

昭和47年8月
August, 1972

原生動物学雑誌

第5巻 第1号

*the Japanese Journal
of Protozoology*
Vol. 5 No 1

日本原生動物学会
Japan Society of Protozoology

原生物誌
Jap. J. Protoz.

原生動物学雑誌 第5巻 第1号

目次

第5回日本原生動物学会大会概況

講演目次

特別講演 「水質汚濁と生態学」……………津田松苗

一般講演

ニュース

本会記事

会員名簿

投稿規定

原稿作製上の注意

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)

浅見敬三 稲葉文枝 尾崎文雄 高田季久 中村敏夫

樋渡宏一 藤田潯吉 松林久吉

Committee of the Japan Society of Protozoology

Shozo Inoki (President)

Keizo Asami, Fumie Inaba, Fumio Osaki, Suchisa Takada, Toshio Nakabayashi,
Koichi Hiwatashi, Jinkichi Fujita, Hisakichi Matsubayashi

原生動物学雑誌 編集委員

猪木正三(委員長)

稲葉文枝 尾崎文雄 高田季久 大久保舜三

Editorial Board

Shozo Inoki (Chief)

Fumie Inaba, Fumio Osaki, Suchisa Takada, Shunzo Okubo (Secretary)

第5回 日本原生動物学会大会記事特集

日本原生動物学会概況**大会長** 尾崎文雄博士**会場** 徳島大学医学部
徳島県徳島市蔵本町3丁目**会期** 昭和46年11月23日(火)**日程**

9:25	開	会
9:30~11:00	一般講演	(1~6)
11:10~12:10	一般講演	(7~10)
13:00~13:40	総 幹事報告	会
13:40~14:45	特別講演	
14:45~15:45	一般講演	(11~14)
16:00~17:30	一般講演	(15~20)
17:30	閉	会
18:00~20:00	懇親	会

講演目次

特別講演

水質汚濁と生態学……………津田松苗(奈良女子大, 理・動物)

一般講演

1. 赤痢アメーバの数種の脱水素酵素に関する細胞化学的研究
……………○河崎浩文, 浅見敬三(慶大, 医・寄生虫)
2. Electron microscopy of *Entamoeba histolytica* in culture and
in intestinal mucosa.……………Kee-Mok Cho, Chung-Wook Kim,
Young-Kun Deung and Chin-Thack Soh
(Dept. of Parasit., Coll. of Med. and Inst.
of Trop. Med., Yonsei Univ., Korea)
3. Fine structures of *Entamoeba gingivalis* in culture and in oral cavity
……………Kee-Mok Cho, Joung-Kang Yank, Young-
Kun Deung and Chin-Thack Soh (Dept.
of Parasit., Coll. of Med. and Inst. of Trop.
Med., Yonsei Univ., Korea)
4. Mitomycin-C で処理した *Trypanosoma evansi* におよぼす *p*-rosaniline
および ethidium bromide の効果……………○小野忠相, 猪木正三(阪大, 微研・原虫)
5. *Trypanosoma cruzi* の kinetoplast の分裂の電顕的観察
……………猪木正三, ワルニースクシー, ○工藤信子(阪大, 微研・原虫)
6. *Trypanosoma cruzi* の防禦抗原に関する研究(その2) ……金田良雅(慶大, 医・寄生虫)
7. 菌類遊走子の原生動物的諸性質……………宮田善雄(京都府大, 農・植物病理)
8. 移植活性汚泥中の原生動物群集挙動について……………○盛下 勇, 今鷹 嬰子(荏原インフィルコ)
9. 太陽虫類の鱗片・剛刺の電子顕微鏡的構造……………高橋永治(神大, 理・生物)
10. 羊におけるルーメンプロトゾアの体表構造について……………○今井 莊 一(東京学芸大, 生物)
角田 清(家畜衛試)
11. クラミドモナス hfl-mutants とその成育特性
……………○棚瀬純男, 佐藤忠文, 木谷隆子(岡山大, 理・生物)
12. クラミドモナス細胞抽出蛋白の免疫電気泳動的分析
……………○佐藤忠文, 橋本秀子, 中野茂樹(岡山大, 理・生物)
13. *Blepharisma intermedium* の接合過程における核現象の電顕的観察
……………○三宅克子, 稲葉文枝(奈良女子大, 理・動物)

14. *Blepharisma intermedium* の色素の遺伝について
.....○亀山博子, 稲葉文枝(奈良女子大, 理・動物)
15. トキソプラズマにおけるピルビン酸の代謝.....竹内 勤(慶大, 医・寄生虫)
16. トキソプラズマの oocyst 形成過程について
.....○井関基弘, 西林 満, 高田季久, 田中英雄(大阪市大, 医・医動物)
17. *Toxoplasma fecal form* の経口投与による感染試験
.....○伊藤進午, 角田 清, 藤田澁吉(家畜衛試)
西川洋昭(日獣大)
18. *Toxoplasma* の oocyst に関する研究 (II)赤尾 信吉(慶大, 医・寄生虫)
19. 実験トリコモナス症における免疫リンパ細胞の防禦的役割,
特に免疫血清との関連について
.....○古谷正人, 土肥美代子, 前田宣子, 伊藤義博, 奥木 実, 岡 好万, 尾崎文雄
(徳島大, 医・寄生虫)
20. Metronidazole に対する耐性腫トリコモナス株の有無について
.....浅見敬三, 竹内 勤, ○三浦左千夫(慶大, 医・寄生虫)

特別講演

水質汚濁と生態学

津田 松苗

奈良女子大学理学部動物学教室

Water pollution and ecology

Matsunae Tsuda

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

1. 生態学のこと

生態学にはいろいろの定義がある。そしてその定義も時代によって変わってきている。わたしは、かなり以前に割り切って「生態学は生物の社会科学である」とした(津田, 1958)が、いまでもその定義でよいと思っている。社会科学の最大の分野は社会学と経済学とであるが、これに対応して生態学のなかに生物社会学的なものや生物経済学的なものと考えられる。十数年以前までは前者にウェイトがあったが、最近は後者の方が花ざかりである。

博物学から、生物地理学から、生理学からというふうに、いろんな分野から発した寄せあつめの学問で出発した生態学は、ある意味ではいまでも「ぬえ」的性格を残しているが、追々独自の方法論と独自のフィロソフィーが確立しつつあるといえる。その内容を紹介することは、とても時間が許さないが、ここに生態学で(ことに生物経済学的な面に重点をおいて)よく用いられる用語を列記して、その一端を想像していただくとしてしよう。

作用(アクション)、反作用(リアクション)、競争、個体、個体群、群集、生態系(エコシステム)、生物指標、優占種、特有種、遷移、極相、亜極相、プランクトン、底生生物、遊泳動物、浮漂生物、デトライタス、マイクロコスム、食物連鎖、補食者、被食者、栄養段階、生産者、消費者、分解者、1次消費者、2次消費者、3次消費者、1次生産、2次生産、基本生産、現存量、生産力、摂取量、呼吸量、死亡量、純同化量、増加量、総同化量、生産量、生産構造、自栄養、他栄養、呼吸消失、捕食消失、死後分解消失、累進効率、個体数のピラミッド、現存量のピラミッド、エネルギーのピラミッド、捕食活性、飼料効果、消化吸収率、代謝、生産速度、消費速度、呼吸速度、同化速度、物質循環、エネルギー流転、等々。

2. 水質と生物

環境の生物への作用(アクション)を逆用するのが生物学的水質判定である。川には、水質によってちがった種類がすみついているので、あらかじめ種々の汚濁の程度の水域で、そこに見られる生物相を調べ、汚濁の程度と生物相との関係を明らかにしておく、あとは水中の生物を調べることによって、水質汚濁の程度を判定することができる。生物学的水質判定の階級としては、普通には強腐水性、 α 中腐水性、 β 中腐水性、貧腐水性の4階級にわけられる。

(1) 群集により

また種をたよりにするだけでなく、生物群集で水域をつかもうとする傾向も大いにでてきている。

たとえば七つの階級を区分し、その群集の特性をあげると次のようなことがいえる。

1. 毒腐水性……工場から流される廃水で、有機汚濁物質のほか、特殊な有毒化学物質を含む水である。生物はみられず、バクテリアも生活することができない。
2. 超腐水性……精糖工場の廃水などの高濃度の有機工業廃水で、しばしばはげしい発酵が見られる。ある種の酵母やバクテリアが見られることがある。
3. α 強腐水性……ミズワタ・イオウ細菌などのバクテリアや、オイコモナス、キロモナスなどの無色のベン毛虫類がすむ。
4. β 強腐水性……ツリガネムシ・ゾウリムシなどの繊毛虫類が多く現われる。無色ベン毛虫類も見られるが、ミドリムシなどの有色ベン毛虫類も現われる。
5. α 中腐水性……繊毛虫類、ベン毛虫類のほか、ケイ藻類が現われる。
6. β 中腐水性……ケイ藻類および緑藻類が無数に現われ、水生昆虫、その他の無脊椎動物も見られる。
7. 貧腐水性……繊毛虫類やベン毛虫類は減少、昆虫の幼虫がたくさん現われる。

(以上のうち、 α 強腐水性の水は、都会の下水やどぶ川の水に相当し、ここには魚類はまったくすみつかない。下水処理場は、強腐水性の水を浄化して、 β 中腐水性以下にするのを目標としている。)

表—1 水質階級の比較 (Sladeczek 1966 より、一部省略)

水質階級	BOD (ppm)	底生植物群集 (Fjordingstad, 1964)	繊毛虫群集 (Sramek-Husek, 1958)	底生動物 (Zelinka, 1953 Rothschein, 1962)
ゼノ腐水性 (β 貧腐水性)	1	<i>Hildenbrandia rivularis</i> <i>Draparnaldia plumosa</i> <i>Chlorotylum cataractarum</i>	非常に稀	ヒメフタオカゲロウ
貧腐水性 (α 貧腐水性)		<i>Phormidium inundatum</i> <i>Vaucheria sessilis</i> <i>Lemanea annulata</i> <i>Batrachospermum vagum</i> <i>Meridion circulare</i> <i>Draparnaldia glomerata</i>	貧腐水性繊毛虫	ヒメヒラタカゲロウ
β 中腐水性	2.5	<i>Batrachospermum moniliforme</i> <i>Lemanea fluviatilis</i> <i>Cladophora glomerata</i> <i>Ulothrix zonata</i> (清水性)	β 中腐水性繊毛虫 <i>Coleps hirtus</i> <i>Dileptus anser</i> <i>Euplotes patella</i> <i>Hemiophrys procera</i>	タニガワカゲロウ
	5	<i>Phormidium</i> div. sp. <i>Cladophora fracta</i>	<i>Frontonia leucas</i> <i>Lacrymaria olor</i> <i>Lembadion lucens</i>	ヒトリガカゲロウ モンカゲロウ
α 中腐水性	10	<i>Stigeoclonium tenue</i> 底生 <i>Oscillatoriae</i>	<i>Chilodonelletum cucullulae</i>	シマイシビル
	15	<i>Ulothrix zonata</i> (汚濁性)		
強腐水性 (β 強腐水性)	50	<i>Sphearotilus natans</i> <i>Euglena viridis</i>	<i>Colpidietum colpodae</i>	イトミミズ

(注) 水質階級の欄に () に入れた階級名は筆者の挿入。図—2 および表—2 に示された階級に対応させるためである。

6 特別講演

また、群集のなかの優占種に基づく判定法もある。デンマークの Fjordingstad (1963) のやり方がそうだ。かれは底生生物のうちバクテリア、無色のベン毛虫および藻類のみを使用し、その優占種によって階級わけをする。かれは9階級を区別するが、その詳細は略する。ただし表-1のうちにその1班をみることができる。顕微鏡下にあられる生物のうち優占種について考えればよいということは、わずかな種類を問題にすればよいということにもなり、取り扱いが簡単である。事実非常に少量しか出現しない種類は、たいてい判定に重要視することができないもので、このような種類にあまりとらわれてはむしろ判断をあやまることさえある。Fjordingstad のいき方は高く評価されるべきである。

さて以上のような生物学的階級は、汚染物質濃度とどのような関係にあるだろうか。もちろんここでは有機汚染のみを取り扱うのであるが、有機物の量の多少は、もっとも簡単にふつう BOD すなわち生物-化学的酸素要求量で示される。この BOD との関係はだいたい、

β貧腐水性	1ppm以下
α貧腐水性	1~2.5ppm
β中腐水性	2.5~5ppm
α中腐水性	5~10ppm
β強腐水性	10~50ppm
α強腐水性	50ppm以上

とする(筆者のやり方)。学者によってこの境界は若干ずれることがある。また、止水と流水によってもずれがある。

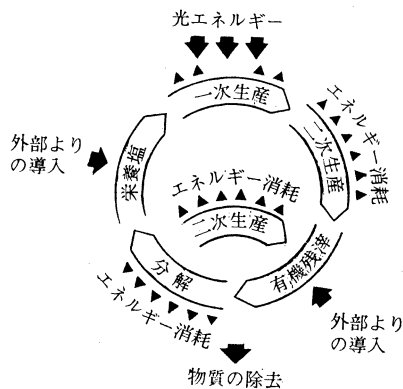
なお、ある分類グループのみについて指標種または優占種により階級を云々することもある。Sramek-Husek (1958) の繊毛虫群集によるもの、Zelinka (1953) や Rothschein (1962) の肉眼的底生動物によるものなどがそうである。Sladeczek (1966) の作った表-1にはこれらの比較が示されている(原文より筆者簡略化)。

(2) 物質循環のあり方によって

汚水生物体系は、さらに別の角度からも進展する。生体系の物質代謝の動きを測ることによって、水域の階級づけをしようとする方向である。ハンブルグの Caspers 教授(1966)らのいき方がこれであって、上述の種を重視する方法に比べて著しく生態学的、生物経済学的である。

図-1に示す水域の物質循環のモデルをみてみよう。大きい輪は、1次生産、2次生産、有機残渣、分解、栄養塩の五つの部分(セクター)からなっているが、この1環は自生性の、すなわち水域内由来

図-1 生態系における物質とエネルギーの流れ (Caspers, 1966)

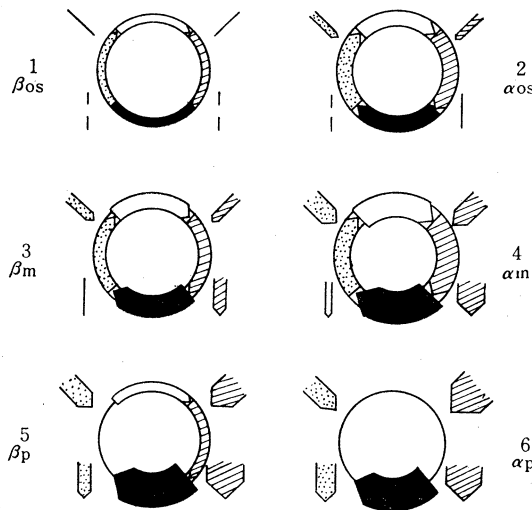


の物質の代謝過程を示している。一方、下半分にできている有機残滓、分解、2次生産をつなぐ環は、分解呼吸に関する生物群のみよりなる循環の輪を示している。

この系を流れるエネルギーは矢印で示されている。すなわち、光エネルギーの入射があり、生物の物質代謝の際のエネルギーの消耗がある。また、他生的栄養塩や有機物の導入も示されている。一方、流下や沈殿による物質の系からの分離は下に向かう矢印で示されている。

要するに、このモデルは水域生態系における物質の流れと、エネルギーの流れとを表わしている。この物質代謝を基礎として各階級を性格づけることができる。

図-2 各階級における物質循環のトロフィー性部分(生産部分)とザプロビ性部分(分解部分)を表わす模式図(Caspers, 1966)



(注) 環の部分は自生物質の循環を表わす。そのうち上の弧は1次生産、下の弧は分解あるいは呼吸、左の弧は自生的栄養塩、右の弧は自生的腐敗性有機物である。

上方から斜めに内方に向かう矢のうち、左の矢は他生的栄養塩の導入を表わし、右の矢は腐敗性有機物の導入を示す。また垂直に下方に向かう矢のうち、左の矢は栄養塩の過剰を、右の矢は有機物の過剰を示す。

- 1 β 貧腐水性, 2 α 貧腐水性, 3 β 中腐水性, 4 α 中腐水性, 5 β 強腐水性,
6 α 強腐水性

図-2を参照ください。ただしここでは2次生産は示していない。2次生産は1次生産から分解への転換のごく部分的な役割りをなすにすぎず、物質循環を大きくみれば無視することができる(あるいは分解のなかに入れて考える)。こういうわけで、この模式図の自生物質循環の輪には、1次生産と分解だけが示されている。

この図は大雑把ではあるが、各階級の物質代謝的性格をよく表わしている。各階級について説明すると、

β 貧腐水性(β -os)；同化、分解、いずれも他生的導入はほとんどない。有機物の沈殿蓄積はできない。1次生産と分解は同じ程度で、いずれも僅少。陸水学でいう貧栄養型水域。

α 貧腐水性(α -os)：他生物質の導入が若干あり、それが水域内物質の1次生産と分解を若干強化する。しかし、すべての物質が水域内循環のなかでこなされる。それゆえ1次生産と分解の規模は等しい。貧腐水性ではあるが、陸水学でいう富栄養型。

8 特別講演

β 中腐水性(β -m)：これも陸水型では富栄養型であるが、他生物質の導入が増加し、その結果分解性物質はふえ、水域内の分解によってすべての物質が完全に無機化するところまではいかない。分解不完全な残滓が底に沈殿する(右下の矢)。それゆえ、水域に有機残滓のたい積の増加をきたす。

α 中腐水性(α -m)：これも富栄養型。他生物質の導入がさらに増加するので、生産および分解が著しく強まる。有機残滓の無機化に至らない部分がさらにふえるので、有機泥のたい積が高まる。その泥のなかで嫌気性分解が起こる。さらに、この階級では分解による生産面の抑圧が始まる。それゆえ自生的、他生的の栄養塩が全部1次生産に入っていくとは限らない。

β 強腐水性(β -m)：生産面では α -mで始まった傾向が進み、非常に減退する。この水域では、分解過程が支配的になる。自栄養性過程が若干残っているが、有機残滓はほとんど物質循環にかえてこない。それは、有機物の分解は、質的、量的にきわめて不完全であるからである。この場合の生産はもっぱら他生的導入による栄養物質に基づく。しかも、その他生物質のきわめてわずかな部分が1次生産に利用されるにすぎない。底泥は嫌気性であるほか、底の上層の水の部分にも嫌気性状態が広がっていく。

α 強腐水性(α -P)：有機物の負荷は、ますます大きい。生産過程はなくなる。それゆえ、この水域にある有機物は、すべて外来のものである。水域内の物質循環は成立しない。生物群集は嫌気性バクテリアのみからなる。

表-2 各階級の1次生産レートと呼吸レート (Caspers, 1966)

階級	外来有機物導入レート	1次生産レート	呼吸レート	有機物流送とたい積のレート	P/R商
	他生性潜在エネルギーの水域内への導入	水域内における活動エネルギーの潜在エネルギーへの転化	潜在エネルギーの活動エネルギーへの転化	利用されなかった潜在エネルギー	
I β 貧腐水性	ほとんどなし	わ ず か	わ ず か	ほとんどなし	ca 1
I a β 貧腐水性	わ ず か	わ ず か +	わ ず か	わ ず か	> 1
II α 貧腐水性	わ ず か	中 位	中 位	わ ず か	ca 1
II a α 貧腐水性	わ ず か	多 い	中 位	中 位	> 1
III β 中腐水性	多 い	中 位	多 い	中 位	< 1
III a β 中腐水性	多 い	多 い +	多 い	多 い	1 ~ > 1
IV α 中腐水性	非常に多い	多 い	非常に多い	多 い	\ll 1
VI a α 中腐水性	非常に多い	多 い +	非常に多い	多 い +	< 1
V β 強腐水性	きわめて多い	わ ず か	きわめて多い	きわめて多い	\ll 1
VI α 強腐水性	きわめて多い	ほとんどなし	きわめて多い	きわめて多い	ca 0

(注) I, II, III……は止水, I a, II a, III a……は流水の場合

有機物流送とたい積とは、湖においては湖底たい積と湖外への流出を意味し、流水の場合は下流への流送を意味する。P/R商は、1次生産レート/呼吸レートの商

なお、以上の各階級について、エネルギー代謝の方の各要素を対比すると、表-2のようになる。

(3) 将来像

Kolkwitz and Marsson が汚濁の指標種を列举して Saprobiensystem と称した時代から発展して、いまではこの Saprobiensystem ということばは非常に広い範囲の意味をもってきつつある(汚水生物体系と訳す)。水質汚濁をめぐる生理生態学を含むシステムというべき分野になってきている。この研究が進めば進むほど、生物学的水質判定の基礎も確立することはいうまでもない。

 一般講演

1 赤痢アメーバの数種の脱水素酵素に関する細胞化学的研究

河崎 浩文, 浅見 敬三

慶応義塾大学医学部寄生虫学教室

Cytochemical studies on dehydrogenases in Entamoeba histolytica

Hirofumi Kawasaki and Keizo Asami

Department of Parasitology, Keio University School of Medicine, Tokyo

Entamoeba histolytica 虫体のもつ代謝系に関連する各種酵素の存否についての研究は、多くの学者により明らかにされつつありますが、これらの成績は必ずしも一致したものではありません。赤痢アメーバにおいては、ピルビン酸につづく酸化系は硫酸還元系と共に一応作動していると言われますが、詳細は不明であります。

今回、TCA cycle 等に属する脱水素酵素について、E.h. 虫体内での存在の有無を究明し、さらに局在性並びに代謝機構を追求しようと企て、その初段階として細胞化学的手技により光学顕微鏡のレベルで、Succinate dehydrogenase (SDH), Malate dehydrogenase (MDH), Isocitrate dehydrogenase (ICDH), Lactate dehydrogenase (LDH), Glucose-6-Phosphate dehydrogenase (G6PDH) について検討しました。

実験材料は Dobell 培地で 250 代余り継代培養した Laredo 株を用い、低温下で遠沈集虫し生理食塩水により 3000rpm で 15 分間遠沈洗滌し、ついで 0.1M 磷酸緩衝液で洗滌したものを用いました。

実験は、それぞれの基質を含んだ反応液中に洗滌後の虫体を浮遊せしめ 37°C 恒温水槽中で 8 時間 incubate し、光学顕微鏡で観察しました。なお、この実験で基質を加えない反応液中で同様に incubate したものを対照としました。

それぞれの基質が脱水素酵素の触媒により反応をおこ

し、この際の水素が NBT を還元して Reduced NBT すなわち Formazan を形成し、発色します。

実験結果は、SDH では細胞膜、細胞内顆粒の限界膜に陽性の像を認め、対照とは差違を認めました。MDH では細胞内の顆粒に陽性の像を認め対照と差違を認めませんでした。ICDH では陽性像を認めず、対照と差違がありませんでした。LDH でも陽性像を認めず、対照と差違はありませんでした。G6PDH では細胞内顆粒に陽性の像を認め、対照と明らかな差違を認めました。

以上の結果をまとめて、同じ教室の田中が行った *Trichomonas vaginalis* と比較してみますと、同じ嫌気性の原虫でありながら、部位に差がみられ、あらわれる強さにも差があり、また、脱水素酵素の種類にも明らかな差があることがわかりました。

結論として、(1)細胞化学的手技によって、赤痢アメーバ虫体内に SDH の存在が強く認められ、G6PDH, MDH の存在も認められました。(2) LDH, ICDH 活性については否定的な結果が出ました。

以上、数種の脱水素酵素の存否について検討しましたが、E.h. 虫体内の局在と虫体内微細構造物との関連性を究明することは光学顕微鏡のレベルでは殆んど不可能ですので、さらに電子顕微鏡を用いて追求中ですので、その結果については追って報告します。

2 *Electron microscopy of Entamoeba histolytica in culture and in intestinal mucosa*

Kee-Mok Cho, Chung-Wook Kim, Young-Kun Deung and Chin-Thack Soh

Department of Parasitology, College of Medicine and Institute of Tropical Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea

YS 27-strain of *Entamoeba histolytica* was used throughout the study. The strain was originated from the trophozoite in liver abscess of 72 year-old man in August 1969, and maintained on a diphasic medium which was added with calf serum and Penicillin G (Cho, 1968). The intestinal flora in the medium were not identified.

Young rabbits were inoculated intracecally with the trophozoites of the ameba strain and killed 12 days after the infection. The cecum was removed and portion of the lesion was fixed with 3% glutaraldehyde and 1% osmium tetroxide, and prepared for electron microscopy by standard techniques.

For *E. histolytica* in culture, the sediments from cultures (48 hour-old) were centrifuged at 500rpm and was solidified adding a few drops of warm agar following double fixation, and it was cut into 1 mm cubes.

The fine structure of the trophozoite of *E. histolytica* was similar in general with that described by other authors (Miller et al., 1961 ; El-Hashimi and Pittman, 1970 ; Lowe and Maegraith, 1970), except several new findings. The results are summarized below.

A. Trophozoite of *E. histolytica* in culture.

1. The trophozoites were irregular in shape. Small cytoplasmic projections were observed at portions of plasmalemma, which were speculated as origin of pseudopodia.

2. Food vacuoles varied greatly in size and usually contained ingested bacteria, starch grains, and some sorts of membraned whorl.

3. Nucleus was irregular in shape, and it contained several slightly dense round inclusions beneath the nuclear membrane.

4. Some ameba was "rounded-off", and plasmalemma was smoothly surfaced. Food vacuoles were almost emptied, and electron-dense hollow rods were radiated in rosette from a central mass of fine granules, and some were distributed in clusters irregularly in the cytoplasm. Bundles of the crystalloid aggregation were prominently observed in the cytoplasm. Nucleus was round in shape, and nuclear chromatins were densely pushed toward one corner of the periphery of the nucleus, where intensively dense irregular shaped inclusions were observed. This was considered as precystic trophozoite of *E. histolytica*.

B. Trophozoite of *E. histolytica* in intestinal mucosa.

1. The trophozoites were oval in shape and plasmalemma was relatively smooth than the former. There was no obvious differentiation of endoplasm and ectoplasm.

2. Most food vacuoles contained ingested nuclear contents of tissue cells which were digested in various stages. A considerable numbers of small empty vacuoles were also scattered at the periphery of cytoplasm. The membrane of some vacuole was thickly layered.

3. In the cytoplasm, electron-dense materials were observed in addition to fine dense granules, short filaments and rosette-like α -glycogen particles. They were grouped into four different categories; a) irregular shaped dense pigment body, b) dense granule, c) electron-dense rod, and d) electron-dense granule.

4. Nucleus was oval in shape, and patches of peripheral chromatin lined beneath the nuclear membrane. Nuclear inclusion was not observed.

質問 猪木正三 (阪大 微研)

アメーバの crystalloid 出現頻度についてお教え下さい。私達は数年前培養 *Trichomonas vaginalis* で crystalloid を見ましたが、極めて稀にしか出現しないようでした。

回答 趙 基穆 (韓国延世医大)

培養 *E. histolytica* 中 trophozoite では殆んど観察出来ませんでした。precyst 型と思われる虫体ではしばしば見られました。組織内の虫体では観察出来ませんでした。

質問 鈴木 守 (東大 医科研)

crystalloid aggregate の本態は何と考えてよいか、たとえば *Plasmodia* の crystalloid は virus などと考えられている。

回答 趙 基穆 (韓国延世医大)

Siddiqui & Rudzinska (1963, 1965) や Barker & Deutch (1958) 等の *E. invadens* の微細構造での報告中 crystalloid aggregate を観察し helical ribonucleo-protein body と同定し cytoplasmic inheritance とか protein synthesis に関係する構造だろうと述べ光学顕微鏡で見られる chromatoidal body にあたるものと報告したのがあります。*E. histolytica* では El-Hashimi & Pittman (1970) が axenic cultivation した本虫体で同様な構造を観察して居ります。私等の観察でも前述の諸報告と同様な構造だろうと考へて居ります。現在迄未だ virus だろうとは考へて居りません。

追加 猪木正三 (阪大 微研)

電顕所見から自家増殖性の cytoplasmic entity と思われますが、virus と判定するには更に詳しい研究が必要だと思います。

3 *Fine structures of Entamoeba gingivalis in culture and in oral cavity*

Kee-Mok Cho, Joung-Kang Young-Kun Deung and Chin-Thack Soh

Department of Parasitology, College of Medicine and Institute of Tropical Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea

The study was designed to observe the structural characteristics of *Entamoeba gingivalis* *in vitro* and *in vivo*, and to discuss those structures comparing with *Entamoeba histolytica*.

For *E. gingivalis* in culture, YS 210-strain was used. The strain was isolated from a gingival crevice of periodontitis patient, 38 year-old man, in March 1971 and maintained on a diphasic medium overlaid with egg-yolk fluid media (pH 7.5) associating with unidentified oral flora.

For *E. gingivalis* in oral cavity, the trophozoites were collected directly from oral

cavity of periodontal disease patients, 55 and 53 year-old men.

The sediments from cultures (48 hour-old) or scrapings containing 1ml of phosphate buffered saline (pH 7.5), were centrifuged at 500rpm and was solidified adding few drops of warm agar. They were cut into 1mm cubes. The cubes were fixed with 3% glutaraldehyde and 1% osmium tetroxide. The further steps were followed by standard techniques for electron microscopy.

The observations are summarized as follows.

A. *E. gingivalis* in culture.

1. The trophozoites were oval or irregular in shape. In oval ameba, pseudopodia, ectoplasm and endoplasm were clearly identified. In irregular shaped ameba, a big sized cytoplasmic projection was observed. Two layered plasma membrane had a lamella structure in general, but it was thickened at the portions of pseudopodia or the tip of cytoplasmic projections. Some portions of plasmalemma were invaginated, and contained concomitant bacteria or rice powders.

2. Vacuoles in the cytoplasm varied in number, size and shape, and contained ingested rice starch, bacteria or membrane whorls. The basic matrix of the cytoplasm contained widely scattered fine dense granules, short filaments, rosette-like particles and dense granules. Endoplasmic reticulum was sparse. Mitochondria and Golgi-complex was not observed.

3. The nucleus varied from oval to irregular in shape. The nuclear membrane was composed of a double membrane, and distinct nuclear pores were seldom observed. Medium sized electron-dense granules were confluently accumulated beneath the nuclear membrane.

B. *E. gingivalis* in oral cavity.

1. The trophozoites were generally irregular in shape, and a number of smaller cytoplasmic projections were observed around the cytoplasm. In some amebae, collections of extracellular vacuoles, vesicles and cellular debris were observed closely to the plasmalemma, which were resembled to the "Uroid" described by Zaman (1961).

2. Vacuoles in the cytoplasm contained ingested cellular fragments, bacteria and membrane whorls. Nuclear substances of other cells were observed in some vacuoles. Dense pigment rods were distributed throughout the cytoplasm. Some of the rods showed in group but central cluster of granules was not observed. Other structures of the cytoplasm were almost similar to the ameba in culture.

3. The nucleus was oval in outline. There was a regularly spaced pores in the nucleus envelope. Electron-dense patches of peripheral chromatin lined the inner boundary of nucleus at regular intervals. In some nucleus, dense mass of granules was observed close to the karyosome.

4 Mitomycin-C で処理した *Trypanosoma evansi* におよぼす *p*-rosaniline および ethidium bromide の効果

小野 忠相, 猪木 正三
大阪大学微生物病研究所原虫学部門

Effect of p-rostaniline and ethidium bromide on Trypanosoma evansi treated with mitomycin-C

Tadasuke Ono and Shozo Inoki

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

Trypanosoma gambiense あるいは *T. evansi* に感染したマウスに *p*-rosaniline, acriflavine, ethidium bromide などを注射すると kinetoplast を失った原虫 (AK 型原虫) が出現するが, 先に猪木らは *T. gambiense* の *p*-rosaniline 耐性の genetic transformation が mitomycin をはじめ各種の抗腫瘍性物質によって阻害されることを見出した. そこで AK 型原虫誘発能をもった薬剤と抗腫瘍性物質との関連性を調べるためにこの実験では抗腫瘍性物質として mitomycin-C を用い実験を行なった. 実験はこの物質を使って *T. evansi* を *in vivo* でくりかえして処理し clone を得る試みを行なった. これはマウスの皮下に *T. evansi* を接種した後, 腹腔内に 1 γ /g の mitomycin-C を注射する方法によって行ない, マウス継代毎に mitomycin 処理を計 10 回行なった. その後, single cell isolation を行なって clone を確立した. そして, この原虫感染マウスに *p*-rosaniline あるいは ethidium bromide を注射して AK 型原虫の出現率を調べたが, その結果, *T. evansi* のこの clone では両種薬剤のいずれによっても AK 型原虫が control, すなわち原株に比べて, 少しか誘発されなかった. 次に mitomycin 処理によって得られた *T. evansi* の clone におけるこの形質が確かに遺伝性のものであることを確かめ

るため, この clone から抽出した DNA を用い, *T. gambiense* を recipient にした genetic transformation を試みた. その結果は transformation が可能であり, control に比べると *p*-rosaniline, ethidium bromide によって AK 型原虫が少しか誘発されない transformant が得られ, この現象が DNA に関連したものであることがわかった. なお, AK 型原虫誘発能をもった *p*-rosaniline と ethidium bromide の相互の関係であるが, 両者は耐性に関係が認められず, *p*-rosaniline 耐性の原虫で *p*-rosaniline で AK 型があまり誘発されない原虫に対しても ethidium bromide は AK 型原虫の誘発が可能である. しかし, この実験において, mitomycin-C で処理した *T. evansi* の clone に対しては両者とも同じ効果を示し, AK 型原虫を少しか誘発しなかった. mitomycin は DNA 合成を阻害する薬剤であり, また AK 型原虫誘発に用いた両種薬剤は DNA と結合することが認められているが, 以上の如くこれらの薬剤の作用には何等かの関連性のあることが示唆された. なお, mitomycin 自体は AK 型原虫誘発能をもたず, また, かなり高濃度の mitomycin を原虫感染マウスに注射しても, 殆んど治癒効果を示さなかった.

5 *Trypanosoma cruzi* の kinetoplast の分裂の電子顕微鏡的観察

ワルニー スクシー, 工藤 信子, 猪木 正三

大阪大学微生物病研究所原虫学部門

Electron microscopic studies on the kinetoplast duplication in Trypanosoma cruzi

Varunee Sooksri, Nobuko Kudo and Shozo Inoki

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

鞭毛虫, トリパノソーマ科に属する *Trypanosoma cruzi* の鞭毛基始部にある kinetoplast は, DNA を含み自己増殖性で, 核や細胞質の分裂に先立って分裂することが知られている。

近年, kinetoplast の分裂に関して 2, 3 の報告がなされ, 増殖期の kinetoplast は basal body (blepharoplast) に対して垂直方向に約 2 倍大に伸長し, その中央部でちぎり切れることにより分裂するとされ, いまなおその全体像をつかむにいたっていない。

私達は kinetoplast の分裂像を観察し, その考察を行い新発見を得た。

材料はアメリカの NIH より分与された *Trypanosoma cruzi* で, 家兎血液を含む二層培地 (Weinman 培地) で培養を行なった。

グルタルアルデヒドおよびオスミウムで二重固定を行ない, エタノール脱水後エポキシ樹脂で包埋し, LKB ultra-microtome で section し, ウラニールおよび硝酸鉛で染色をほどこしたのち, 日立 B-11 電子顕微鏡で観察した。

培養中の *Trypanosoma cruzi* は crithidia 型で, その kinetoplast は basal body (blepharoplast) に対して垂直に位置して存在し, kinetoplast 膜に包まれた kinetodonucleus は DNA を含み, コイルした繊維構造からなっている。

分裂の初期の kinetoplast では, kinetodonucleus の中央部で, basal body に対して反対の方向に向って伸長した kinetodonucleus の繊維が観察される。これは kinetodonucleus の複製の開始を示し, 長軸方向両端に向って漸次複製を完了する。このようにして複製を完了した

kinetodonuclei は, kinetodonucleus の短軸方向中央部に kinetodonucleus の繊維を二分する分離帯を持った二層構造の kinetodonucleus として観察される。ついで, 2 つの daughter kinetodonuclei は分離帯の中央部と両端で離れ始め, 2 つの接着点を持った “two-knotted loop” 期を経て, さらに分離は進行して一方の接着点のみを残す。この時, 2 つの daughter kinetodonuclei の一方はこの接着点を軸にして扇を開くように離れ, 他方の daughter kinetodonucleus および, 新成 basal body に対して垂直に位置すると思われる。やがて, 残った接着点も分離して, 2 つの daughter kinetodonuclei はそれぞれ kinetoplast 膜に包まれて, kinetoplast の分裂が完了する。

別に, kinetodonucleus の複製において, 3 重になった daughter kinetodonuclei 像や, 1 つの虫体内で分裂中の 2 つの daughter kinetodonucleus が観察された。これらの像より, kinetoplast の分裂は自律性を持ち, 必ずしも虫体の分裂に同調しないことがわかった。

質問 鈴木 守 (東大 医科研)

1) mitochondria と kinetoplast の分裂過程との関係が何かつかめたか。

2) kinetoplast が三層構造になっているという事実の解釈を伺いたい。

回答 工藤信子 (阪大 微研)

1) 今回は kinetodonucleus に限り, data をまとめましたので, 他の organella との関係および mitochondria すなわち kinetoplast 膜との関係についてはよくわかりませんでした。

2) 多層 daughter kinetodonucleus は全て三層であった

ことと、最後のスライドでみられましたように分裂を終った daughter kinetoplast がそれぞれ次の分裂を開始している由ですがその際、一方の分裂像は、完全な 2 unit を示していますが、他方は replicate 中であることの 2 つの点から考えて、三層であると考えました。

質問 竹内 勤 (慶大 医)

- (1) kinetonucleus は deoxyribonucleoprotein か否か?
- (2) histone の存在は?
- (3) kinetonucleus の replication の regulation は何

によっているか

回答 工藤信子 (阪大 微研)

① deoxyribonucleoprotein よりなります。また当教室の小関らにより RNA も含まれていることがわかっています。

② histone が kinetoplast に存在するかどうかしらべていません。

③ わかりません。今後研究をしたいと思っています。

6 *Trypanosoma cruzi* の防禦抗原に関する研究 (その II)

金 田 良 雅

慶応義塾大学医学部寄生虫学教室

Studies on the protective antigen of Trypanosoma cruzi (II)

Yoshimasa Kaneda

Department of Parasitology, Keio University School of Medicine, Tokyo

微生物ならびに原虫類の感染を防禦する上に生菌または生虫免疫が非常にすぐれていることは多くの研究者によって報告されている。*Trypanosoma cruzi* においてもあらかじめ弱毒株を接種することにより宿主は次の強毒株の攻撃に対してすぐれた防禦力を獲得する (Kagan and Norman, 1961)。今回の実験では培養された *Trypanosoma cruzi* で防禦力を獲得できるか、また接種する虫体数と防禦力との関係を明らかにし、さらに虫体を破碎し遠心分画法により微細単位に分けた各分画物による防禦力獲得の有無を検討した。

使用した *Trypanosoma cruzi* は LIT medium で培養した Tulahuen 株であり、攻撃には 8~10 日間隔でマウス血液中にうえつがれた同じ株の血液型虫体を使用した。Tulahuen 株はマウスに対して非常に毒性の強い株である。LIT medium 中で 1 週間培養した虫体を遠心して集め、PBS (pH 7.2) で 2 回洗滌後 30ml の PBS にて虫体浮遊液を作製した。この浮遊液を 6 段階に 10 倍希釈し各希釈濃度の虫体浮遊液をマウス腹腔へ 1ml づつ接種した。接種後 2, 3, 4 および 5 週目に致死量の血液型虫体で攻撃をし、1 ヶ月後の死亡率および生存日数を観察した。接種後攻撃までの期間が 2 週間の場合にはいずれの濃度を接種しても防禦力をもったマウスが認められた

が、特に接種虫体数が 37×10^4 の場合に強い防禦力が認められた。攻撃までの期間が 3, 4 および 5 週の場合にも接種量にかかわらず感染死防禦力をもったマウスがわずかに認められたが、特に強い防禦力を認められたのは接種量が 37×10^5 の場合であった。各希釈虫体浮遊液を接種したマウスの血液を接種後 10 日目に NNN 培地で培養し感染の有無を調べた。虫体数の一番少ない 37×10 の接種量るとき全てのマウスの血液中に虫体が認められず感染が成立していないと考えられた。接種量の増加にともない虫体 positive のマウスの割合が増加し 37×10^4 以上では全てのマウスに虫体が検出された。マウスの血液中に虫体を認めない接種量すなわち接種虫体数が 37×10 の場合でも 2 週目以後の攻撃に対して感染死を防禦するマウスがわずかに認められた。したがって感染死より防禦する力はかならずしも血液中に虫体が認められるような感染を必要としないように思われる。

つぎに培養虫体を音波破碎し、 $3,500g \times 20 \text{ min}$ 、 $12,000g \times 20 \text{ min}$ 、 $115,000g \times 90 \text{ min}$ の遠心を行なった。各沈渣に 10ml の PBS を加えて浮遊しマウス 1 匹当たり 1 ml づつ腹腔へ接種した。最終上清も 1 ml づつマウス腹腔へ接種した。接種後 3 週目に致死量の Tulahuen 株の血液型虫体によってマウス腹腔より攻撃した。対照と

して無処置のマウスを用いた。対照マウスは攻撃後2週以内に全て死亡した。115,000g×90minの沈渣を接種したマウスでは1ヶ月以上生きのびたものがあった。このことは microsome 分画物にも感染死より防禦する抗原性があると考えられる。また最終上清を接種されたマウスの平均生存日数は対照と比較してわずかに長く、延命効果を最終上清がもつのではないと思われる。接種から攻撃までの期間が2週間の場合は3週の場合と同様の結果が得られたが、12,000g×20minの沈渣に強い防禦抗原性が認められた。また、接種する虫体重量を増量してもあまり大きな変化は認められず先の実験と同様の結果が得られた。

一方、*Trypanosoma cruzi* の life cycle では4種の異なる型の虫体が存在し、LIT medium で培養した虫体は主として crithidia 型虫体であり、1%前後の虫体が metacyclic trypanosoma である。そこで型の違いによる防禦抗原性を次に検討した。培養液を modified TPH medium を用いて4日おきに16代培養を続ける虫体の大部分が leishmania 型と leptomonas 型に変化する。これを集めてマウス腹腔へ接種し、2または4週後に血液型虫体で攻撃を行なった。その結果非常に強い防禦力をマウスは獲得した。しかしながら、培養虫体を接種したマウスは10日目に血液を検査すると虫体が認められ、感染が成立していた。このことは leishmania 型 或いは leptomonas 型虫体によっても感染が成立すると考えられる。

以上の実験から、生虫免疫したマウス特に感染の成立したマウスは強い防禦力が認められることが再確認された。しかしながら、破砕虫体による免疫に防禦力の認められることは *Trypanosoma cruzi* の防禦抗原を研究していく上に興味深いことである。

質問 岡 好万 (徳島大 養護教諭養成所)

① 115,000g-sediment で免疫する際、adjuvant の使用を検討されたか。

② 免疫抗原として用いた 115,000g-sediment の化学的組成特に RNA, protein および lipid の測定結果をもっておられますか。

③ 115,000g-sediment 接種による皮内反応の pattern を検討されておられますか。

④ *Trypanosoma cruzi* の細胞構成物質で免疫する場合、第一に原虫の大量収獲が必要であります。LIT medium は、この目的に適しているか、どの程度収量が得られるのかお知らせ下さい。

回答 金田良雅 (慶大 医)

① Freund の complete adjuvant を使用したマウスは攻撃前に死亡したりして成功しなかった。

② 化学的組成はまだ調べておりません。目下実験中でありますのでいずれの機会に発表できると思います。

③ 皮内反応は検討しておりません。

④ LIT medium は Dr. R.G. Yaeger (Tulane Univ.) の考案された medium ですが、虫体を大量に必要とする場合には適していると思います。虫体の収量は initial inoculum が 10^6 /ml 位ですと、培養5日目に LIT medium 1l より湿重量で2~3g位の虫体を得られます。

質問 高田季久 (大阪市大 医)

培地を変えて殆んどが leishmania 型および leptomonas 型となったもので、マウスが100% infection したとの事ですが、metacyclic tryp 型が全く無かったか否かの確認が必要と思いますが。

回答 金田良雅 (慶大 医)

今回使用した培地を用いると100% leishmania 型となるという報告があります。metacyclic trypanosoma 型がなくとも感染が成立する場合があると考えてもよいと思います。

7 菌類遊走子の原生動物的諸性質

宮田 善雄

京都府立大学農学部植物病理学研究室

Protozoa-like morphology and behavior of fungal zoospores

Yoshio Miyata

Laboratory of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kyoto Prefectural University, Kyoto

演者は蔬菜類の重要病原糸状菌の一種である *Phytophthora capsici* の遊走子とその遊泳行動について研究を進めてゆくうちに、それらが原生動物と非常によく似た性質を有することを知った。すなわち、本菌遊走子は細胞膜をもたず、ただ一層の原形質膜のみによって包まれた単細胞で、いわゆる 9 + 2 構造から成る 2 本の鞭毛を有しており、かつ、細胞中に 1 個の収縮胞に相当すると思われる胞のうがあり、その活動も原生動物の *Tetrahymena* や *Amoeba* のそれに酷似していた。

一方、行動においても、原生動物や精虫が示すと同様の各種の走性行動が認められた。すなわち、植物汁液など各種物質溶液を充填したガラス細管々口への走性（走化性と考えられている）、脱イオン水中においては陰極に対して、また、有機酸溶液中においては陽極に対して示す走電性、また、脱イオン水の小さな流れに対して示す走流性などの諸行動であり、本菌遊走子が植物根部に向かって泳ぎ集まる現象はこれら各種走性の組合わされたものと解することができる。

さらに、遊走子が遊走子嚢中で形成されるためには栄養的に sterol 類とくに β -sitosterol や stigmasterol が必須で *Paramecium* や *Tetrahymena* の栄養要求性と多くの共通点が認められた。また、遊走子の遊泳には、そのエネルギー源として脂質とくに phosphatidyl ethanolamine や phosphatidyl choline のようなりん脂質が用いられているものと思われ、これは原生動物ではないが精虫の場合と同様であることが知られた。さらにまたシスト状態となった遊走子は間もなく発芽管を出す、そ

のときの原形質の動きをみると細胞の量的増大はみられず、*Amoeba* のように、原形質の位置的移動であると考えられ、ただこの場合は細胞の周囲に細胞膜を合成して自ら空間を限定しつつ進行している点が異なるにすぎないとも解釈することができる。

以上、いくつかの例に示すように、菌類遊走子とその行動は、動物界に属する原生動物に共通するところが多い。しかしながら、菌類は古くから植物界に属するものとする考え方が圧倒的であり、そのことは、Engler の植物分類法や Strasburger の植物学教科書に負うところが大きかったと思われるが、それというのも、藻類がクロロフィルを失なって、すなわち、退化して菌類が生じたとする説が非常に説得力があったためであると考えられる。しかし一方には、それに異論を唱える者もあり、例えば、Haeckel の Protista の提案はそのひとつであろう。最近では動物界植物界とは別に原生動物界を設けようとする動きもあるらしい。もっとも、菌類の起源が藻類にあるか原生動物界にあるか等々は分類学上の重要課題として今後に俟つべきものであり、勿論演者の意図するところでもない。ただ菌類遊走子が原生動物や精虫と多くの共通した性質を有することは、今後、遊走子を単に遊走子としてのみならず、広く鞭毛遊泳性生物としての認識に立って研究を進めてゆくべきことを示しているものと思う。今回は 8 mm 映画を用いて本菌遊走子とその行動の概要を報告させて頂いた。今後とも、当領域におけるこの種の研究者の方々からの御批判と御示唆を強く希望する。

8 移植活性汚泥原生動物群集の挙動について

盛下 勇, 今鷹 環子

荏原インフィルコ株式会社研究部

Studies on succession of protozoa-populations in transplanting activated sludge

Isamu Morishita and Yōko Imataka

Ebara-Inflico. Co. Ltd- R & D section, Biological Laboratory, Tokyo

汚水廃水などを処理する活性汚泥処理施設において施設の運転開始時に他の処理施設から活性汚泥を移植することがある。活性汚泥は一種の生物群集でありしたがって移植とはある安定した環境に有る群集を異なった環境に人為的に変えられることでもある。このような過程に対して群集論的立場、あるいはその遷移機構的立場の動態把握は十分行なわれてはいない。演者らは水処理生物学的立場からの問題解決の必要性と群集挙動の実態把握のための室内的規模における研究と実施施設についての調査を継続して来た。すでに第3回大会において予報的意味において報告したが今回は原水中の基質成分(特に有機物)による群集挙動の差異について報告する。使用した原水の有機物をグルコース, 澱粉, グルタミン酸ソーダの3種に限定し, 他の成分および量を一定とした原水を作成し, それにすでに安定した群集構成をもつ都市下水性活性汚泥を移植して連続装置をもちいて群集の挙動を追跡検討した。また一方においてペプトン肉エキスを主成分とする人工下水を作成し, それぞれ異なった基質から生成された活性汚泥を移植し同様な検討を加えた。なお群集挙動を追跡検討については群集を構成する属種中で優占的に出現するものを指標とする優占種属指標(DP-index)および森下(1965)の群集間類似性を検討するためのC_λ値を使用した。その結果を要約すると次の通りである。

(1) 都市下水性活性汚泥をグルコース, 澱粉, グルタミン酸ソーダを有機物源とする原水(人工下水)に移植した場合, 上記の2種の値の変化は群集挙動を明らかにしめし, 移植の群集構成とはそれぞれ異なった構成となって安定する。また基質の相違によって安定にいたるまでの過程にそれぞれ特有な型が存在する。

(2) ペプトン肉エキス人工下水に対し基質成分をそれぞれ異にする原水から生成された活性汚泥を移植した場合, 上記と同様な傾向が認められ, 移植活性汚泥の成分と人工原水の成分が類似しているような場合には著しい変動がなく, またその逆の場合には著しい変動が認められた。

(3) これらの結果から群集の挙動を把握する手法としてDP-indexおよびC_λ値の適用が有効であること, またこれらの数値解析によって移植後から群集構成の安定にいたる間の挙動型には(i): 優占種が完全に保持されたまま安定する型。(ii): 優占種が不完全ながら保持されて安定する型。(iii): 優占種がその過程において交替あるいは交叉する型。(iv): 優占種がまったく変わったものとなる型。が存在するものと推定される。

(4) 水処理的にこれらの挙動との関係をみた場合, 優占種が完全に保持されたまま安定する場合には水質的にも, また活性汚泥の物理的性状も著しく変化しないが, 他の場合には多少の変化があり不安定となる。なお優占種がまったく変化してしまう型の場合にはその変化は激しくきわめて不安定である。なお群集が生物学的に安定する過程を大別すると「予備遷移期」「遷移中間期」「遷移完了期」の3過程が存在し, 完全に終了するまでの時間は移植系—被移植系間の類縁性によってかなり異なるが最長の場合, 60日前後を必要とすることもある。

(5) 群集挙動—移植後の遷移—の機構については複合混在群集であるとともに「基質—細菌—原生動物」または「基質—原生動物」の食物連鎖関係において複雑な要因が介在するためにきわめて解明が困難であるがその主因はあくまで「基質—細菌」が第一要因であると考えられる。

(6) これらの挙動が明らかとなったことは水処理学的には施設の機能安定を、どのような基準において行なうかという点に1つの目安となるとともに、施設の維持管理をより正確にしえる可能性をも意味するものと考えられる。

質問 岡 好万(徳島大 養護教諭養成所)

活性汚泥を、基質を異にする各種の下水に添加され、検討されていますが、この場合、下水の酸素条件は一定

に規定されていますか。

回答 盛下 勇(荏原インフィルコKK)

実験装置は原水として使用した人工下水成分はすべて一定としてあります。酸素条件については吹込空気量を曝気部対しまして 2l/hr の割合で吹込んでおります。ついでに条件を説明しますと 原水 pH=7.0 BOD Loading は 平均 0.27 kg-BOD/MLSS-kg/日 及び 0.54kg-BOD/曝気槽-m³/日 水温25.0±1℃です。

9 太陽虫類の鱗片・剛棘の電子顕微鏡的構造

高橋 永治

神戸大学理学部生物学科

Electron microscopical structure of skeletal elements in Heliozoan Organisms

Eiji Takahashi

Department of Biology, Faculty of Science, Kobe University, Kobe

太陽虫類において、細胞をつつむ鱗片、棘、軸糸は、種の特有の形質を示すものとして分類学上古くから注目されて来た。1950年に入り、電子顕微鏡が利用されはじめ、それらの微細構造が正確に認められるようになって来た。

淡水域のプランクトン採集品の中から多数の細胞、鱗片、棘が見出され、21種類に分けることができた。*Acanthocystis*, *Raphidocystis*, *Raphidiophrys*, *Heterophrys*, に属する7種の鱗片、棘の電子顕微鏡的微細構造について報告する。生きた個体は光学顕微鏡観察のち、毛細管を用いて支持膜上に移し、乾燥後、電子顕微鏡観察に用いられた。

(1) *Acanthocystis* 属, *A. chaitophora* は長短2種の棘と楕円形がややマユ形の鱗片を持つ。棘は基部に小円板があり、軸は真直・円筒状で、先端は2叉し広く開いている。円板の径は約2μ、長棘は長さ22μ、太さ0.65μ内外。短棘長15μ以下、太さ0.4μと細い先端2刺の先はさらに2小歯で終り、2刺の基部には鋸歯縁のある膜が発達する。鱗片は厚く、平滑である。大きさは4.5-5μ×2.3-2.8μ。Sp. no. 1 は前種と同様に長短2種の棘とマユ形の鱗片をもつ。棘の先端は3叉し、各先端歯の両側に2~3個の微小歯がある。鱗片はマユ形で、縁辺

に沿って1例の放射状線裂孔が並び、縁は厚くなっている。蔵王盃湖産。Sp. no. 2 棘は扇形で、縦線の模様がある基部をもち、中空・円筒状の軸の先端は不整な切口で終る。鱗片は卵形で、中央に太い縦線があり、縁は厚い。広く分布している。Sp. no. 3 は前3種と異なる棘をもつ。広く開いたV字形の円柱状基部の中心から、中空で軽く彎曲する先細で先が尖る軸がのび、基部から棘の長さの1/2~1/3の部分には縁辺が波状の翼状構造が、軸の両側に発達する。この部分の断面はV字形となる。鱗片は両端がやや尖る楕円形で、中央に縦に走る線があり、その両側に1列の線状裂孔がある。大きさは3.5μ×1.8μ。*A. erinaceoides* PETERSEN & HANSEN とよく似るが、鱗片と棘の基部の構造に異なる点がある。鶴岡市公園池産。

(2). *Raphidocystis* sp. の鱗片は細胞を厚くおおい、さらに axopodia の先端部にまで達する。形は配置する位置で変わり、細胞周辺では、巾が広い楕円形であるが、遠ざかるにつれて巾が狭くなり菱形から針状に近くなり、非相称となる。巾の広い高くなった中空の縁辺とそれに囲まれた細かい網状構造のある平らな中央部があり、中央には縦に走る中心線がみられる。一方の面は、平らであり、縁は一方側のみ高まることがレプリカに

より判った。大きさは9—11 μ の長さ、巾は1.3 μ から0.7 μ と変化する。棘はない。平地から海拔1900mの山地の池まで、そして富栄養、腐植栄養の池沼の他に無機酸性的な裏磐梯青沼にと、広く分布する。

(3) *Raphidiophris* sp. 前種と同様に鱗片のみをもつ。鱗片は主として細胞の周囲に集まり、形の変化は殆どない。巾の広い楕円形で、肋骨状線構造が規則的に発達する。それぞれは中央部で連結することなく、求心的に曲る。側面観は一方側がふくらみ、舟状である。大きさは9—10 μ ×3.5—5.5 μ で、肋骨状線は、 μ 当り6本を数える。長さ2 μ 、巾0.7 μ の小形の鱗片が、少数ではあるが混在していた。平地の池から高山湿原の池にみられる。

(4) *Heterophris myriopodia* (?) 放射状に走る長い軸糸と細胞の周囲を密におおう長さ約12 μ 、太さ0.15 μ の両端が尖る細い針状棘をもつ。棘は3稜があり、断面は3

辺が凹んだ3角形のものである。平地・山地の富栄養の池にみられる。出現数は多い。

光学顕微鏡下において、棘は比較的観察し易いが、鱗片の多くは見落され易い。そしてこれらの大まかな輪郭はわかるが、構造の特徴は電子顕微鏡を用いることによってのみ把握されることができた。*Acanthocystis* 属において、棘の先端や、鱗片の線状裂孔、イボ構造の有無のような点で、類似の種の間にも明らかな相異が認められる。黄色鞭毛虫(藻)の有被殻の種における鱗片、剛刺の電子顕微鏡による観察像が同定に不可欠となったように、太陽虫類の分類上、鱗片・棘の構造も重要な形質である。また、黄色鞭毛虫(藻)に属するシタラ科の種の珪質鱗片、剛刺と間違えの類似を示すものが、太陽虫類の鱗片や棘にみられることは、系統学上興味深いことである。

10 羊におけるルーメンプロトゾアの体表構造について

今井 壯一

東京学芸大学生物学教室

角田 清

農林省家畜衛生試験場

Studies on the surface structures of rumen protozoa in sheep

Soichi Imai

Department of Biology, Tokyo Gakuji University, Tokyo

Kiyoshi Tsunoda

National Institute of Animal Health, Tokyo

反すう動物のルーメン内に棲息する繊毛虫類の分類、形態に関する研究は、古くから種々の研究者によってなされているが、詳細を論じるまでには至っていない。筆者らはこれらの繊毛虫類の分類学的応用を目的として、走査電子顕微鏡を用いて体表構造を観察した結果、ルーメン繊毛虫の体表に縞状構造が認められ、そのパターンが従来記載されている種類により独特なものであることが明らかとなり、第73回日本獣医学会で報告した。

今回、さらに新たに発見された種についても検索し、本構造がルーメン繊毛虫の分類学的研究にとって極めて有用であることを確認した。

材料として、フィスチュラを装着した羊からルーメン内容液を採取し、2重ガーゼでろ過した後、容器をパラフィルムで覆い、37°Cで1時間 incubate した。この際原虫は活発に運動し、容器の底部に集まった。次に10%フォルマリンを沸とう直前まで熱した後、incubate したルーメン内容液をピペットですくいあげ、この中に滴下して、繊毛を出した状態で原虫を固定した。次に、これを1,500rpm 3分間遠沈し、さらに沈渣を30%ショ糖液で、1,000rpm 3分間再遠沈し、0.8%食塩水で3回洗浄した結果、ほぼ純粋に原虫のみを回収することができた。得られた試料を5%グルタルアルデヒドで3時

間再固定し、0.1M カコシル酸 buffer で10分ずつ、2回洗浄した後、30、50、70、80、90、95、100% アルコール2回を各々15分ずつ、さらに無水アセトン10分ずつ、3回通して脱水した。脱水試料は、界面活性剤をぬったシャーレ中に滴下し、常温で乾燥させた後、試料台にふりかけ、カーボンおよび金蒸着をほどこして、日本電子 JSM-U3 型、JSM-S1 型および日立の HSM-2 型走査電子顕微鏡で観察をおこなった。

その結果、*Isotricha* では体表全体に均一な構造をもつ繊毛が観察され、繊毛をとり去ったあとの体表には、規則正しい縞状構造の間に、一列に粒状構造が分布しているのがみられ、各々の繊毛はこの粒状構造から発しているのが認められた。また、*I. intestinalis* では、体側後部に直径 20μ の cytostome が認められ、繊毛が中に入りこんでいるのが観察された。一方、*Ophryoscolecidae* では、体表に縞状構造がみられ、そのパターンは従来記載されている種と密接な関連をもつことが明らかとなったが、*E. caudatum* では、パターンに2種類の type がみられた。本種の分類については現在までも異論が多いが、

今回の結果からも、再考の必要があるものと思われる。これらの構造のほか、さらに cytostome 部に存在する inner adoral lip、および *Diplodiniinae* においては inner ventral lip と operculum にも明瞭なしわ状構造が観察された。また、*Diploplastron affine* および *Polyplastron multivesiculatum* の体側部に小孔が認められ、前者では小孔のまわりに馬てい型の構造が、後者ではリング状構造がとりまいているのが観察された。これらの小孔は、光学顕微鏡でみられる収縮胞の位置と一致した。

以上の結果から、検査したルーメン繊毛虫の体表に存在する構造がほぼ明らかとなり、特に *Ophryoscolecidae* においては、体表に存在する縞状構造が種によって特有のパターンをもつことから、本構造がルーメン繊毛虫の分類に応用できうるものであることが明らかになった。本構造を分類学的に応用するにあたっては、さらに多くの種間および個体間での検討が必要であると思われるが、特に *E. caudatum* にみられるように、未だ混乱状態にある *Entodinium* 属内の分類に対して有力な手段となるものと考えられる。

11 クラミドモナス hfl-mutants とその成育特性

棚瀬 純男, 佐藤 忠文, 木谷 隆子
岡山大学理学部生物学教室

On the Chlamydomonas hfl-mutants and their growth

Sumio Tanase, Chubun Sato and Takako Kitani

Department of Biology, Faculty of Science, Okayama University, Okayama

単細胞緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* を紫外線またはニトロソグアニジンで処理し、高蛍光突然変異体 (hfl-mutant) を得た。hfl-mutant の分離には Bennoun and Levine (1967) の方法を若干変更して用いた。高圧水銀灯を光源とし、飽和硫酸銅溶液を通した $650\text{m}\mu$ 以下の光で各コロニーを励起した。その反射光を東芝 VR 62 フィルターで $620\text{m}\mu$ 以下をカットし、肉眼もしくは infrared film に感光させ、hfl-mutant を識別した。このように hfl-mutant は蛍光強度の点から wild-type と区別される。hfl-mutant の蛍光強度の増加は、光合成電子伝達系が部分的にブロックされていることに起因している。

紫外線照射後試料を二分し、一方は24時間 dark 条件に静置の後 light 条件に移し、他方は処理後ただちに連続光の下で培養を続けた。両条件共に照射線量の増加に従い細胞の生存率の直線的低下が見られた。またいずれの線量においても、dark 条件より light 条件での培養の方が生存率は常に高い。これはニトロソグアニジン処理の場合についてもいえる。hfl-mutant の出現率は高頻度であり、紫外線照射で $1\sim 8 \times 10^{-3}$ 、ニトロソグアニジン処理で 1×10^{-3} に達した。また dark 条件に比べての light 条件における hfl-mutant の低い出現は、hfl 表現を引き起こす障害が光回復の対象となっており、障害部位が DNA であることを示唆している。

光合成能の低下が知られているので, hfl-mutant の性質を成育の面から追跡した. 培地, 培養条件は Sagar and Granick (1953) に従った. *Chlamydomonas* は無機条件下で phototrophic に, 炭素源として sodium acetate を加えた有機条件下で mixotrophic または heterotrophic に培養可能である. mixotroph と phototroph 条件で, hfl-9, hfl-37 の成育特性を比較した. mixotrophic 培養では wild-type と hfl-mutant の間に成育の差は見られない. phototrophic 培養では wild-type と hfl-mutant の間で成育の差は明らかである. すなわち inoculation 後, wild-type が約72時間で 2×10^6 cells/ml の平衡期に達するのに対して, hfl-mutant は48時間で $3 \sim 4 \times 10^6$ cells/ml の平衡期に達し最終細胞濃度も低くとどまっている. 上記の差を示す原因をより明確にする目的で次の実験を行なった. phototroph でそれぞれ異なる成育速度を示しやがて平衡期に入った wild-type と hfl-9 の培養に, inoculation 後50時間で 1g/l の sodium acetate を添加しひき続いて mixotrophic な培養を行なった. その結果 acetate 添加10時間において wild-type と hfl-9 間の成育速度の差は消失した. これらのことから, hfl-mutant における早い平衡期への移行と低い最終細胞濃度を特徴づける一因が, 炭素源

としての acetate にあることが明らかになった.

さらに wild-type, hfl-9, hfl-37 各株について3種の培養条件, acetate 濃度 1g/l, 0.1g/l の mixotrophic 培養と acetate 無添加 phototrophic 培養, における成育を比較した. wild-type では上記培養条件の違いによる成育速度の差異は僅少であった. hfl-mutant は 1g/l acetate の mixotrophic 培養では wild-type とほぼ同じ成育速度であったのに対して, 0.1g/l acetate 培養条件および phototrophic 培養では48時間で平衡期に入った. またその際の最終細胞濃度は phototrophic 培養で $3 \sim 4 \times 10^6$ cells/ml であるのに対し, 0.1g/l acetate の mixotrophic 培養では 1×10^6 cells/ml であった. wild-type に比して hfl-mutant の成育が acetate 濃度に強く規定されており, hfl-mutant は acetate 要求性であることが示された.

質問 鈴木 守 (東大 医科研)

nitrosoguanidine および紫外線照射によって得た mutants は back mutation をおこさなかったか.

回答 棚橋純男 (岡山大 理)

mutant を分離後, 約百世代たっているがまだ back mutation は起っていない.

12 クラミドモナス細胞抽出蛋白の免疫電気泳動的分析

佐藤忠文, 橋本秀子, 中野茂樹
岡山大学理学部生物学教室

Immuno-electrophoretic analysis of Chlamydomonas antigens

Chubun Sato, Hideko Hashimoto and Shigeki Nakano

Department of Biology, Faculty of Science, Okayama University, Okayama

Chlamydomonas reinhardtii は遺伝学的によく研究が進んでいる材料の1つであり, 数多くの突然変異体が報告されている. それら既知の突然変異株や最近我々の研究室で分離した光合成能に欠損をもつ一連の変異株 (hfl-mutant) を用いて抗原分析を行ない, 変異を抗原のレベルで検知しようと試みた. *Chlamydomonas* は比較的簡単な組成の培地で培養が可能であり, 培地中に全く抗原物質を含まないことも免疫化学的分析に対して有利である.

Chlamydomonas より抽出した抗原に対して数種の抗血清を得た. 抗原は大型フラスコ(3 L)中で通気, 振とうにより mixotrophic に培養した細胞から調製した. $1 \sim 2 \times 10^7$ cells/ml に達した培養からの細胞を sonication により破壊し, 遠心 40,000 rpm の上清を分離した. 免疫感作は家兎に対して行ない, adjuvant 法および booster により1回当たり2~4 ml, 数回繰りかえし筋肉注射を施した. 上記の方法によって得られた抗血清は *Chlamydomonas* 抗原を8~14組成に分画可能である. 免

疫電気泳動法には野生株の抗原を14組成に分画しうる抗血清を一貫して使用した。形成された沈降線は α 域7線、 β 域4線、 γ 域3線であった。

突然変異株を供用して抗原組成を比較した結果、大部分の株は野生型と異なる泳動パターンを示した。パターンの差異は主として免疫沈降線の欠失という形で表われていた。例を挙げれば、野生型の有する抗原組成のうち第3、第7、第9 line を欠くもの、あるいは第5、第13 line を欠くものなどである。泳動パターンは株固有であるが、これまでのところ調査した以下の遺伝的マーカーと抗原組成の欠失との特異的な対応関係は認められない。供用した株の遺伝的形質は、交配型、streptomycin耐性、methionin sulfoxin耐性、actidion耐性、 Y_1 である。

光合成能に低下がみられる hfl-mutant 約30株についての抗原分析を行なった。hfl-mutant は泳動パターンの差異にもとづいて、野生型と同一のパターンを示すグループおよび野生型の沈降線のうちの第2 line を欠くグループ、第3 line を欠くグループの計3グループに分類される。hfl-mutant は蛍光レベルの増加をもって野生型から分離されたのであるが、上述の事実は hfl 表現に関与する変異の部位が数個所存在しており、そのうちのいずれか1個所に変異が生ずるならばすべて同一の hfl 表現が導かれることを示唆している。その仮定は hfl-mutant の出現頻度の 10^{-3} のオーダーという高さからも支持される。

野生型と異なる泳動パターンを示す hfl-9(交配型+)について野生型(交配型-)との組み合わせによる交配実験

を行なった。その結果、同一の zygote に由来する娘コロニー中に野生型および hfl 型の出現が認められた。しかしながら、その分離は2:2の典型的な Mendelian 分離比から偏っている。

質問 稲葉文枝(奈良女子大 理)

2:2の分離でないといわれたがどうなるのでしょうか。

回答 佐藤忠文(岡山大 理)

未だサンプルが少くはつきりとは言えませんが、娘コロニー中に野生型と hfl 型の両型が分離しますが典型的な2:2分離ではありません。

質問 鈴木 守(東大 医科研)

1) たとえばトキソプラズマの HA 抗原を得る場合20 KC 5分間の超音波処理によっては抗原性はやや落ちると思われるデータがある。この場合5分間より短時間の処理を試み、比較されたか。

2) トリパノソーマ、マラリア原虫などでは同一の strain でも genera が代ると違った抗原性を示し得る。この場合同一の strain の抗原性を代をおいてしらべられたか。

回答 佐藤忠文(岡山大 理)

1) 破壊の程度と比較しての抗原性の変化はみていない。20KC、5分間でおお全細胞の破壊は困難であり、この条件で intact な細胞を多く含んでいる。

2) 微弱な画分にはそれが表われている可能性がある。ここで基準の比較にした抗原組成は株特異なものであって、生理的条件の変化に対応した抗原性の変化はみられない。

13 *Blepharisma intermedium* の接合過程における核現象の電顕的観察

稲葉文枝, 三宅克子

奈良女子大学理学部動物学教室

Electron microscopy of the nuclear events during conjugation in Blepharisma intermedium

Katsuko Miyake and Fumie Inaba

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

繊毛虫の異毛目に属する *Blepharisma intermedium* の野生型系と突然変異型の albino 系を接合させ、接合過

程における核の変化、特に大核原基の分化発達を、電顕的に観察した。

(1) 栄養期の大核は、虫体の長軸方向に伸びた細長い紐状で、2層構造の核膜に包まれ、膜孔が密に配列している。内部は、径 0.1μ 位の短い紐状の断面を示すクロモネマが全体に均一に分布し、その間に径 0.5μ 内外の仁が散在している。それらの間は、径約 $20m\mu$ の細らせん状の糸で満たされている。小核は大核に接近して存し、径約 $1.5\times 2\mu$ で大核と同様の核膜で囲まれ、内部には太さ $50m\mu$ 位の電子密度の高いクロモネマが密に塊まっている。

(2) 接合開始後10時間以内に、大核は中央に向かって折れ曲がる。この時期に大核のクロモネマ間の隙間は、やや増大して来る。小核は大核から離れるが、この時期の小核には、内部構造の異なる2種類が識別される。何れも径 $5\sim 6\mu$ で、栄養期に比べ膨張しているが、一方は全体に電子密度が高く、太さ 0.2μ 位のクロモネマが核全体を満たしており、以後、退化するものである。他方は電子密度の極めて低い基質の中に、径 0.1μ 位の電子密度の高いクロモネマが散在しており、以後、分裂期に入るものである。

(3) 10~18時間には、接合対に細胞質連絡が生じ、その付近に径 $3\sim 4\mu$ の小核が見られる。その内部には太さ 0.2μ 位の短い紐状のクロモネマが散在している。大核は更に折れ曲がってV字形から球形となり、内部のクロモネマ間の部分が一層増大する。この時期には、小核の分裂像が屢々見られる。

(4) 18~24時間になると、大核原基が現われ始める。最も早い時期の原基は、径 5μ 位で、太さ 0.1μ 位の短い紐状のクロモネマが核全体に分散しているが、前時期でみられた小核に比べ、クロモネマ数が多くなっているのが特徴である。この数がさらに増し、次には原基の体積がやや膨張し、 $5\times 7\mu$ 位となる。この頃、内部には太さ 0.2μ 位のクロモネマが分散し、それには長軸に平行の、少くとも4本のらせん状の糸がみられ、内分裂を暗示している。処々に径 $0.3\sim 0.5\mu$ 位の電子密度の極めて高い塊まりが見られ、この塊まりとクロモネマとは、太さ $20m\mu$ の糸で連なっている。大核原基は大型と小型に

分化するが、内部構造は全く変わらない。

(5) 24~30時間には、旧大核は収縮して球形となり、内部のクロモネマの間がさらに拡大する。大核原基は、径 $12\times 18\mu$ とかなり膨張する。内部は、前時期にみられた太いクロモネマが解けて、大部分は $20m\mu$ の細い糸となり核全体を満たし、太さ約 $80m\mu$ の部分がわずかに見られる。この時期にも、処々に電子密度の高い塊まりを少数含んでいる。

(6) 50~100時間では、旧大核は極度に収縮し、密な網目状のクロモネマの塊まりとなり、終には消失してしまう。大核原基には、径 $0.1\sim 0.6\mu$ の多数の高電子密度の塊状の仁が出現する。時には、仁が中央に集中して巨大な不規則形の塊まりとなり、その周囲を、基質よりやや電子密度の高い部分が取り囲んでいることがある。電子密度の低い基質部分は、 $20m\mu$ のゆるくコイルした糸で満たされており、やや電子密度の高い部分は、 $10\sim 30m\mu$ の糸が密にコイルしている。仁の内部にも、密にコイルした径約 $20m\mu$ の糸がみられる。

(7) 100~150時間には、原基内部の $20m\mu$ の細い糸の分布は一様でなくなり、 $200\sim 500m\mu$ の幅でやや密に集合した部分が見られる。ついで、 $20m\mu$ 位の糸が部分的に密にコイルして結節状を呈するようになる。種々の大きさの仁が多数観察される。

(8) 150~200時間の原基にも、大小種々の大きさの仁が多数見られ、 $20m\mu$ の細い糸が密にコイルした結節状の部分が大きくなり、 0.1μ 内外の塊まりを作るようになる。

(9) 200~250時間では、原基は既に癒合して一塊となるが、内部の細い糸の結節状の部分の数がさらに増し、その大きさも径 $0.1\sim 0.2\mu$ と大きくなっている。種々の大きさの仁が散在しており、その輪郭は不規則で、内部の電子密度は不均一である。小核は、既に栄養期のものとほぼ同様になっている。細い糸の結節部は、ついでに太さ $0.1\sim 0.2\mu$ 位の紐状を呈するクロモネマとなり、栄養期の大き核と同様の構造を示すようになる。

14 *Blepharisma intermedium* の色素の遺伝について

亀山 博子, 稲葉 文枝
奈良女子大学理学部動物学教室

Pigment inheritance in Blepharisma intermedium

Hiroko Kameyama and Fumie Inaba

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

繊毛虫・異毛目の *Blepharisma intermedium* の野生型 (R) は皮下に赤色の色素顆粒をもち、赤色を呈しているが、突然変異型の albino (A) はこれを欠き無色である。Isquith & Hirshfield (1968) は R と A の交配実験で子孫が全て red になり分離が見られなかったことから、色素が非メンデル遺伝をすると推定している。

我々が今回 A×R およびその子孫の間で交配を行うと R×A, F₁R(R)×F₁R(R), F₁R(A)×F₁R(A), F₂R(AR)×F₂R(AR) の子孫は全て red になったが、F₁R(A)×A, F₂R(AR)×A の A 由来の子孫には、少数の albino のクローンが出現した。このことは色素の遺伝が単なる細胞質遺伝ではなく、核の遺伝子が関与していることを暗示させる。

RA 接合対を一定時間ごとに AgNO₃ 液で処理すると、次のことが観察された。すなわち色素顆粒の移動は接合初期から、接合域の上端と下端で徐々に始まるが、虫体全体に分布するようになるのは、接合開始後約 50~60 時間で旧大核が小さく塊状になり、それとともに大核原基が体積を増し、フォイルゲン反応が強くなり始める頃である。90 時間頃になると旧大核は消失し、原基のフォイルゲン反応はかなり強くなるが、色素顆粒も繊毛列間に規則的に配列するようになる。190~200 時間後には原基はひも状の栄養期の大核に近くなっており、色素顆粒も密度・配列においては栄養期の R と区別がつかなくなる。このように顆粒の増殖、配列は、旧大核の消失と大核原基の発達に平行しており、A 虫体内の R 由来の遺伝子が色素顆粒の増殖とその配列を支配していることを暗示する。

接合開始後一定時間ごとに、RA 接合対を人為的に切り離すと、接合開始後 15 時間までに離した A 虫体は、全て無色のままであるが、15~18 時間に離したものでは 52%、21~24 時間では 83%、36~48 時間では 100% が

red になった。またこのときの核の変化は、接合開始後 15 時間までに離した個体は栄養期のひも状の大核が約 24 時間までに V 字状を経て塊状になり、48 時間後には大核原基は大型と小型に分化する。しかし 72 時間以降になると、原基に大小の区別がなくなり、96 時間頃には原基は消失して旧大核のみが残る。150~180 時間後には、多くの個体が小さく胞状になって死ぬが、240 時間後まで生存した個体では旧大核が再び大きくなっている。接合開始後 15 時間以降に離したものでは、2 つの型が見られ、一方は上記と同様のものであり、他方は正常の接合過程をたどるものである。以上のことから次のことが推測される。すなわち原核の交換がおこるのは接合開始後 15~21 時間であるので 15 時間以内、すなわち原核交換以前に離した個体では、接合過程にはいっていったん開始された核の変化は継続し、原核の交換はおこらないにもかかわらず、原基が出現する。この大核原基はおそらく cytogamy による synkaryon から生じたのであろう。しかしこの原基は発育を続け得ず、やがて消失して旧大核のみになり、多くの個体が死ぬか、一部の個体では旧大核の再生がおこって生存可能になると思われる。これらの個体には切り離し前の短時間の接合中に色素顆粒が移入しているが、大核の遺伝子型が albino 型で、色素顆粒が増殖しえないために red にならないのであろう。ところが原核交換以後に離した個体では、正常と同様な接合過程を経過し、R から来た遺伝子を含む新遺伝子型が色素顆粒の増殖を許し、red になると考えられる。また原核交換の前後と考えられる接合開始後 15~18 時間に切り離した個体の中で、あるものは無色のままであるが、あるものは red になるという差を生ずるのは、切り離しの時期における色素顆粒の移動の量的差によるものではなく、原核交換が完了しているか否かに伴う R 型の遺伝子型の有無に基くものと考えられる。色素顆粒は細胞質を通じて移

動するが、その維持・増殖には核内の遺伝子が関与していることが推測される。

仮に最も簡単な場合として、この色素顆粒の維持を単一の遺伝子が支配していると仮定して、維持するに必要な red の核内遺伝子を R 維持しえない albino の遺伝子を r とすると、R から A に色素顆粒の移動がおこっても、A の遺伝子型が r/r の場合、色素顆粒の増殖および正常配列はできない。即ち $F_1R(A) \times A$, $F_2R(AR) \times A$ から A 分枝系の出現が予期される。しかしまた F_1 同志、 F_2 同志の交配から生ずる分枝系の中にも次第に色を失うものが生ずるはずであるが、今のところそれは認められない。おそらく実際にはもっと多くの遺伝子が関与していると考えられ、さらに多くの交配を行って子孫分枝

系を追求することが必要であろう。

質問 猪木正三 (阪大 微研)

1. 野生型の増殖を速くすると albino になりますか。
2. 野生型に戻らない albino をつくることができますか。

回答 亀山博子 (奈良女子大 理)

1. albino にも野生型と同じく顆粒が存在しその内容物の性質がちがうと考えられます。野生型の色の濃淡は培地に影響をうけるようですが、分裂速度と色素顆粒の濃度との関係は調べていません。

2. 現在の albino 系は極めて安定で野生型にもどりません。

15 トキソプラズマにおけるピルビン酸の代謝

竹内 勤

慶応義塾大学医学部寄生虫学教室

Metabolism of pyruvate in Toxoplasma gondii

Tsutomu Takeuchi

Department of Parasitology, Keio University School of Medicine, Tokyo

トキソプラズマの生化学的研究はこの原虫の偏性細胞内寄生という生理上の興味ある性質を明らかにする上で重要な手段となり得るものであるが現在まで殆んど行なわれていない。この原因は虫体分離精製の困難性によるものと思われるが演者は先に開発したトキソプラズマ栄養型虫体分離方法を用いて得た精製虫体を試料として種々生化学的実験を行なっている。今回はピルビン酸の形成及び利用について実験を行ったのでその結果を報告する。実験材料としては当教室で継代保存中の RH 株を使用した。これを演者が以前報告した方法で分離精製後、音波破砕しそのまま酵素液として使用した。また、ピルビン酸の定量はジニトロフェニルヒドラジンによる呈色反応、オキザロ酢酸は D.B.M.T.C. による呈色反応、ピルビン酸脱水素酵素、および乳酸脱水素酵素は各々 NADH の形成、還元型チトクローム C の形成を分光光度計で連続的に追跡することによって行なった。さらに、アセチルコエンザイム A の定量はリンゴ酸脱水素酵素とクエン酸合成酵素を使用することによってやはり分光光度計に

よって行なった。実験結果は以下の通りである。(1)、ピルビン酸脱水素酵素はごく弱い活性を認めた。しかし形成された NADH が乳酸脱水素酵素によって使用されることも考えられるため正味の活性は本実験で得られた値より少々異なると考えられる。(2)、乳酸脱水素酵素はピルビン酸脱水素酵素よりやや強い活性を認めた。しかしながらこの場合も予期した値よりは低かった。(3)、グルコースからのピルビン酸の形成はアデニンヌクレオチドおよびリン酸の存在下で促進されることが判った。(4)、ピルビン酸の利用は NAD 濃度を変えても変化が見られず、コエンザイム A の添加、パントテン酸の添加も殆んど効果が見られなかった。(5)、アセチルコエンザイム A の生成は認められなかった。(6)、ピルビン酸カルボキシラーゼの高い活性を認めた。(7)、ピルビン酸キナーゼの活性を認めた。以上の実験結果より細胞外にあるトキソプラズマ栄養型虫体の代謝にはきわめて特徴的な点の存在することが判る。この原虫が細胞内で増殖している時はおそらくピルビン酸からアセチルコエンザイム A を

経てクエン酸に至る経路が優勢になるものと考えられるが、細胞外にある原虫の場合はグルコースから形成されたピルビン酸は一部は乳酸となり、他はピルビン酸からオキザロ酢酸に変換して解糖系を逆行してグリコーゲン合成に至ると考えられる。アセチルコエンザイムAを経由してTCA回路に入る経路はまだピルビン酸脱水素酵素の存在を弱い活性ではあるが確かめ得たのみで上に述べた推論も全く確実という訳には行かないが、とにかく

細胞外から細胞内に原虫がうつるに従って何らかの因子がピルビン酸の利用の方向を変えてATP合成に全体が傾いて行くであろうことはまちがいないと推測される。グルコースよりのピルビン酸の形成はアデニンヌクレオチドおよび無機リン酸の存在下で促進され、ピルビン酸キナーゼの存在をも認めたことからして、現在一般高等動物に見られるようなEMP回路の存在はほぼ確実と考えられる。

16 トキソプラズマの oocyst 形成過程について

井関基弘, 西林 満, 高田季久, 田中英雄
大阪市立大学医学部医動物学教室

Observations of the developmental stages of Toxoplasma gondii in cat intestine

Motohiro Iseki, Mitsuru Nishibayashi, Suehisa Takada and Hideo Tanaka
Department of Medical Zoology, Osaka City University Medical School, Osaka

Toxoplasma gondii は、従来孢子虫類の Family TOXOPLASMATIDAE, Genus *Toxoplasma* の単一種であると考えられていたが、ネコへの感染実験から *Toxoplasma* の fecal form すなわち oocyst が発見されたことにより、その分類上の位置は Coccidia のうちの Isospora 属、特にネコを終宿主とする *Isospora bigemina* と極めて近縁もしくは同一種と考えられるに至った (Hatchison, 1970).

演者らも同様の感染実験を行ない、糞便中に排出される oocyst を確認すると共にネコ小腸粘膜上皮細胞内での *Toxoplasma* の schizogony, gamogony の過程を光学顕微鏡的に観察し、さらに oocyst のマウス、ネコ、イヌへの感染実験の結果についても報告した (第40回日本寄生虫学会, 1971)。今回は電子顕微鏡レベルでの観察を行い検討を加えた。

Toxoplasma の Beverley 株を感染させ1ヶ月後に脳内に多数の cyst が形成されていることを確認した後、この脳乳磨液をカテーテルを用いて仔ネコ (体重・500g) の胃内に注入し感染させた。投与量は 5mouse brains/day × 3 days である。初感染の日から4日後には極めて多数の oocyst が糞便中に排出され、ネコは食欲なく下痢を呈し、弱ってうずくまるようになった。この時点でネ

コを麻酔死させ、その小腸各部位について電子顕微鏡用標本と光学顕微鏡用パラフィン切片標本を作成し観察に供した。

排出された oocyst の大きさは平均 $12.5 \times 10 \mu$ の楕円形であり、内部には顆粒の集塊 (径 9μ) を有する。この oocyst を水に浮遊させ、 27°C に保つと12時間後には集塊は2コの sporoblast になり、3~4日後には2コの sporocyst 内に夫々4コの sporozoite が形成された。

ネコ小腸内では十二指腸部から回腸部に至るあらゆる部位の粘膜上皮細胞内に寄生がみられ、schizogony, gamogony のあらゆる stage が観察された。どの stage のものも宿主細胞の細胞質内の vacuolar wall 内に存在し、宿主細胞の核の上側、すなわち lumen 側に位置する。1宿主細胞内に2~3個の虫体が各々独立した vacuole 内に存在するものもみられた。

1コの schizont から形成される merozoite の数は20~30コのものが多かった。merozoite の形成過程は、従来記載されている *Toxoplasma* の増殖法 “endodyogeny” と本質的に異なるものではなく、parent cell の細胞質内に daughter cell の cap 状の cell membrane が形成され、その中に分裂した parent cell の核が移入していった daughter cell すなわち merozoite が形成さ

れる。しかし、従来記載されている endodyogeny は、1コの parent cell 内に2コの daughter cell が形成されるのみであるのに対して schizogony の過程では1コの parent cell 内に1時に20~30コの daughter cell が形成される点で異なっている。

microgametocyte は径約12 μ であり、これから多数の microgamete が形成される。一枚の標本からではあるが、microgamete は2本の鞭毛を有していることを思わせる像を認めた。これは現在さらに追求中である。

macrogamete は約11 \times 9 μ で中心部に径約4 μ の核を有する。宿主細胞膜内で完成した oocyst は径約13 μ で、内部には多数の vacuole と granule が認められる。この vacuole, granule 等の集塊は double leaflet からなる3枚の膜で包まれている。

質問 浅見敬三(慶大 医)

提示された schizont は primary か secondary か何れでしょうか?

host cell の核の下に入った schizont は見られなかったでしょうか?

回答 井関基弘(阪市大 医)

組織内原虫を3日連続経口投与により感染させたので primary か secondary かの区別はつかない。

殆んど全てが核の上側に位置しており、いままでの検索では下側のものは見られなかった。

質問 浅見敬三(慶大 医)

schizont 内の merozoite 像を見ると従来言われて来た endodyogeny 像とは異っているが、*Toxoplasma* の正常な life cycle 中では endodyogeny による分裂は生じないとお考えでしょうか。

回答 井関基弘(阪市大 医)

merozoite の形成過程をみると、*Toxoplasma* の schizogony は“Internal budding”という方式で進むという点において、従来の endodyogeny と相共通するものであると考えられる。ただ、endodyogeny では1 mother cell 内に2コの daughter cell が形成されるの

に対し、schizogony では20~30コの daughter cell が形成される点で異っている。しかし、schizogony により1 mother cell から形成される merozoite の数にはかなり変異があるので、ネコの小腸粘膜上皮細胞内で行われる endodyogeny は行われたいというためには、さらに検索を進める必要がある。

質問 尾崎文雄(徳島大 医)

本原虫で他の状況下において internal budding が行なわれるとお考えですか。今日のご発表ではその域に入りにくいと思いますが。

回答 井関基弘(阪市大 医)

浅見氏への応答のように、演者は *Toxoplasma* の schizogony は本質的には internal budding であると現在のところ考えております。

質問 赤尾信吉(慶大 医)

1. 猫への投与 cyst 数はどの位の数ですか。

2. 組織中の merozoite における microneme が見えませんでした。一般の trophozoite と比較して形態上の差異があったら教えて下さい。

① microgamete は *Eimeria* で実験した折に観察しましたが大きな核と2本の前鞭毛を有しています。

② 受精後の oocyst 等は包埋剤が浸入し難い故に vacuole と見誤り易い。故に包埋時の振盪、加温等が行われれば良いと思います。

回答 井関基弘(阪市大 医)

① 上記抄録参照。

② microneme は merozoite にもみられる。trophozoite との差異は目下検討中である。

質問 楠 禎人(徳島大 医)

使用した猫は仔猫或は成猫か?

オーシスト排出時の臨床的な症状は?

回答 井関基弘(阪市大 医)

体重 500g 以下の子ネコであり、オーシスト排出時は、食欲なく、下痢、全身的衰弱が著しかった。

17. *Toxoplasma fecal form* の経口投与による感染試験

伊藤進午, 角田 清, 藤田潤吉
農林省家畜衛生試験場

西川 洋 昭
日本獣医畜産大学

Successful oral infection with fecal form of Toxoplasma to specific pathogen free piglets and other animals

Shingo Ito, Kiyoshi Tsunoda and Jinkichi Fujita
National Institute of Animal Health, Tokyo.

Hiroaki Nishikawa
Nippon Veterinary and Zootechnical College, Tokyo

最近, *Toxoplasma* の発育過程に, 従来から知られている増殖型とシストの他に, fecal form の存在することが明らかになって来た。

一方, わが国では近年, 豚の *Toxoplasma* 病の発生が相つぎ, 養豚界の重大問題の一つとなっているが, その感染経路はまだ十分に解明されていない。そこで演者らはこの問題の解明の一環として fecal form の果す役割を明らかにする目的で, SPF 豚を用いて fecal form の経口感染試験を行なった。なお, 犬, ネコ, および2~3の実験動物についても同様の試験を行なったので, あわせて報告する。

まず SPF 豚は dye test 陰性の母豚から子宮切断法によって取出され, isolator の中で飼育中のものを用いた。すなわち5日令の SPF 豚3頭に対し No. 1 に約80万個, No. 2 には40万個, No. 3 には約4万個の sporulated fecal form を強制的に経口投与した。その際, 接種材料は2000倍のヒビテン液を用い, 数回液交換して24時間雑菌殺滅処理をし, さらに滅菌水で2回遠沈洗滌し, ペニシリン10000単位, ストレプトマイシン10mgを加えて使用した。

その結果, No. 1 は9日目に死亡したが, 他の2例, No. 2 と No. 3 は4週間後に殺処分するまで生残った。これらの SPF 豚の剖検所見は, No. 1 の腸間膜リンパ節が軽度に腫大し, その一部に小さな赤変部が認められたほかには, 著変が認められなかった。これら SPF 豚の死亡時, または殺処分時に, 各臓器の食塩液乳剤をそ

れぞれ3匹のマウスの腹腔内に接種し *Toxoplasma* 原虫の回収を試みた。接種マウスは No. 1 由来のものは接種後22日目に, No. 2 および3由来のものは39日目にそれぞれ殺処分し, 脳内シストの検査を行なった。またその間に死亡したマウスについては接種後の経過に応じて, 腹水, 胸水, リンパ節, 肺, および脳について, 増殖型およびシストの検査を行なった。死亡例の SPF 豚 No. 1 では, 肝, 脾, 肺, 腸間膜リンパ節, 心, 腎, および脳の7臓器をマウス接種したが, 全臓器から *Toxoplasma* 原虫が回収された。次に No. 2 と No. 3 では上記7臓器に加えて脾, 副腎, 辜丸, 肋間筋, 腎筋, 横隔膜も検査したが, No. 2 では肝, 心, 腎, 脳, 脾, 副腎, 辜丸および腎筋から, No. 3 では肝, 心, 脳, 副腎, 辜丸, および肋間筋から, それぞれ *Toxoplasma* 原虫が回収された。なお, No. 2 では殺処分時の脳の生鮮圧平標本で, 直接鏡検によりシストが検出出来た。

次いで一腹3匹の仔犬に約50万個, また各3匹のラット, モルモット, および家兎に, それぞれ約10万個ずつの fecal form を経口投与した。これらの感染動物はいずれも発病することなく経過したので, 1ヶ月以上経過後に殺処分して, SPF 豚の場合と同様, マウス接種法により *Toxoplasma* 原虫の回収を行なった。但し家兎は2匹が途中で事故死している。

その成績は, モルモットでは No. 1 の肝, 脾, 心, 腎, 腸, および脳, No. 2 の肝, 心, 腸, および脳, No. 3 の肝, 腸, および脳といずれも3つ以上の臓器から原虫

が回収されたが、ラットでは3例共、脳から原虫が回収されただけであった。さらに犬では原虫がNo. 1の脳、およびNo. 3の心と脳から回収されたが、No. 2からはどの臓器からも回収出来なかった。家兎では殺処分例のNo. 2では、心、腎、および脳から、また7日目に事故死したNo. 3では腸間膜リンパ節から原虫が回収されたが、24日目に事故死したNo. 1からは全く回収出来なかった。

次に約3万個から約300万個までの種々な数の fecal form を10匹の仔ネコに経口投与し、*Toxoplasma* の全 life cycle をネコの体内で完了させようと試みたが、この試みは現在までの処、まだ成功していない。その際これらのネコからも24~54日目の間に殺処分した際に、他の動物と同様に、マウス接種法により原虫の回収試験を行なった。その結果、No. 11の肝、脾、肺および腸間膜リンパ節のプール乳剤、No. 12の脳、No. 15の腸間膜リンパ節、およびNo. 17の肝、肺、腸間膜リンパ節、心、そして腎から、それぞれ原虫が証明されたが、他の6例からは全く原虫が回収出来なかった。なお、殺処分時にこれらのネコから採取した血清の dye test titer は、いづれも1:4~1:64と低く、上記の原虫回収成績の悪さ、感染後48時間目までの糞便中に fecal form が証

明されたことなどを併せて考えると、投与された fecal form の内かなりのものが腸管内を素通りしてしまったのかもしれない。

以上、すでにマウスを用いて証明した fecal form の経口投与による *Toxoplasma* 感染の成立が、今回、豚、犬、ネコ、ラット、モルモット、および家兎でも証明され、マウスで single oocyst 法により唯一コ of fecal form でも感染が成立した事実と考え併せ、*Toxoplasma* 病伝搬上に fecal form の果している役割の重要性が一層明らかにされたものと思われる。従って豚の *Toxoplasma* 病の場合も、その感染様式の一部は fecal form の存在に負う処が多いと考える。

質問 竹内 勤 (慶大 医)

fecal form を投与したウサギの心臓の組織像について?

回答 伊藤進午 (家畜試)

ウサギの組織切片は作っておりません。

質問 奥木 実 (徳島大 医)

SPF 豚を作るとくにみられた特徴がありましたか。

回答 伊藤進午 (家畜試)

特に変わったことはみられておりません。御承知の通り SPF 豚を使った目的は別のところにあるのです。

18 *Toxoplasma* の oocyst に関する研究 (II)

赤尾 信吉

慶応義塾大学医学部寄生虫学教室

Toxoplasma gondii : The immunological observations of *Toxoplasma cats*

Shinkichi Akao

Department of Parasitology, Keio University School of Medicine, Tokyo

緒言: *Toxoplasma* (以下 Tp.) の終末宿主が猫であり、その糞便中に oocyst のでてくることが知られ、さらにこれが *Iso spor a bigemina* であることが判ってきた。前報において、Tp. の数株 (cyst 型) を猫に経口投与し、いずれの株からも oocyst が投与後1~2週目に出てくることを報告した。本報では、この oocyst を用いて oocyst の抵抗性、並びに猫への同一株、異なる株による再感染につ

いて実験を試みた。

方法および結果: Tp. Beverley 株 (cyst 型) を猫に経口投与して得た oocyst を1%重クロム酸カリ液に浮遊させたものを実験材料とした。温度に対する抵抗性としては、0°C (24hrs.), 20°C (24hrs.), 40°C (15min.), 50°C (5min.) で行い、各々の試料を所定時間後、光学顕微鏡にて観察撮影した。さらに、各々の試料をマウス5匹宛

に経口投与し、oocystの感染力の有無を検した。その結果、0°C (24hrs.) では観察した oocyst の約50%が形態上の変化は認められず、その後の培養実験では50%以上の oocyst が mature oocyst となった。この oocyst をマウスに経口投与した場合には、5匹中4匹にその脳より cyst を検出し得た。20°C (24 hrs.) では殆んどの oocyst が正常で形態的な変化は見られなかった。マウスに投与した場合には、5匹全てが感染した。40°C (15min.) の場合には、oocyst の膨張が稍々あり、sporocyst は顆粒状に変化し、その後の発育は不良であった。マウスに投与した場合には、Tp. の感染はいずれにも認められず、oocyst が死滅したことを示した。50°C (5min.) では、oocyst の膨張、sporocyst の変性が40°Cの場合よりも著明に起こり、oocyst の死滅が認められた。マウスに投与した場合にもその感染力は無かった。

oocyst の再感染については、初感染で糞便中に oocyst の出現が確認された猫を用いて行った。用いた Tp. 株は Beverley 株、S-273 株である。Beverley 株感染猫は、初回に cyst 数20個を経口投与したもので、投与後1週目から oocyst が糞便中に出現し、その後5日間にわたり oocyst の排出が観察されている。この猫に対して S-273 株による再感染を行った。初感染から再感染までの期間は5ヶ月である。その結果、oocyst は出現せず、初回とは異なる株であったが再感染は成立しなかった。次に S-273 株による感染猫は、初回に cyst 数約50個を経口投与したもので、投与後7日目より oocyst が糞便中に出現し、その後10日間にわたり観察されている。この猫に対して Beverley 株による再感染を行った。初感染から再感染までの期間は3ヶ月と5ヶ月である。その結果、oocyst は出現せず、前例と同様に異なる株による再感染は成立しなかった。

以上の実験中に HA-Test (沔紙法) による感染猫の抗体価を検査した。初感染時に HA-Test を行ったが、陰性を示したのは1匹のみで、その他の猫は256倍陽性であった。このうち2匹は感染しなかった。

考察：Tp. の oocyst の温度に対する抵抗性について実験を行ったが、40°C以上になると短時間でその発育が止まり、感染力を失なうことが判った。一方、低温域における oocyst はかなりの抵抗性を有し、oocyst の50%は感染力を保っていることが判った。このようなことから、Tp. 感染猫がいる場合、oocyst 排出期間は1~2週の短期間であるが、この時に徘徊することにより Tp. が人や動物等に伝播することは容易であるものと考えられる。Tp. Cyst 型による再感染については、いずれの猫も oocyst の排出はなく、再感染は成立しなかった。S-273 株を初感染に投与した猫では、初感染時より3ヶ月後、6ヶ月後と Beverley 株による再投与を行ったが、oocyst の排出はなく再感染も成立しなかった。このことは初感染により、猫が Tp. (Cyst 型) に対して強い免疫を獲得したことを意味し、さらに、この免疫は異なった株に対しても感染防禦する力があるものと考えられる。

一般に、*Isospora* では宿主特異性が強く、一度の感染により宿主は終生免疫を獲得するが、Tp. においても同様の性格を有しているものと考えられる。しかしながら、初感染と再感染との間隔がより長期にわたった場合には再感染が成立する可能性も考えられる。

本実験中の猫の Tp. に対する抗体価について、HA-Test (沔紙法) を行ったが、初感染により抗体価が上昇する場合もあり、再感染により抗体価が下降する場合もあった。このようなことから、終末宿主である猫の Tp. 抗体価測定には、従来行われているいくつかの血清学的診断法で検討する必要があるものと考えられる。

19 実験トリコモナス症における免疫リンパ細胞の防禦的役割, 特に免疫血清との関連について

古谷正人, 土肥美代子, 前田直子, 伊藤義博, 奥木 実, 岡 好万, 尾崎文雄
徳島大学医学部寄生虫学教室

Protective role of immune lymphoid cells in experimental trichomoniasis in mice and effects of immune serum on the growth of Trichomonas foetus

Masato Furuya, Miyoko Doi, Noriko Maeda, Yoshihiro Ito, Minoru Okugi, Yoshikazu Oka and Humio Osaki

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

マウスの腹腔を場とする実験トリコモナス症において *Trichomonas foetus* 生虫で免疫した宿主は再感染に対し高い抵抗性を示した。これと逆に死虫で免疫処置した動物は評価しうる抵抗性をうる事が出来なかった。これらの結果から生虫細胞のある特定の構成成分に防禦抗原性が局在するという仮定のもとに解析を進め、マイクロソームおよびライボソーム分画に防禦抗原としての活性が存在することを確認した。一方、免疫マウスの腹腔内で、攻撃原虫が受ける清掃作用および虫体自体の消滅過程を理解することは宿主免疫機構を側面から理解するのに役立つものと考え、今回は抗体面からの解析を試みた。

実験は次のとおり生虫前感染後3週間経過した免疫マウスと、同年令の無処置対照マウスの比較検討に中心をおいた。1) 上述免疫マウスに致死量の再感染を施し、経時的に採取した腹水について光学顕微鏡下で原虫の存否判定と腹腔細胞の観察を行なった。なお、原虫の存否判定に培養法を併用した。2) “細胞性抗体”の立場から lymphocyte-parasite interaction を *in vitro* で測定した。すなわち Earle's solution (10% calf serum 含有) 中でマウスリンパ節由来細胞の浮遊液を作り、これと *T. foetus* を細胞数比5:1の割合で混合し、37°C, 90分間反応させた上で6% glutaraldehyde と1% OsO₄ で固定し、電子顕微鏡観察を行なった。3) “液性抗体”の観点から免疫血清の *T. foetus* の増殖におよぼす効果を *in vitro* で検討した。実験に先だちマウス血清を非動化

処理グループと未処置グループに分け、これらの血清を Earle's solution (5% calf serum, 0.005% agar 含有) に10%になるよう添加した。この反応液中における *T. foetus* (反応開始時原虫数約100コ/mm³) の増殖状態を37°Cで培養後毎8時間24時間に至るまで計測した。

以上の実験結果を要約すると次のようになる。

1) 免疫マウスでは、攻撃後の時間経過に伴って腹水中に原虫が認められなくなり、3時間後においてすでに増殖の抑制傾向が見られた。一方、対照マウスでは経時的に原虫数が増加し、5-6日目の死亡直前には白濁した腹水中に活動原虫が充満した。なお免疫マウスの腹水中には多数の lymphoid cell の出現が認められ、この細胞は高率に原虫を捕捉し、捕捉された原虫は漸次運動が弱まり、膨化して死亡する現象を認めた。

2) 免疫 lymphoid cell が *T. foetus* を膨化、死亡させる原因を追究する目的で電顕観察を行なった。その結果、捕捉された *T. foetus* の細胞膜には lymphoid cell との接着面のところどころに分断を生じていたが対照群では接着面に何らの変化もきたしていなかった。

3) 各種血清中における原虫の増殖は培養後16時間目ごろより差を生じた。すなわち24時間目における非動化対照血清の場合、当初の原虫数の約8倍に増殖したが、非動化処理を行なわなかった対照血清では約5倍の原虫数にとどまり、これは非動化免疫血清の場合とほぼ一致していた。非動化処理を行なわなかった免疫血清中の増殖は約3倍で、非動化対照血清中の約1/3倍であった。

一方、免疫マウス血清は非動化処理の有無にかかわらず、対照血清より原虫凝集能が大であり、かつその際若干の原虫が破壊されるのを認めた。非動化未処理対照血清により原虫の増殖がかなり抑制されたのは補体による原虫破壊に起因すると考えられる。非動化未処理免疫血清の場合は補体と凝集抗体との両者の作用が効果を増大したものと考えられるが、なおかつ完全な増殖の抑制は見られなかった。

以上の現在までの成績から、免疫マウス腹腔内における *T. foetus* に対する清掃作用には、lymphoid cell がかなり重要な役目をこなっており、血清中の補体ならびに凝集抗体が補助的に働いていることが考えられる。しかしこの仮定は個々の実験結果から導かれたものであり、今後 *in vitro* の場において確認を進めたい。

質問 鈴木 守 (東大 医科研)

トリコモナスと免疫リンパ球との接触時にリンパ球の blast 化はみられなかったか。

回答 古谷正人 (徳島大 医)

反応時間 90 分の観察では lymphocyte の blast formation は認めませんでした。

質問 竹内 勤 (慶大 医)

- (1) 使用しているマウスの週齢は一致しているか？
- (2) 胸腺細胞の使用は？

回答 古谷正人 (徳島大 医)

(1) 使用マウスは 5 ~ 6 週齢で 20 ~ 25 g のものを使用した。

(2) 胸腺細胞は非常に興味ある点であるが、現在まだそこまで行っていません。今後ぜひ使用してやってみたいと思っています。

追加 岡 好万 (徳島大 養護教諭養成所)

medium に native normal serum を添加しただけでも *Trichomonas foetus* の増殖は、かなり抑制されます。この原因として補体とか、プロパージンとかが考えられますが、もっと具体的な実験経験をおもちでしたらお教え下さい。

20 Metronidazole に対する耐性腔トリコモナス株の有無について

浅見敬三, 竹内 勤, 三浦左千夫
慶応義塾大学医学部寄生虫学教室

Present status of sensitivity of Trichomonas vaginalis to metronidazole; absence of resistant strains among clinical cases

Keizo Asami, Tsutomu Takeuchi and Sachio Miura

Department of Parasitology, Keio University School of Medicine, Tokyo

腔トリコモナス症の経口治療剤として、副作用が少なく、しかも低濃度で殺虫的に作用する経口治療剤の Metronidazole 出現以来、早や 10 年余りを経過している。

本剤が広く世界に普及するにつれ、腔トリコモナス株の本剤に対する耐性獲得の有無が問題とされてきた。耐性株としては、1962年カナダにて Robinson の実験により報告され、その後も関連した報告はいくつか見られるが、まだ耐性獲得の有無は定説がない。今回、最近分離した腔トリコモナス株について Metronidazole に対する感受性を *in vitro* で測定し、演者等の一人が 1961年に

行なった同様な実験成績との比較により、日本におけるこの 10 年間に腔トリコモナスの本剤に対する耐性上昇の有無を検討した。

材料：演者等の研究室において 1 年以上継代培養して来た陳旧株 3 株、腔炎症例から分離培養した 16 株、および感受性の高いとされている Italy の M 株 1 株の計 20 株を用いた。

実験培地および培養法：

基礎培地 (浅見のチスティンブイオン) …… 4.0ml
人血清 (抗生物質を含む) …… 0.4ml
薬剤溶液 …… 0.5ml

虫体浮遊液…………… 0.1ml

薬剤溶液は DMSO 少量に Metronidazole の純品を溶かしたのち、希釈所要濃度 1.0 μ g/ml, 0.75 μ g/ml, 0.5 μ g/ml, 0.25 μ g/ml, 0, にし、培地に 0.5ml 加える。対照は実験例薬剤溶液中に含まれる最高濃度と同一に DMSO を希釈したものを 0.5ml 対照培地に加えた。

虫体浮遊液：あらかじめ培養増殖した虫体を、Thoma の血球計算板にて虫体数を算定し、各薬剤濃度の培地に一定虫体を接種した。

MIC の判定：一定数の虫体接種後、24 時間、48 時間毎に虫体数を算定し、接種虫体数との比較を行ない、接種時虫体数の 2 倍以上を示した場合を増殖したものと判断した。これにより陳旧株と新鮮株においての差異は認められなかった。また、M 株においては 2 倍希釈法でわずかに一段の差しか認められなかった。

この様な *in vitro* の実験報告は過去数多くなされていくが、特に 1962 年 S. Squires 等は、Metronidazole による治療に失敗した患者から分離した株 26 例についての MIC を 1.0 μ g/ml \sim 0.25 μ g/ml と報告している。また 1969 年には無作為に採った 50 株と本剤治療に抵抗した例 25 株の MIC 分布を検討し、1.0 \sim 0.5 μ g/ml と両者と

も差異は無かったと報告している。なお耐性獲得を言う Honigberg 等は増量培養法で、25 μ g/ml にまで耐性上昇させることに成功。1969 年 D. Carneri らは *in vitro* で 1 \sim 0.5 μ g/ml と報告しているものの、増量継代法により、殺虫濃度 3 μ g/ml を 5 ヶ月で 12 μ g/ml に上昇せしめたと言ひ、かつ 1 ヶ年継代を行なったものについては、殺虫濃度 0.23 μ g/ml を 80 μ g/ml にまで上昇せしめた株を報告している。一方、*in vivo* の耐性誘導としては Mc. Loughlin, Actor, De. Carneri 等の報告がある。なかでも De. Carneri は、腔トリコモナスをマウスの皮下に接種し、Metronidazole による不十分な治療で耐性を誘導し得たが、*in vitro* における証明はされなかった。それによると本実験も *in vivo* での検討を必要とするであろう。

以上幾多の興味ある実験報告がされてはいるが、既に述べたように本実験は、演者等の一人が 10 年前に同様な実験を行ない、MIC の測定をし、0.8 μ g/ml と報告しているが、今回の場合も MIC は 0.25 \sim 0.75 μ g/ml の範囲にあり、この 10 年間に腔トリコモナス株の本剤に対する耐性上昇は認め得なかった。

第4回 国際原生動物学会について

下記の通り、第4回国際原生動物学会が開催されます。

IVth International Congress of Protozoology

Date : September 2nd to September 10th 1973

Place : CLERMONT-FERRAND (FRANCE)

Subject : Questions of general Protozoology.

Organisation : there will be :

a) work-shops, b) plenary sessions, c) sections.

a) WORK-SHOPS :

Every work-shop will study a precise theme. Under the chairmanship of a personality a few research-workers specialized in this debated question will meet. After a short report of their results, they will hold a debate leading to a restatement of the present state of the problem. Duly registered auditors, whose number will not exceed 50 (occasionally more), will be allowed to take part in the debate or to present notes whose subject will be conviusly appreciated by the chairman in connection with the theme. Debate will last about 2 or 3 hours. The work-shops will take place in the afternoon. There won't be any simultaneous translation during these debates, but the chairman and their assistants will sum up in another language than the one of the speaker the main facts given by him.

The presently chosen themes are the following :

1. Nuclear DNA
2. Extranuclear DNA
3. Purine and pyrimidine metabolism
4. Morphogenesis regulation
5. Lipid metabolism
6. Membrane structure and transport
7. Extranuclear heredity and nucleo-cytoplasmic relations
8. Physiological adaptations
9. Hybridation in the Protozoans

10. Ameboid movements
11. Ciliary and flagellar movements
12. Intraspecific variations in free Protozoans
13. Variations of parasitical specificity (intra and interspecific)
14. Polyploidie and nuclear dualism
15. Mitosis and cycles of development
16. Acquisition of parasitical characteristics by the Protozoans
17. Unusual hosts of parasites in the natural and experimental conditions
18. Cycle of Toxoplasms and neighbouring organisms
19. Morphological and physiological relations between host-cell and parasite in vivo and in vitro
20. Ecology of marine Protozoans
21. Ecology of fresh-water Protozoans
22. Ecology of soil Protozoans
23. Classification and phylogeny of Protozoans
24. Ingestion and digestion mechanisms. Secretions. Excretions
25. Subcellular particles
26. Stomatogenesis
27. Contractility process
28. Polysaccharide metabolism
29. Cellular cycle.

b) PLENARY SESSIONS :

They will consist in :

- 1) a little number of lectures about problems of present and general interest.
- 2) reports on the restatements worked out by every work-shop and presented by their chairmen.

Plenary sessions will take place in the morning. They will probably be translated into four languages (French, English, German, Russian).

c) SECTIONS :

Reports which don't be included in the themes of the work-shops will be presented, after being gathered in general sections which will be defined according to the nature of the subjects themselves. They won't be simultaneous by translate. Every member of the Congress may present papers.

PUBLICATIONS :

Before the Congress, the lectures of the plenary sessions and the summaries of the papers of every member will be published. These summaries will not exceed one side of a page (21×27cm).

After the Congress the different restatements worked out in the work-shop will be published.

FEES :

About 150,00F (US \$ 30) for the members
50,00F (US \$ 10) for the accompanying persons.

INFORMATION :

FURTHER INFORMATIONS ABOUT THE CONGRESS WILL BE GIVEN ONLY TO THOSE WHO WILL RETURN THE INCLUDED CARD BEFORE MAY 1st 1972.

ACCOMODATION :

Lodging and meals will be supplied by the "Cité Universitaire,, for the approximate price of 30,00 F a day per person (US 6 \$) or in hotels at higher prices.

The agency in charge of the Congress is "Agence Havas,, PARIS.

CORRESPONDANCE :

Every correspondance about the Congress must be send to :

CONGRES INTERNATIONAL DE PROTISTOLOGIE

Laboratoire de Zoologie et Biologie cellulaire
Les Cézeaux-B.P. 45
63-AUBIERE-FRANCE.

Président : Professeur P. DE PUYTORAC
Vice-Président : Professeur G. DE HALLER
Secrétaire : Professeur J. GRAIN.

トリコモナス研究会記事

かつて昭和38年から昭和40年度に亘り、「トリコモナス症の研究」の課題の下に、松林久吉教授（当時慶応義塾大学医学部教授、現在琉球大学保健学部長）を班長とし、12名の医学関係者により構成された文部省科学研究総合研究班が協同研究を行なった。その後班員の一人が交替で世話役となり、毎秋一堂に会してその後の研究成

果を持寄り情報の交換を行なうために作られたのが「トリコモナス研究会」である。

本会は昭和41年秋以来すでに5回に亘って各地で会合が持たれ、毎年出席者も増加し多大の成果を収めている。

昭和46年度は、大阪市立大学医学部高田季久助教授（現在は教授）が世話人となり次の様な会合が持たれた。

日時：昭和46年12月18日 13時～16時

場所：大阪市立大学医学部附属病院会議室

参加者：猪木正三教授（大阪大学）以下
25名（医学、薬学関係者）

話題：

- 1) 実験トリコモナス症における免疫リンパ球および血清抗体の防禦的役割
古谷正人（徳大・医・寄生虫）
- 2) *T. foetus* と *T. vaginalis* の malate dehydrogenase について
土肥美代子（徳大・医・寄生虫）
- 3) *T. foetus* 感染マウス腹水中の毒性物質について
伊藤義博（徳大・医・寄生虫）
- 4) 腔トリコモナスのアミラーゼ・アイソザイムについて
Gloria Enriquez（阪大・微研・原虫）
- 5) 腔トリコモナスのフラジールに対する耐性は増強しつつあるか？
浅見敬三（慶大・医・寄生虫）
- 6) Metronidazole および Tinidazole の経口投与に抵抗を示した腔トリコモナス症の1例
長峰敏治（順天堂大・産婦人科）
- 7) 調整した培地の保存について
長峰敏治（順天堂大・産婦人科）
- 8) *Trichomonas vaginalis* 感染における嫌気性細菌の臨床意義
青河寛次（神戸中央病院・産婦人科）
杉山陽子・山路邦彦（近畿母児感染症センター）

次期会合の予定：

世話人：青河寛次博士（社会保険神戸中央病院）

場所：神戸市（神戸商工貿易センタービル）

日時：昭和47年9月9日、10時

以上の通りであるが、本学会と関連深い会であり、次回より医学関係以外の方々の出席も大いに期待されている。（会費不用、出席自由）

出席希望者は本学会事務所にお申出下さい。

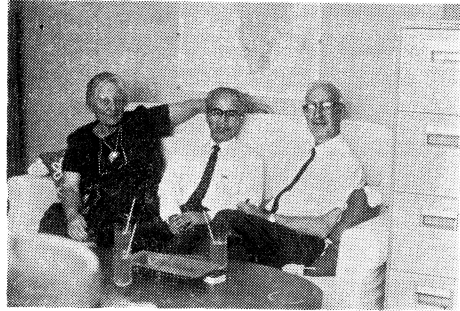
ゾウリ虫の交配型発見 35 周年を迎えて

米国インディアナ大学の T.M. Sonneborn 教授がゾウリ虫の交配型を発見されたのが1937年、今年はそれから数えて丁度35年目に当るので、同大学動物学教室ではこれを記念するため、種々の催が計画されております。

本学会々員中には、教授の下で親しく研究された方もあり、また仕事の上で教授となんらかの関係をお持ちの方もいると思いますので、ここにニュースとして掲載し、お祝いの言葉に代えさせて頂きたいと思っております。

教授は本年68才の誕生日を迎えられますが、いってお元気で、いまなお試験管を握って昼夜を分たず研究に没

頭されておられると伺っております。いつまでもご健康に、ご活躍あらんことをお祈りしてやみません。(猪木)



Sonneborn 夫妻と筆者

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。

編集後記

今後、各巻第1号には本学会の記事のみならず、原生動物学に関する内外の種々な会議や例会の記事をお知らせの形式で掲載することとしました。各分野において色々な会合がもたれていることと思いますが、会員相互の連絡を密にするため、その概要を事務局までお報らせいただければ幸いです。

第2号発行のための御投稿をお待ちしています。本誌は広く諸外国の関係学会並びに機関に送付いたしておりますので、本会発展のために多数の方々の投稿をお願いします。受付締切は12月31日ですが多少遅れても結構です。

事務局よりのお願いとして、会費未納の方は至急御納入下さいます様に。(高田)

原生動物学雑誌 第5巻 第1号

The Japanese Journal of Protozoology Vol. 5 No. 1

昭和47年7月15日 印刷

昭和47年8月1日 発行

編集兼発行人：猪木正三

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(068)78-5121代(内線3132)

振替口座：大阪7796

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 電話(075)802-0366

Office of the Editorial Board

c/o Department of Protozoology, Research Institute for
Microbial Diseases

Suita, Osaka, 565, Japan