya, Yoshikazu Oka and Humio Osaki

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

トキソプラズマ弱毒株の感染を経過したマウスは、強毒株の再感染に耐過するという報告があるが、われわれの Beverley 株 (BV) 前処置マウスの経験では再感染を防御し得るような特異抵抗性は求められない。宿主に侵入した本原虫には、宿主食細胞群に捕捉されて免疫過程に従属するものと、免疫に直接関与しない細胞に自ら侵入し、感染を継続進行させるものとの両面が考えられる。そこで *in vivo* において前者のみを進行させることができ特異抵抗性獲得に好条件であるという想定の下に、後者の進展を出来る限り阻止する努力を試みた。すなわち多数の食細胞群を誘導して原虫の捕捉をはかる意味で BV 接種の 4 日前に 1% グリコーゲンもしくは完全アジュバントを腹腔に注入し、33 日後に RH で再感染を行ない。一部のマウスは再感染 4 日前に再びグリコーゲンもしくは完全アジュバントで処置し、無処置及びグリコーゲン、完全アジュバントの注入を行わない BV 感染マウスを対照として、再感染後 50 日間観察した。その結果完全アジュバントを用いたマウス群の一部が生存したが、死亡率は前処置を施さない群と大差なかった。延命効果は重ねて完全アジュバントを使用した群に最も著明にあらわれ、前処置を施さない群では顕著でなかつた。このことは完全アジュバントにより腹腔に誘導された細胞群がマウスの特異抵抗性増強に関与したことを見唆している。又 RH 感染後 9 日目に各マウス群から腹水を採取し、光学顕微鏡で観察した結果、無処置マウス群には強度の原虫増殖を認めたが、各免疫マウス群では原虫はほとんど認められなかった。次いで再感染に耐過したマウスに対し 50 日後に再度 RH を接種した結果、

いずれも対照群より延命を認めたが、18日以上生存したのは前処置を施さない群（3匹中2）であった。さらに再々感染後 18 日目にこの 2 匹及び重ねて完全アジュバントを用いた群のマウス 1 匹（死直後）の脳、肺臓、肝臓、脾臓及び腹水を採取（臓器は磨碎液として）してそれぞれ別の無処置マウスに接種して腹水の原虫を調査した。その結果、前者の中 1 匹の脳及び腹水並びに残り 2 匹の各臓器及び腹水に原虫の分布していた事が証明された。すなわち、感染原虫に対して腹腔内増殖を抑制した生虫免疫マウスといえども、RH の再感染に直接免疫に関与しない細胞への侵入を受けており、今回の実験条件ではこれを防御することはできなかった。しかし重ねて完全アジュバントを用いた群の平均生存日数が、BV のみの生虫免疫群に比較して長かったことは腹腔内細胞群に負うところが大と考えられるので、統いて追究している。

質問 赤尾信吉（慶大医 生）

生虫免疫について humoral immunity と cellular immunity があると思われますが、何れかの知見がございますか？

回答 伊藤義博（徳島大 医）

humoral immunity と cellular immunity についての区別は、本原虫が自動的に細胞内侵入を行なう等の要素がありますので、細菌等の免疫と同一視できないと思いますが、トキソプラスミン反応が delayed type のものであることから、結核菌における cellular immunity との共通性を予測し、主体を細胞性のものと考えて実験を進めています。

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、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。

編集後記

第2巻第1号をお届けします。前号に予報のように、会員名簿も外国向けのローマ字のものを添えました。

また、投稿規定も作りましたので、多少堅苦しいかもしれませんが、これに準拠してどしどし投稿を期待します。原稿の英文はできる限り完全なものをお送り願います。それによつて編集能率がうんと違ってきます。一方また、本学会の国際的価値判断の資料ともなりますので、よろしくご協力下さい。

会計幹事から、会費納入についてのご協力方の申し出がありました。これまたよろしくお願ひいたします。
(尾崎)

原生動物学雑誌 第2巻 第1号

The Japanese Journal of Protozoology Vol. 2 No. 1

昭和44年7月15日 印刷

昭和44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
京都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(565) 大阪大学微生物病研究所原虫学部門内
電話 (06) 878-5121代 (内線3131)

振替口座：大阪 7796