

昭和49年8月
August, 1974

原生動物学雑誌

第7卷 第1号

*the Japanese Journal
of Protozoology
Vol. 7 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7巻 第1号

目 次

第7回日本原生動物学会大会概況

講演目次

特別講演「核外 DNA の Phylogeny と遺伝学的活性について ……石田 政 弘

一般講演

第4回国際原生動物学会に参加して

猪 木 正 三

本会記事

ニュース

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 稻 葉 文 枝 尾 崎 文 雄 角 田 清 高 田 季 久

中 林 敏 夫 樋 渡 宏 一 藤 田 壽 吉 盛 下 勇

Committee of the Japan Society of Protozoology

Shozo Inoki (President)

Keizo Asami, Fumie Inaba, Fumio Osaki, Suehisa Takada, Kiyoshi Tsunoda, Toshio Nakabayashi,
Koichi Hiwatashi, Jinkichi Fujita, Isamu Morishita

原生動物学雑誌 編集委員

猪 木 正 三 (委員長)

稻 葉 文 枝 尾 崎 文 雄 高 田 季 久 小 野 忠 相

Editorial Board

Shozo Inoki (Chief)

Fumie Inaba, Fumio Osaki, Suehisa Takada, Tadasuke Ono (Secretary)

第7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 稲葉文枝博士

会場 奈良女子大学理学部生物学教室
奈良市北魚屋西町

会期 昭和48年11月25日(土)

日程

9:25	開	会
9:30~11:30	一般講演	(1~8)
13:00~13:30	総	会
	幹事報告	
13:30~14:30	特別講演	
14:30~16:15	一般講演	(9~15)
16:15	閉	会

講演目次

特別講演

核外 DNA の phylogeny と遺伝学的活性について ……石田 政弘 (京大・原子炉実験所)

一般講演

1. *Euplotes patella* の並列と直列対合について ……片島 亮 (広島大・理・動)
2. アメーバの透明冠の正体について ……菅野 文和*, 石井 圭一 (法政大・教養・生物)
3. アメーバの変形に及ぼす各種イオンの効果 ……島村初太郎*, 堀上 英紀 (法政大・教養・生物)
4. 土壌アメーバ *Naegleria gruberi* の鞭毛形成の調節
……………大久保舜三*, 猪木 正三 (阪大・微研・原虫)
5. ニホンカモシカにおけるルーメン内繊毛虫類
……………今井 壮一*, 大関 好明, 扇元 敬司 (東北大・農・家畜衛生)
6. 植物疫病菌 *Phytophthora capsici* 遊走子の生物対流に関する一考察
……………宮田 善雄 (京都府大・農・植物病理)
7. *Trichomonas foetus*, *Trichomonas vaginalis* の ribosome および
ribosomal RNA に対する温度の影響
……………林 弘三*¹⁾, 林 宣子¹⁾, 岡 好万¹⁾, 古谷正人²⁾, 伊藤義博²⁾, 尾崎文雄²⁾
(1): 徳島大・養護教, 2): 徳島大・医・寄生虫)
8. 抗核抗体による原虫類の免疫細胞学的方法による検討
… 金山良春*¹⁾, 加藤則之¹⁾, 堀口哲雄¹⁾, 梶浦 晟¹⁾, 井上隆智¹⁾, 前田泰生¹⁾, 塩田憲三¹⁾, 宇仁
茂彦²⁾, 井関基弘²⁾, 高田季久²⁾ (1): 大阪市大・医・一内, 2): 大阪市大・医・医動物)
9. *Eimeria tenella* と *Toxoplasma gondii* におけるアクリジン
オレンジ顆粒の肥大現象について
……………小山 力, 熊田三由, 宮代正子* (予研・寄生虫), 岩淵 功 (農工大・農・家畜衛生研)
10. *Toxoplasma gondii* Beverley 株シストの細胞化学的研究(1)
……………小山 力, 熊田三由, 宮代正子 (予研・寄生虫), 岩淵 功* (農工大・農・家畜衛生研)
11. 野外分離 oocyst 由来 *Toxoplasma* のネコに対する感染試験
……………伊藤進午*¹⁾, 角田 清¹⁾, 西川洋昭²⁾, 松井利博³⁾
(1): 家畜衛試, 2): 日獣大, 3): 松研)
12. 遠心分画法による *Trypanosoma gambiense* 感染防御抗原の分析
……………古谷正人*¹⁾, 伊藤義博¹⁾, 尾崎文雄¹⁾, 林 弘三²⁾, 岡 好万²⁾
(1): 徳島大・医・寄生虫, 2): 徳島大・養護教)

13. *Trypanosoma gambiense* の kinetoplast に対する
Hydroxystilbamidine の効果……………小野忠相*, 猪木正三 (阪大・微研・原虫)
14. *Trypanosoma* の核およびキネトプラスト核酸の microspectrofluorometry
…………… 猪木正三¹⁾, 尾崎文雄²⁾ (1): 阪大・微研・原虫, 2): 徳島大・医・寄生虫)
15. 八重山諸島の Dictyosteliaceae について
……………萩原博光 (国立科博)

特 別 講 演

核外 DNA の phylogeny と遺伝学的活性

石 田 政 弘

京都大学原子炉実験所

Phylogeny and genetic activity of the extra-nuclear DNA

Masahiro R. Ishida

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

葉緑体やミトコンドリア, キネトプラストに, これら核外オルガネラ特有の DNA が存在していることが確認されたことは, 遺伝学的にみても非常に重要なことであり, さらに次のような問題点解明のための基礎を与えたものといえよう.

- 1) 核外オルガネラの進化的起源を, その中に含まれる DNA 分子の phylogeny の上から考察することを可能にした.
- 2) 細胞質遺伝現象を DNA の分子レベルで解析することができる.
- 3) オルガネラの自己増殖性や形態形成の問題を 遺伝情報源にまでさかのぼって考察することを可能にした.

1. 核外オルガネラ DNA の分子細胞学的特徴.

次に分子細胞学的にみたオルガネラ DNA の特徴を列記しよう. 1) 核外オルガネラに存在する DNA 分子は, Watson-Crick の二重らせん構造のレベルか, またはそれに近い低次構造で存在し, 細胞の生活環のどの時期においても, 染色体のような高次構造をとらない. 2) DNA 分子は一般的に環状形を示す場合が多い. 3) 環状 DNA 分子の長さはオルガネラに特徴的である. ミトコンドリアの場合, 生物界を通じて $5\sim 6\mu$ であり, キネトプラストでは $0.3\sim 0.7\mu$ であるが, とくにある種のものでは非常に長い線状形のものもある. また葉緑体ではミトコンドリアのものよりはるかに長く, 種によって大きな差異がある. (ユーグレナ, 43μ 環状; アセタブラリア, 419μ 線状). 4) 5-メチルシトシンはこれらオルガネラ DNA 中には含まれていない. 5) DNA 分子は単独で存在し, ヒストンと結合して核タンパク質を形成していない. 6) DNA 分子内に rRNA シストロンの redundancy はない. 従って仁形成もみられない.

以上のように核外オルガネラ中に存在している DNA の諸性質や存在様式は, バクテリアの場合ときわめて類似的であり, たとえ eukaryote の細胞中に存在していても, 常に "prokaryotic" な性質を示す.

2. 核外 DNA の GC 量の phylogeny

ウイルスやバクテリアに含まれている DNA 中の GC 含量は, $20\sim 70\%$ の広範囲な分布を示すが, 高等動物や高等植物の核では 40% 附近に高い収斂を示す. 一方藻類 (クラミドモナス, ユーグレナ,

アサクサノリ等)の核 DNA の GC 量は、50~60%で比較的高い値を示すが、これらの藻類の葉緑体 DNA では20~40%であり、核の場合とその分布域に大きな差異がある。しかしながら高等植物の葉緑体 DNA は核のものと同じように40%近くに分布域があり、40%収斂を示すのが特徴である。

一方ミトコンドリア DNA の GC 量も下等生物ほどその変異域は大である。たとえば、ゾウリムシ、トリパノゾーマ、ユーグレナ、クラミドモナスなどは20~50%の分布域を示す。両生類では30~40%、鳥類では40~50%、高等植物やほ乳類では40%近くに収斂する傾向を示す。トリパノゾーマのキネトラプストの場合、GC 含量は33~36%で、核は41~44%である。

このように、進化とともに核 DNA のみでなく、核外オルガネラ DNA の GC 量も40%収斂を示すことは明かな事実であるが、分子進化の上からみてこのような収斂性の生物学的意味やその機構の解析が今後重要な問題となる。

3. 核外オルガネラ DNA の遺伝的活性

核外オルガネラ DNA にどのような遺伝子が含まれているかは細胞質遺伝学上からみても重要な問題である。現在もっともよく解析が進んでいるのは rRNA シストロンの問題である。一般的に真核生物の細胞質は 80S リボゾームを、葉緑体にはバクテリアと同じ 70S リボゾームが含まれる。この 70S リボゾームの rRNA (16S, 23S) のシストロンは、葉緑体 DNA 上にあることが見出されている。また 70S リボゾームの構成タンパクのあるものは葉緑体 DNA によって支配されている可能性もある。光合成に関係のある酵素 RuDP-carboxylase の large subunit は葉緑体 DNA 上に、small subunit は核支配であることも明らかにされつつある。一方ミトコンドリアの場合も、その中に含まれるリボゾーム RNA はミトコンドリア DNA 上にそのシストロンが存在している。またミトコンドリアの内膜はミトコンドリア DNA 支配である可能性も出されている。このように核外 DNA 上に存在する遺伝子の種類が次第に明かにされつつあり、これとともに核外オルガネラの形態形成が、核およびオルガネラ DNA のどのような遺伝的支配関係によって行なわれるものであるかも明かにされよう。いずれにせよ現在は“organelle genitics”の基礎造りの時代といえよう。

 一 般 講 演

1. *Euplotes patella* の並列と直列対合について

片 島 亮
 広島大学理学部動物学教室

Side by side and head to head union between conjugants of Euplotes patella

Ryo Katashima

Zoological Laboratory, Faculty of Science, Hiroshima University, Hiroshima

繊毛虫は卵形で、腹側には前縁からやや左側にかたよって逆三角形の細胞口域が開き、その前と左縁に沿って膜板帯が発達している。対応するどの接合型を混合しても、2個体が口域を含む体の左側を重ねて並列的に結合する対をつくる。系統 BT の異接合型を混合すると、並列対のほか、2個体が向い合って前端部で結合する直列的な対がつけられる。関連する知見は下毛類繊毛虫において今日まで報告されていない。今回は、両方の接合対の形成過程における相異点、並びに直列接合対における核変化について得られた成果を報告する。特に、前者において、膜板が対合に際して重要な働きをもっていることがわかった。

材料として、接合型の異なる標準株および直列対合を行なう BT 株を使用した。方法として、これらの株間の適当な混合によって接合対をえた。接合対の生体観察、および0.05%酸性フクシン液による繊毛器官の一時染色によって、接合初期における繊毛器官の変化を観察した。他方、Delamater 氏の核染色法によって、接合対の核変化をしらべた。

2つの BT 株の混合で得られた接合対のうち、並列と直列の比は平均57:43%、両株の一方と標準株の交雑でえられる比は84:16%、対照では100:0%であった。

直列接合対の核変化は、減数前・減数・減数後分裂によって、並列対と同様に、2個の配偶核を生じる。移動核の運ばれる方向に、これを受取るべき接合体が位置していないために、移動核は体外に放出される結果、静止核(n)だけが残る。または、移動核が放出されないで

後方に運ばれて、同一起源の静止核と結合して合核(自家受精による2n)ができる。このことは、並列接合対の他家受精による合核と著しく異なっている。直列接合対において、静止核または合核は続いて2回の分裂を行ない、接合完了体となり、新大小核を分化する。完了体の単離培養では、その39%がクロンに生長することができる。

対合に直接関係する口域の膜板についてのべる。三角状の膜板(長さ30 μ)が口域の前と左縁に沿って平行に並んで膜板帯をつくるが、その始点から第1~第8膜板の基部は背側、第9~第15膜板のそれは腹側にある。前者は細胞の前方に、第9と第10膜板はななめ左方向に、第10~第15膜板は左方向に伸びている。各膜板は他物に付着する性質がある。

並列対合では、2個体が底面を這っている状態で向い合い、一方の細胞の第7・8・6・5膜板の先端が他方の第5・6・7・8膜板のそれと接触する。このような膜板は底面から立ち上るようにして接着するにつれて、両細胞も立ち上り、腹面を合せるようになると、激しい回転運動を始める。次の段階では、側方膜板(第9—第15)が相手の口壁に付着することによって、前方膜板の接着は解消されるが、口域は広範囲にわたって重複し、膜板帯に内接する囲口板(peristomal plate)が密着するようになる。両者間に細胞質結合が完成されてから小核分裂が誘導される。接合開始よりこの時期まで約40分間を必要とする。その後、第9~第15膜板は細胞質に吸収されるが、第1~第8膜板は接合完了の時点まで残っ

ている。

直列対合では、対向する2個体が前方膜板ではなくて、両方の側方膜板（第9・10・11・12と第12・11・10・9）が先端でそれぞれ接触する。対応する膜板は、底面からせり上るようにして接着する。これにともなって両細胞は左体側を上にして立ち上り、腹面の先端部（collar）を接触させて、緩慢な横転運動を行なう。接合対では、さらに一方の前方膜板が相手の口域の壁に附着して、腹面の接触域が増加する。このような対では、前後軸の逆になった開口板が密着し、細胞質結合が完了すると同時に、側方膜板の退化と小核分裂がおこる。かくして、直列対合の特色は、前方と側方膜板の働きの順序が正常な場合の逆になっている点である。

上記の対合のほかに、一方の細胞の前方膜板と他方の側方膜板が接触する場合がある。これでは、両細胞の先端がほぼ直角に接するようになる。対応する膜板がせり上るようにして接着するにつれて、両細胞は腹面前半部

を直角に接触させ、不規則な横転運動を行なう。しかしながら、両細胞の開口板は離れているために、細胞質結合には至らない。このような対は、小核変化および側方膜板の退化をおこすことなく、時期早尚に脱離する。

結論として、交配反応の最初の時期において、前方膜板間の接触が並列対合を、側方膜板間の結合が直列対合を導くと思われる。さらに、前者は他家受精を、後者は自家受精を運命づけている。このような両者の違いを制御している要因の分析は今後の課題である。

質問 菅野 文和（法政 教養 生物）

側面同士の接合のときにおこる核の出入場所と、頭頭でおこるときの出入場所は同じでしょうか。

回答 片島 亮（広島大 生物）

移動核は、接合体の接触域のきまった場所ででき、細胞質突起につつまれて、相手におしこまれる。両方の接合対では、移動核の通路が同じ場所に行ける。

2. アメーバの透明冠の正体について

菅野 文和, 石井 圭一
法政大学教養部生物学研究室

Morphological aspect of hyaline cap and hyaline ectoplasm in Amoebae

Fumikazu Kanno and Keiichi Ishii
Biological laboratory, Hosei University, Tokyo

一般にアメーバの前端部は機械的刺激に敏感であり、捕食行動、前進方向をコントロールする場所として、また流動力の発生場所であるとの説もあり、運動の機構を論ずる場合に重要な部域である。

アメーバの前進運動時において仮足前端部で顆粒がほとんど入らない透明な構造がしばしば見られる。この透明部分は従来“透明冠”と呼ばれていた。この構造については (1)ゾル構造、(2)ゾルとゲルのモザイク構造、(3)ゲル構造であるとの3説がある。

我々はこの透明冠とよばれる構造を16ミリ映画を用い、冠内に入る顆粒の動きを高性能のフィルムアナライザーにかけて詳細にコマ毎に解析した結果、次の結論を

得た。これまでいわれてきた透明冠なるものに2種類の異なった構造のあること。1つは仮足前端部でプラスマレンマに接している液胞性のもの、他の1つはゾルから成立っている透明外肉質であった。

材料としてスタムの異なる3種のアメーバ・プロテウスと土壌アメーバを用いた。液胞性透明冠の場合には、この液胞が仮足前端に接する前に内肉質と共に体中心部を流れているのがフィルムに連続的におさまられ、仮足前端に来たとき、いわゆる透明冠を形成した。体内で2つや3つの液胞も前端部で融合して1つの透明冠になることも同時に記録された。内肉流が活潑なとき透明冠は顆粒に包まれ液胞に見えないときが多く、これが透明外肉

質と見誤まれる原因とも考えられる。この連続観察の上
に、具体的な証拠として針で仮足前端のプラスマレンマ
を破壊したり、またカバーガラスで押しつぶしてこの液
胞を体外に強制的に出したところ明らかに膜を持った液
胞であることを確認し記録できた。

次に透明外肉質の構造については、低倍率（100倍）
ではほとんど透明に見える仮足内部が油浸の高倍率で観
察すると α 粒子とよばれる微小粒子が多数存在し、大き
くブラウン運動をしていることが判った。仮足内の透明
外肉質が巾広く、プロテウス型よりも α 粒子が多数埋ま
っている土壌アメーバの透明外肉質の内部の粒子の動き
を映画にとり解析した。仮足のある部域で前に伸びた
時、その直下の顆粒は流速が最高でその向きに流れ、他
の部分の顆粒は一斉にその向きに流れ、伸長しないで静
止しているプラスマレンマ直下の顆粒は向きは伸長部
へ、流速は最低であった。この流速分布から見て透明外
肉質の内部は明らかにゾルであると判断できる。なおこ
の構造は押しつぶしたり、針で破壊しても特に認められ
る液胞性のものはなかった。

どのアメーバ体側のプラスマレンマ直下にも透明な構造
が見られ、透明外肉質とよばれている。これは上述の仮
足内透明外肉質と続いており、この中にも α -粒子や他

の顆粒がアメーバの前進方向と同じ向きに動いているの
が確認された。フィルム解析の結果顆粒の流速分布はプ
ラスマレンマ直下で最高、外肉質に接する部分で最低で
あった。プラスマレンマ直下の部分が速いのはプラスマ
レンマ自身も前方向に直下の透明外肉質と同じ速さで動
いていることから理解できる。この動きの解析で粒子
が平行に動いたり、またしばしば粒子相互で交叉する
という記録から、これら体側の透明外肉質も上述の仮足内
透明外肉質と同様ゾルの構造であると確認できた。

回答 小山 力（予研 寄生虫）

1. 透明冠に2種あることは、各種アメーバに一般的
にみられるものと考えてよいでしょうか。

2. 透明冠内に出現する vacuole の収縮胞との関係
や、その本性について御教示下さい。

回答 菅野 文和（法政大 教養）

1. ほとんど見えるものは透明外肉質の方で、透明冠
の方はおもに特殊な条件（例えば泉流現象時など）の
ときに見られる。

2. 透明冠の液胞は収縮胞と明らかに異っている。そ
の生体内における役割については、今のところ不明であ
る。

3. アメーバの変形に及ぼす各種イオンの効果

島村初太郎，堀上 英紀

法政大学第1教養部生物学研究室

Effect of some ions on the deformation of Amoeba

Hatsutarō Shimamura and Hideki Horigami

Biological Laboratory of Hosei University, Tokyo

自由生活をするアメーバ・プロテウスにおいて、多細
胞動物体を構成する体細胞と生理的差異を示す現象を発
見した。

それは、アメーバーを培養液中より蒸溜水中に移すと
一般細胞のように細胞破壊をおこさず、特異な放射状形
態をとり、長時間にわたって、その変形を保ちつづけ、
再び培養液に入れると、もとの形態に戻り、これらを何
回繰り返しても、同様の変形をするという現象である。

この変形は、アメーバ・プロテウスに限った現象ではな

く、他の種、マヨレラにおいても同様であった。

この変形をおこさせ、あるいは、正常な自由生活のア
メーバの形態に戻させる要因は、各種イオン溶液にアメ
ーバを入れ、検討した結果、カルシウムが、特異的、か
つ選択的に作用しているという事がわかった。

蒸溜水中のアメーバの変形は、アメーバ本体が球状に
なり、培養液中ではみられない細い仮足を放射状に数本
出すことである。採集地の異なる2種のアメーバ・プロ
テウス、約800個体について比較すると、一方は主とし

て、5～6本のやや太く、先端に少量の顆粒をもった仮足を示し、他は4～5本の先端が細く、内部に顆粒をもたない仮足を示す傾向がある。その蒸留水に対する反応率は、培養液中で活発に運動しているもののみを使用した結果では約98%以上で、その時間的変化は速く、1～4分のうちに殆どのアメーバは変形を完了する。つぎに、これら蒸留水中のアメーバを培養液中に戻すと、同じように1～2分のうちに約99%以上が原形に復帰した。その際、変形の経過をたどって観察すると、蒸留水中のアメーバにみられる数本の仮足は原形に復帰したものにみられる仮足とは無関係であることが判明した。この培養液の陽イオン組成は、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムからなり、pHは6～7、濃度は 3.5×10^{-4} モルである。この培養液に戻した時のアメーバの原形復帰の要因は何かを調べた。すなわち培養液と等張、かつ等水素イオン濃度に調製した、塩化カルシウム、塩化カリウム、塩化ナトリウム、塩化マグネシウムの各単一溶液、カルシウムのみを取り除いた等張培養液、対照としての蒸留水、等張の蔗糖液にそれぞれ放射状の変形アメーバを移し、その原形復帰の反応を観察した結果、塩化カルシウム液のみが、選択的に影響を与え

る事がわかった。したがって、この現象は、滲透圧、移しかえる時の機械的刺激、あるいは、カルシウム・イオン以外の他の陽イオンの影響ではなく、カルシウム・イオンによるものと判定された。

そこで、カルシウム・イオンの有効濃度についての実験をおこなったところ、 2×10^{-4} モルから、 5×10^{-4} モル濃度が、アメーバの原形復帰の有効閾値濃度であるという結果を得た。この濃度は、培養液中のカルシウム・イオン濃度、 1×10^{-4} モルとほぼ一致する値である。なお、 1×10^{-5} モル以下の低濃度のカルシウム液に、正常な自由生活をするアメーバを入れると蒸留水とまったく同様の変形をし、 1×10^{-1} モル以上の高濃度のカルシウム溶液中に入れると、培養液中のものも、蒸留水中のものも、いずれも細胞破壊をおこした。

質問 小山 力 (予研 寄生虫)

1. この形態変化を、どのように実際分類同定にあたって考慮したらよろしいか教えてください。

回答 島村初太郎 (法政大 教養)

蒸留水中に入れてみるのもあるいは一方法かもしれませんが、もっと多数のものについて検討してみないとはっきりしたことは申し上げられません。

4. 土壌アメーバ *Naegleria gruberi* の鞭毛形成の調節

大久保舜三, 猪木 正三

大阪大学微生物病研究所原虫学部

Control of flagellum formation in Naegleria gruberi

Shunzo Okubo and Shozo Inoki

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

土壌アメーバの1種 *Naegleria gruberi* は水に浮遊させると通常2本の鞭毛形成がおこる。私達はこの鞭毛形成を organelle 形成—細胞分化の1モデルとして研究を行なった。アメーバを0.02M トリス緩衝液に浮遊させ28°Cで振盪すると、30～40分で鞭毛虫型が出現し、90分から120分で90%以上の虫体は鞭毛虫型に変る。Actinomycin D (100 γ /ml) や cyclohexamide (10 γ /ml) を振盪直後に加えると鞭毛形成は完全に抑えられる。Actinomycin D を30分目に加えたのでは無添加の場合と同様なパターンで鞭毛形成がおこる。cyclohexamide

を30分目に加えたときは鞭毛形成の頻度は相当減少する。このことから鞭毛形成の induction は DNA レベルで、すなわち gene activation が関与していると考えられる。また cyclic AMP が鞭毛形成や運動に抑制的に働くことが *Tetrahymena* や *Chlamydomonas* で報告されてきたが、*Naegleria* の鞭毛形成も抑制することがわかった。しかしこの効果は cyclic AMP に特有な現象かどうか再検討中である。

つぎに電子顕微鏡による鞭毛形成を観察した。アメーバ型では Fulton や Shuster の述べている通り鞭毛基粒

体 (basal body) やその前駆体と考えられる構造物は全く認められなかった。induction 後時間を追って虫体を固定、電顕でしらべたところ、核膜に接して electron-dense body の出現が屢々認められるようになる。ついで殆んど完成した基粒体が dense body の先端に、時には細胞質の中央に現れる。形成途上の基粒体の構造物をとらえることは出来なかった。electron-dense body は rhizoplast と呼ばれる構造に発展するように見える。このように基粒体の形成は全くの de novo で、外の原虫や動物と異なる点である。

一方増殖に関する温度感受性突然変異を分離していたが、そのうち ts-2 株は40°C60分の処理で高頻度に多鞭毛を形成することがわかった。私達のもちいている親株ではかかることはない。Dingle は高温処理による多鞭毛形成は *Naegleria* の特徴と報告しているが、むしろ突然変異による特異な反応と考えられる。電顕で多鞭毛形成虫体を観察すると数個 (2個以上) の基粒体が観察されるが、その近くに electron-dense の granula 様構造物があり、それより微小管が多数走り出ている像がみとめられた。ts-2 突然変異は微小管の形成調節が何らかの異常で、高温処理により多数の基粒体を形成するのかも知れない。現在のところ適当な遺伝分析手段がないので、多鞭毛形成能と温度感受性とは1個の遺伝子の変異によるものかどうかわからない。

質問 樋渡 宏一 (東北大 理)

ts mutants の induction は何で行なわれましたか?

回答 大久保舜三 (阪大 微研)

紫外線照射により突然変異を分離していますが、紫外線照射後 caffein 含有プレートで一旦増殖させたのち、selection しました。caffein が UV 傷害の修復を阻害するためにもちいています。Nitrosoguanidine でもとれ

ます。

質問 宮田 善雄 (京都府大 農)

多鞭毛の遊走子型のアメーバは、通常の2鞭毛のものと大きさは同じでしょうか。私は藻菌類の遊走子に関する研究を行なっておりますが、時々、同様の形態をした多鞭毛の遊走子を観察致しております。それらは何らかの原因で個々の遊走子への分割が行なえなかったものと解釈いたしておりますのですが……。

回答 大久保舜三 (阪大 微研)

多鞭毛形成株は温度処理にかかわらずアメーバ型では正常の野生株に比しやや大きいのですが、これが多鞭毛の原因 (diploid?) とは考えていません。また多鞭毛虫型は2本の鞭毛虫に比し大きいので御質問の通り温度処理による分裂、ことに核分裂阻害による polyploid のためとも考えられます。しかし、いまのところ微小管の形成調成異常による basal body 形成の異常な induction と考えています。

質問 石井 圭一 (法政大 生物)

Naegleria gruberi の温度感受性株の温度処理をしない時の鞭毛数は、他の株と差異はありませんか?

回答 大久保舜三 (阪大 微研)

私達もちいている野生株では温度処理の有無にかかわらず、3本以上の多鞭毛虫型は鞭毛虫型の1~2%程度です。ts-2株では温度処理により50%以上が多鞭毛虫型になります。処理をしないと2~3%程度です。

追加 長田 信 (川崎市立病院)

寄生性の *Trichomonas vaginalis* や *Trichomonas muris* などに常在する鞭毛、基粒体、いわゆる Costae とほとんど同一の微細構造が、ある条件の下で、*Naegleria gruberi* に於て、全く新に形成されることは、興味深い。

5. ニホンカモシカ (*Capricornis crispus*) におけるルーメン内繊毛虫類

今井 壮一, 大関 好明, 扇元 敬司
東北大学農学部家畜衛生学教室

*Ciliated protozoa in the rumen of the Japanese serow
(Capricornia crispus).*

Soichi Imai, Komei Ozeki and Keiji Ogimoto

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai

反芻動物のルーメン内に棲息する繊毛虫類のうち、ウシ、ヒツジ、ヤギなどの家畜反芻動物のものについては、我が国でも多くの調査報告がなされているが、野生反芻動物に関しては、海外においてアンチロープ、トナカイ、またシカ類についての報告を見るのみで、我が国の野生動物ルーメン内繊毛虫は調査されていない。

著者らは、本邦特産の野生動物である、ニホンカモシカのルーメン内容を検索し、そこに棲息する繊毛虫類の同定および繊毛虫数の測定をおこない、ウシ、ヒツジのルーメン内繊毛虫類と比較した。

材料は、1970年宮城県面白山付近で捕獲され、以来仙台市八木山動物公園において飼育されているオスのニホンカモシカより口腔カテーテルで採取した。このカモシカは動物園において、捕獲以来ほぼ一定して固型飼料、ニンジン、リンゴ、サツマイモ、ニボシおよび乾草あるいは青草を給与されており、飼育中他の反芻動物との接触はみられなかった。

採取したルーメン内容物は、一部を一定量の10%フォルマリンで固定、繊毛虫数測定用とし、残りは二重ガーゼろ過後、前報(原生物誌 6, 11)に従ってろ液を30%ショ糖液で遠沈して、0.8%食塩水で洗浄した。この半量に0.1%メチルグリーン10%緩衝フォルマリン溶液を投入し、同定用試料とした。また半量は1%グルタルアルデヒドおよび2%過マンガン酸カリウム水溶液で固定し、アルコール系列により脱水したのち一部は無水アセトンを2回通し乾燥、残部は酢酸イソアミルに置換し、日立臨界点乾燥装置により乾燥して走査電子顕微鏡用試料とした。

検索の結果、*Dasytricha ruminantium*, *Entodinium nanellum*, *E. simplex*, *E. lobosospinosum*, *E. ekendrae*, *E. longinucleatum* および *Elytroplastron bubali* の7種の繊毛虫が検出された。このうち、*Elytroplastron bubali* を除く6種の繊毛虫は、ウシ、ヒツジに見い出されるもの

と計測値、形態学的性状ともによく一致した。一方、*Elytroplastron bubali* は現在までに我が国の反芻動物のルーメン内からは報告されていない。本種はウシ、ヒツジに頻繁に見られる *Polyplastron multivesiculatum* と類似しているが、体長 139 μ 、体幅 80 μ で、*Polyplastron multivesiculatum* の 165 \times 110 μ に比較して小型であること、明瞭な大骨板を3本もつこと、体表構造のパターンが異なること、また収縮胞が常に4個であることから容易に区別された。*Ely. bubali* の顕微鏡下での観察では、植物片を摂取し、また *E. longinucleatum*, *Dasytricha ruminantium* などの小型繊毛虫を捕食するなど、ウシ、ヒツジにおける *Diplodiniinae* 亜科の大型繊毛虫類、特に *P. multivesiculatum* と類似した性状が見られ、本種がこれらの繊毛虫と同様の機能をニホンカモシカのルーメン内で果たしていることが示唆された。また時として、微細な粒状物が、繊毛開口部を除く体表一面に付着している個体が観察された。走査電顕像においてもこの粒状物が見られたが、これが細菌か否かは明らかにすることができなかった。

本種は現在までにスイギュウ(ソビエト・カフカス地方)、コビトコブウシ(インド、セイロン)およびウシ、ヒツジ(中国)から報告されており、西南～東アジア地域の各種反芻動物のルーメン内に分布していると思われるが、我が国特産種であるニホンカモシカから本種が検出されたことは興味深いものと考えられる。また野生動物において、家畜反芻動物のルーメン内繊毛虫と共通の種および全く異なった種が混合して認められたことは、宿主である反芻動物とこれら繊毛虫類との関係について興味ある問題を示唆していると思われる。

繊毛虫数については、3回の調査で平均 1.4×10^6 /ml が認められ、ウシ、ヒツジにおけるルーメン内繊毛虫数の約 5×10^5 /ml と比較して、やや高い値が得られた。

この値は材料採取時における飼料, 季節, 宿主の健康状態および飼料摂取後の時間など種々の要因によって左右されるものと考えられるが, ニホンカモシカのルーメン内において, 種類数が少ないにもかかわらず, 家畜反芻動物のルーメン内繊毛虫密度とほぼ同程度もしくはそれより高い値が認められたことは, これらの繊毛虫群が宿主に対して果たしている機能が, 家畜ルーメン内繊毛虫群と同程度であることを示唆しており, 今後例数を増加させ, 詳細な検討をおこなうことが必要と思われる。

質問 菅野 文和 (法政大 教養)

寄生する繊毛虫の種類は, 飼料の方に原因があるの

か, または宿主側の胃の方に原因があるのか, どちらでしょう。

回答 今井 壮一 (東北大 農)

飼料組成, 宿主の胃の状態ともに繊毛虫の種類構成を規定する factor の一つと思われますが, その他にも季節による Fauna の変動やヒツジルーメン内における *Polyplastron* と *Epidinium* のように共存できない種があるなど種々の要因が考えられます。また反芻動物のルーメン内への繊毛虫の定着は, 現在接触感染説が支持されており, 接触動物の Fauna が, 被接触動物の Fauna に大きな影響を及ぼすものと考えられます。

6. 植物疫病菌 *Phytophthora capsici* 遊走子の生物対流に関する一考察

宮田 善雄

京都府立大学農学部植物病理学研究室

Rheotactic explanation for the bioconvection of Phytophthora capsici zoospores

Yoshio Miyata

Laboratory of Plant Pathology, Kyoto Prefectural University, Kyoto

鞭毛を有する自由遊泳性の微生物の濃厚な懸濁液をペトリ皿のような容器に入れて静置しておくと, 間もなく, 比較的整った集合模様形成され, 顕微鏡では, 規則正しい対流現象が観察される。この現象を1961年 Platt は生物対流 (Bioconvection) と呼んだ。原生動物 (*Tetrahymena*, *Paramecium*), 緑藻類 (*Chlamydomonas*, *Polytomella*), ユーグレナ類, さらに細菌類 (*Escherichia*, *Pseudomonas*) まで広く観察が報告されており, 自由遊泳性微生物に普遍的な現象であると思われる。演者は植物病原性藻菌類の一種である *Phytophthora capsici* の遊走子に関する研究を行なっているが, この遊走子は多くの点で原生動物に類似していることは先に報告した通りであり, 顕著な生物対流模様を形成することにおいても例外でない。すなわち概して, 遊走子濃度が高くなるにつれて, 対流模様は点斑状から多角状に, 水深が厚くなるにつれて, 点斑状から放射線状に, また, 時間の経過と共に, 多角状から点斑状に, それぞれ移行する様相などは *Tetrahymena* などについて報告されている場合に非

常に似かよっている。この生物対流現象は, 森部(1973)らによって詳しく述べられているように, Benard cell で代表されるような熱対流現象に類似し, 自由遊泳性の微生物と流体との相互作用により生じた, 系の不安定性を解消するために発生した対流による, 順安定状態であると解される。しかしながら, なぜ系の不安定性を生ずるかということについては, Nettleton (1953) が, 負の向地性を挙げている以外に, あまり明確なものは示されていない。ここで, 巨視的な熱対流現象の一種とみなされる『みそしるの対流模様』との比較を行なってみた。すなわち, ガーゼで沔過したみそしるを加熱して, ペトリ皿にそそぎ, 生ずる対流模様の変化を, ストロボ撮影による8 mm映画法により比較してみると, 水層の厚さや時間的経過に伴う対流模様やその変化は, 遊走子の生物対流模様に類似しており, 特筆すべきは両者は写真の陰面と陽面の関係にあった。すなわち, みそしる対流模様において, 多角状あるいは点斑状を呈する透明部分は, 生物対流模様においては, 遊走子の集団を示す

不透明部分に相当していた。ここにおいて、演者は遊走子の遊走行動にみられるひとつの性質、走流性 (Rheotaxis) に注目してみた。この性質については、ガラス細管の管口より微小な流れをつくる装置を作成して確認したことは、すでに報告した。生物対流に関する走流性にもとづく説明は次のようになる。『ペトリ皿に入れられた水は、上下のわずかな熱の差から、微小な対流を生ずる。その対流に対して、遊走子が走流性を示すと同時に、鞭毛運動にもなって流速は助長され、遊走子の走流性による集泳がさらに高まり、集団模様が認められはじめ、全体がバランスのとれた対流となって準安定状態に達する。その後は、主として遊走子の運動量の低下に伴ない対流は刻々と変化し、集団模様も、それにつれて変化を示すのであろう。』前述したように、生物対流現象は熱対流現象に類似したものであると考えられ、短時間内においては、微生物の運動量（鞭毛の推進力と個体密度との積）と、坂井（1973）らが、ゴンズイの群れの行動のシミュレーションに用いているような前向走性と遠距離相互作用などの諸係数を導入することによって、非線形方程式系で記述することは、それほど困難でない

としても、環境（例えば、pH、温度、光など）の変化や、経時的な運動量の変化をも含めて記述するとなると、極めて複雑となるであろうし、とくに、演者らがかって示したように、それらが遊泳形態の変化をも伴うような場合には、不可能に近いと言ってよいのではなかろうか。

質問 菅野 文和（法政大 教養）

シャーレ内部の均一とも思える媒液の中で対流がおこるのは良く判るのですが、上方に向うのが多くの部分をしめて下がる部分が少なく且つ決まった形をとるのはどうお考えになるのでしょうか。

回答 宮田 善雄（京都府大 農）

対流ですから、上の流量と下の流量は等しいものと思われます。また、私にはよくわかりませんが、例えば有名なベナールセルのような規則正しい六角模様が形成されることは、熱力学の理論から十分に説明されているようです。このような生物対流とベナールセルとの問題については、森部氏が生物々理の13巻2号に詳しく述べておられます。

7. *Trichomonas foetus*, *Trichomonas vaginalis* の ribosome および ribosomal RNA に対する温度の影響

林 弘三, 林 宣子, 岡 好万
徳島大学養護教諭養成所

古谷 正人, 伊藤 義博, 尾崎 文雄
徳島大学医学部寄生虫学教室

Influence of temperature on ribosomes and ribosomal RNA prepared from Trichomonas foetus and Trichomonas vaginalis

Hiyomi Hayashi, Noriko Hayashi and Yoshikazu Oka
Training School for Nurse Teachers, Tokushima University, Tokushima

Masato Furuya, Yoshihiro Ito and Humio Osaki
Department of Parasitology, School of Medicine, Tokushima University, Tokushima

温度抵抗性微生物の中には高温によっても ribosome の機能が維持されている報告がある。また、その温度融解曲線は野生株に比べて T_m 値が高いという報告がある。ribosome の役割から考えると、生物の生存可能な温度

域と ribosome の温度抵抗性との間には密接な関係があると思われる。そこで生活温度域の狭い寄生性原虫 *Trichomonas vaginalis* と、これに比べて温度域の広い *Trichomonas foetus* から分離した ribosome を用いて、

それら ribosome に与える温度の影響について検討した。

ribosome の分離に当たっては、遠心回収した培養原虫を低張液中で処理した上、凍結融解法によって細胞を破壊し homogenate を作製した。12,000×g の遠心上清を Brij 58 (0.5%) で膜消化、次いで 45,000×g で遠心し、その上清を遠心管の上部 4/5 回収し、更に 144,000×g 2.5時間の処理で ribosome 画分を得た。*T. foetus* r-RNA は ribosome を冷 2-chloroethanol で 2 回処理し、遠心回収後凍結乾燥した。温度融解曲線及び紫外部吸収 (210–300m μ) 像の測定は ribosome 及び r-RNA を 0.01M phosphate buffer pH 7.0 (0.01M MgCl₂ 及び 0.06M KCl を含む) に懸濁して、O.D.₂₆₀ 0.3–0.6 に調整して行った。

T. foetus ribosome の場合は温度融解曲線測定時の温度上昇速度によってかなり違った T_m 値を得た。すなわち温度上昇速度 0.5°C/min では 45.2, 1°C/min, 6°C/min, 7°C/min でそれぞれ 50.5, 58.9, 60.8 であった。約40°C以上の一定温度条件で処理した場合 ribosome の 260m μ の吸光度が経時的に増加する結果から考えると、このことは *T. foetus* ribosome を40°C以上の温度に置いた時間に依存していると思われる。また、上昇速度が速い程深色効果が大きい結果を得たが、これは速やかな温度上昇によって r-protein が急速に変性不溶化し、一時的に透過率が低下するためと思われる。r-RNA の吸光度の増加と r-protein の変性 (不溶化) の両面からの ribosome 構造を観察するために以後の温度上昇または下降の実験はすべて温度変化 7°C/min で行なった。

T. foetus 及び *T. vaginalis* の ribosome, *T. foetus* の r-RNA の深色効果を比較すると、それぞれ T_m 値が 60.8, 55.9 及び 48.4 であった。更に温度融解曲線を比べると、*T. foetus* ribosome は約50°Cまでは吸光度増加が見られないのに対して、*T. foetus* r-RNA は25°Cから60°Cにかけて緩やかに増加した。*T. vaginalis* ribosome は30–60°Cで吸光度増加が見られ、*T. foetus* の ribosome と r-RNA の中間に位置した。この像から見ると、*T. foetus* ribosome の方が *T. vaginalis* に比べて各 r-protein 相互間及び r-RNA との結合が強固である

と思われる。

次に、深色効果の測定を50–55°C (*T. foetus* ribosome の吸光度増加の初期に当たる) で上昇を停止し、直ちに20°Cまで下降 (7°C/min) させ、再び温度上昇させて温度融解曲線を求めた。その結果、*T. foetus* ribosome の pattern は温度下降処理によっても、一度増加した吸光度は減少しなかった。そして、続く温度上昇によって残りの増加過程を進行した。一方、*T. vaginalis* ribosome は温度下降によって、上昇時とは異なった線上をたどって元の位置に戻り、続く温度上昇によってほぼ *T. vaginalis* ribosome の温度融解曲線と同様の像を示した。これらの結果は、*T. foetus* ribosome の subcomponents 間の結合の強さと温度による変化の不可逆性、また *T. vaginalis* ribosome の subcomponents 間の結合の緩さと変化の可逆性に何らかの関係を示唆している。更に、このことは各温度で測定した *T. foetus* 及び *T. vaginalis* ribosome の紫外部の吸光度像からも想起される。すなわち、*T. foetus* の場合40°Cまでは余り変化は認められなかったが、45–55°Cで subcomponent の結合状態の変化 (r-protein の不溶化) が認められ、60°C以上で r-protein の熱変性によって核酸 (r-RNA) の吸光度像への移行が観察された。これに対して *T. vaginalis* ribosome では、55–60°Cまで r-protein の不溶化などの変化は認められず、60°C以上で r-protein 熱変性による変化が見られただけである。

以上の結果から、40°C以下では、*T. foetus* ribosome は本質的構造変化は生じないが、*T. vaginalis* では緩やかな unfolding が起こっていると考えられる。40°C以上では、*T. foetus* ribosome は急激に会合状態の崩壊が見られたのに対して、*T. vaginalis* では60°C近くまで極端な崩壊は認められなかった。40°C以下の両種の ribosome の変化が、ribosome の活性と関係があるとすれば、低温で長時間放置されると生存できない *T. vaginalis* と生存可能な *T. foetus* のそれぞれの性質に合致するように思われる。40°C以上の ribosome の変化は、両種とも生存不可能であるにもかかわらず *T. vaginalis* の ribosome が可逆的と思われる結果が得られたことは興味あることである。

8. 抗核抗体による原虫類の免疫細胞学的方法による検討

金山良春, 加藤則之, 堀口哲雄, 梶浦 晟, 井上隆智, 前田泰生, 塩田憲三
大阪市立大学医学部 第一内科学教室

宇仁茂彦, 井関基弘, 高田季久
大阪市立大学医学部 医動物教室

Immunocytological study on Trypanosoma cruzi with antinuclear antibody

Yoshiharu Kanayama, Noriyuki Kato, Tetsuo Horiguchi, Akira Kazuura, Takatoshi Inoue, Yasuo Maeda and Kenzo Shiota

First Department of Internal Medicine, Osaka City University, Medical School, Osaka

Shigehiko Uni, Motohiro Iseki and Suehisa Takada

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

全身性エリテマトーデス (SLE) の患者血清中には細胞核に対する抗核抗体 (抗 DNA 抗体, 抗 Deoxynucleoprotein 抗体 etc.) が含まれている事は周知の事実である。本研究においては, 抗核抗体を含む SLE 患者血清のうちから抗 native-DNA 抗体を含む血清と抗 Deoxynucleoprotein 抗体を含む血清を選んで用い, 蛍光抗体法, 酵素抗体法を適用して *Trypanosoma cruzi* の核および kinetoplast の免疫細胞学的方法による染色を試みた。

<方法>

標本としては NNN 変法培養液 (高田) 中の培養型 *Trypanosoma cruzi* を生理食塩水で2回洗浄後スライドガラス上で空気乾燥し95%エタノールで30分間固定したものを使用した。染色は, 抗核抗体を含む血清を標本スライド上に添加し, 室温にて30分間作用させた後に phosphate buffered saline (PBS) にて洗浄した。蛍光抗体法を行なう場合は FITC 標識抗人 IgG 兔血清を更に30分間作用させ PBS で再び洗浄後, 蛍光顕微鏡にて観察した。酵素抗体法を行なう場合は peroxidase 標識抗人 IgG 兔血清を30分間作用させ PBS にて洗浄後 Diaminobenzidine (4HCl) 20-30mg/100ml 溶液に0.005%となるよう過酸化水素水を加えた溶液中で10分間反応させた後, 蒸留水で洗浄しアルコール系で脱水, キンロールで透明化し封入鏡検した。抗核抗体を含まない健康人血清を用いて染色し対照とした。また, 抗 native-

DNA 抗体を含む血清に対しては仔牛胸腺 DNA で抗 native-DNA 抗体を吸収し, 抗 Deoxynucleoprotein 抗体を含む血清に対しては合成した histone-DNA complex により Deoxynucleoprotein 抗体を吸収した血清を用いて, それぞれの染色対照として用いた。標本スライドに DNase (0.1mg/ml) を37°C, 1時間作用させた後 DNA 抗体を含む血清を用いて酵素抗体法で染色し, その染色性を検討した。

<結果>

1) DNA 抗体を含む血清による染色

抗 native-DNA 抗体を含む血清を *Trypanosoma cruzi* 虫体に作用させると, 核および kinetoplast に蛍光抗体法では特異蛍光を認め酵素抗体法でも特異染色されているのを認めた。特に kinetoplast は酵素抗体法による染色では長軸に対して3本の切れこみを認めラセン状に構築されているという可能性も示唆された。健康人血清を作用させても核および kinetoplast は特異蛍光染色されず酵素抗体法でも特異染色されなかった。また, DNA 抗体を DNA で吸収した血清を作用させても同様に特異染色はみられなかった。DNase 処理後抗 DNA 抗体を含む血清を作用させ酵素抗体法で染色したが, 核および kinetoplast の形状が不明瞭となり極く薄く染色されているのを認めるのみであった。

2) Deoxynucleoprotein 抗体を含む血清での染色

Deoxynucleoprotein 抗体を含む血清を念のため仔牛

胸腺 DNA で吸収した後に *Trypanosoma cruzi* 虫体に作用させ酵素抗体法で染色したが、弱いながら核および kinetoplast 共に特異染色された。Deoxynucleoprotein 抗体を histone-DNA complex で吸収した血清を作用させたが特異染色されなかった。

以上の結果から *Trypanosoma cruzi* の核および kinetoplast には native-DNA (2本鎖 DNA) が含まれている事が明らかになりました, その DNA の存在形態としては histone-DNA complex として存在している可能性が示唆された。

9. *Eimeria tenella* と *Toxoplasma gondii* における アクリジンオレンジ 顆粒の肥大現象について

小山 力, 熊田 三由, 宮代 正子
国立予防衛生研究所 寄生虫部

岩淵 功
東京農工大学農学部 家畜衛生研究所

Studies on hypertrophy of the acridine orange granules of Toxoplasma gondii and Eimeria tenella

Tsutomu Koyama, Mitsuyoshi Kumada and Masako Miyashiro
Department of Parasitology, National Institute of Health, Tokyo

Isao Iwabuchi
Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu

Toxoplasma gondii RH 株のマウス腹水内で増殖させた虫体を, Acridine Orange (AO) で染色し蛍光顕微鏡観察を行なうと, 虫体細胞質が赤染し, これをさらにできるだけ虫体の活性を保つような環境下に置くと, 細胞質内に著明な赤色顆粒が出現し, 時間とともに次第に肥大化するという現象が, すでに認められている。この顆粒の肥大前後で, Gomori の Acid Phosphatase (Acid Pase) 染色を行なってみると, Acid Pase 顆粒の肥大現象も同様に認められ, AO 顆粒と Acid Pase 顆粒とが間接的に一致することが予想され, おそらくこの赤色顆粒が lysosome に一致するものではないかと想像している。しかし, この AO 顆粒の本態はまだ明らかではない。そこで, 本研究ではいかなる要因により影響をうけ, またいかなる条件下で最も肥大現象を起こしやすいかに興味を持ち, 基礎的な検討を行なった。さらに, AO 顆粒と Acid Pase 顆粒とが同一物であるとの仮説を実証するために直接証明が必要と感じ, その検討もあわせて行なった。

1. AO 顆粒肥大現象を生起させるための条件の検討
RH 株感染後 2~4 日目のマウス腹水中の trophozoite を, 各種の培地 (マウス腹水, Hanks-Human serum-Human albumin 混液, 199培地) に入れ, 37℃に浸漬して AO 顆粒の肥大を起こさせた。その場合における AO 染色の時期や AO 濃度はさまざまで, 以下にそれぞれにつき説明する。さて, その結果は, 用いる虫体としては, AO 顆粒の肥大のためにはマウス感染後 2 日目の腹水内虫体が最良で, AO 濃度および作用時間は染色方法により異なり, AO 染色を最初に行ないその後培地中で顆粒の肥大を起こさせる場合には, AO 濃度 2 万倍, 3 分間の染色後虫体を培地中に入れるのが良く, AO を初めから低濃度で培地に入れて反応させる場合には, AO 濃度 3~5 万倍あたりが良かった。観察はいずれも AO 染色後 3 時間位反応 (肥大) させた後が適当であり, その後は次第に虫体の活性が低下するので, 早目に観察を終了することが望ましく, AO 染色の前処理時間は短いほど良かった。この前処理は AO 染色に先

立って虫体の medium 内浸漬を行なったもので、これは今後 AO 顆粒の本態を知る上で、虫体の代謝に影響を与えると考えられる阻害剤や顆粒の肥大を促進するような薬剤などを作用させる場合を考慮してのことであるが、全体としては、前処理を含めて肥大に必要な時間を3時間におさえることが虫体の活性を極端に低下させないために必要な条件と思われる。また、glucose を培地中に添加 (1 mg/ml) することは、虫体の活性を保ち、肥大を顕著にする上で有効であった。これは、Robbins & Marcus (1963) も述べているように、AO 顆粒形成作用がエネルギーを必要とすることに基づいているためと思われる。なお、同じ孢子虫類に属する *E. tenella* の merozoite でも同様に AO 顆粒の肥大現象が確認された。

2. AO 顆粒の本態

蛍光鏡検での AO 顆粒と普通鏡検での Acid Pasa 顆粒とが一致するという直接証明は *Toxoplasma* ではいまだなされていない。これは *Toxoplasma* の腹水内遊離虫体では可動的なため、同一虫体内の同一顆粒を終始追うことが困難だからである。そこで組織培養下の細胞内寄生虫体を用いて AO 顆粒の肥大現象を生鮮材料で観察撮影した後固定し、後刻その同一材料につき Acid Pasa 染色を行なって、Acid Pasa 陽性顆粒を同様に観察撮影すれば、写真の上で同一虫体内同一顆粒の局在の一致性を確かめることができると考え、以下のように組織培養法により検討した。すなわち、細胞として T_3 細胞 (マウス肺細胞由来) を、また medium として

MEM (Eagle) に10%仔牛血清を添加したものをを用いた。また培養容器としては小角チューブを用い、その中のカバースリップ上に細胞を増殖させた。培養温度は37°Cで、培養2日目に、*Toxoplasma gondii* RH 株 (マウス感染後2日目) 虫体を接種し、静置培養を行なった。虫体接種後24, 48, 72時間の各時期にとり出したカバースリップを AO 染色3分行ない、再び培地に入れさらに3時間培養を続けた。再培養後3時間に、肥大顆粒の認められた虫体の写真撮影を行ないマークを付した後、MEM で稀釈した 2% glutaraldehyde で 0~4°C で30分固定し、その後 Gomori の Acid Pasa 染色 (PbS 法) を実施した。次いで先にマークした虫体を再び普通光源で鏡検した。この方法により、ほぼ同様な位置に AO 顆粒と Acid Pasa 顆粒がみられたが、マークを付する際の技術的な問題に困難性があり、いまだに両顆粒の一致性を確認していない。

目下、さらに両顆粒の異同を確かめるべく研究続行中である。

質問 藤田 博吉 (日本獣医畜産大学)

アクリジンオレンジ顆粒分画を取りだしてライゾームとの異同についての検討をなされたのでしょうか。

回答 小山 力 (予研 寄生虫)

その検討はやっておりませんが、外国では、一般細胞でそのような検討をおこないほぼ一致するものとの成績を呈出しています。しかしながら原虫については現在報告がないと思います。

10. *Toxoplasma gondii* Beverly 株シストの細胞化学的研究(1)

小山 力, 熊田 三由, 宮代 正子

国立予防衛生研究所 寄生虫部

岩淵 功

東京農工大学農学部 家畜衛生研究所

Cytochemical studies on the cyst form of Toxoplasma gondii, Beverly strain (1) :

Tsutomu Koyama, Mitsuyoshi Kumada and Masako Miyashiro

Department of Parasitology, National Institute of Health, Tokyo

Isao Iwabuchi

Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu

近年、機能との関連で、各種酵素の検出が微細構造の上でなされつつあるが、技術上の問題のため、いずれの物質についても行ないうるという状態ではない。より多くの物質の検出を、電顕上で可能にすべく、われわれも研究を進めつつあるが、まず基本となる光顕レベルでの、系統的な細胞化学的研究が必要であると考え検討しつつある。又、シストの成長に伴う物質の増減についても、併せて検討した。

材 料

Toxoplasma gondii Beverley 株感染マウスの脳

方 法

1. 前処置：1. パラフィン法 2. 直接塗抹法—(A)脳ホモジネートの塗抹 (B)脳トリプシン消化後の塗抹の3法を、感染後1, 2, 3, 4週目のマウス脳で行ない、次の各反応を実施した。

II. 細胞化学反応

1. 核酸：Feulgen 反応, Pyronin-methylgreen 染色 (PM), RNase 処置。

2. 多糖類：PAS 反応, アミラーゼ処置, Alcian blue 8GX 染色 (Ab), Toluidine blue 染色 (Tb), ヒアルロニダーゼ処置。

3. 脂質：Sudan III 染色, Sudan Black B 染色 (SBB), Nile blue sulfate 染色 (Nb), プリジン処置,

4. 蛋白質：Ninhydrin-Schiff 反応 (N-S), 脱アミノ反応。

結 果

I. 核酸：Feulgen 反応では、核が紫色に染まり、核の

中心部に、不染の部分が、時々見うけられた。PM では、核は緑色に、細胞質は赤紫色に好染し、細胞質の赤紫色は、RNase 処置で消された。

II. 多糖類：PAS 反応では、シスト壁および細胞質内顆粒が好染し、アミラーゼ処置で消去された。細胞質は淡いピンク色を呈したが、アミラーゼで消化されなかった。虫体間質は、判然としなかった。Ab では、細胞質の鋭端部に1~2個の淡青青色の顆粒を、Tb では、核の両側に1個ずつのメタクロマジー顆粒を認めることが多かった。Ab 顆粒、Tb 顆粒ともに、ヒアルロニダーゼ処置により消去された。

III. 脂質：Sudan III および SBB では、著明な反応は現われず、プリジン処置群と差がなかった。Nb では、シスト壁および細胞質内顆粒が好染し、プリジンで消化された。細胞質は淡い紺色を呈したが、プリジン処置で変化がなく、虫体間質は判然としなかった。

IV. 蛋白質：N-S で虫体全体が、いわゆる「細胞赤化」の像となり、シスト壁も好染され、脱アミノ反応にて消去された。

以上の結果より、核にはDNA、細胞質にはRNAの存在が認められ、核の中央部には、RH株や他の原虫などにも認められるように、Feulgen 反応陰性の部分があり、エンドゾームと思われる。反応陽性でアミラーゼで消去される物質が、シスト壁および細胞質内顆粒に認められたが、その顆粒は、シストの成長に伴ってその数を増す傾向があり、*Toxoplasma* のエネルギー代謝の研究などから考えて、大部分はグリコーゲンだと思われる。

酸性粘液多糖の検出を目的として、Ab と Tb で染色した場合には、それぞれに対する陽性顆粒が認められた。しかしながら両者の局在は必ずしも一致せず、両顆粒の異同については、酵素反応、その他の方法を検討しつつ、目下研究中である。Nb では、磷脂質の検出を目的とし、同反応陽性かつピリジンで消去される物質が、シスト壁および細胞質内顆粒に認められた。一方、同時に観察した宿主側の脳組織にも強い反応が認められた。一般に、脳組織には磷脂質が豊富に存在しているとされていることから、本原虫にも磷脂質が存在するよう思える。この点は、磷脂質に対する他の反応を加味して、さらに追究中である。又、Nb 顆粒も、シストの成長に伴って、その数が増加する傾向を認めたが、その意義につ

いては現在不明である。

虫体間質は、PAS 反応と Nb 染色で微妙な態度を示したが、反応物質がごく微量ではっきりと検出できないのと同時に、前処置等で、なお検討を要する点が残されているのではないかと考え、さらに研究を続行したいと思う。

質問 今井 壮一 (東北大農)

お使いになった Amylase の処理方法をご教示下さい。

回答 岩淵 功 (農工大農)

α -アミラーゼ (生化学工業製) を 2mg/ml で pH 6.0 の phosphate buffer にとぎまして、37°C 30' 処理いたしました。

11. 野外分離 oocyst 由来 *Toxoplasma* のネコに対する感染試験

伊藤 進午, 角田 清
農林省家畜衛生試験場

西川 洋昭
日本獣医畜産大学

松井 利博
松岡科学研究所

Oral infection with Toxoplasma oocysts, originated from naturally infected cats, and their cysts against kittens

Shingo Ito, Kiyoshi Tsunoda
National Institute of Animal Health, Tokyo

Hiroaki Nishikawa
Nippon Veterinary and Zootechnical College, Tokyo

Toshihiro Matsui
Matsuoka Institute for Science

さきに演者らは Beverley 株由来の oocyst をネコに経口投与しその全 life cycle をネコの体内で完了させようと試みたが、ただ単に一部の例に toxoplasma (Tp) 感染を起こし得たにとどまり、その life cycle を完結させることは出来なかった。その後野外の自然感染ネコ 4 例から *Isospora bigemina* 小型種の oocyst を分離し、それらが Beverley 株由来の oocyst と形態学的にも、

病原学的にも一致し、Tp であることを確認した。以下便宜上、これらの Tp を 0-1, 0-2, 0-3, および 0-4 株と仮称する。そこで今回はこれらの野外 oocyst 由来の Tp 株を用い、cyst 感染では Beverley 株 cyst 感染の場合との比較、oocyst 感染ではネコ体内での全 life cycle の完結を目的とし、cyst および oocyst のネコに対する感染試験を行なった。

1) cyst 感染試験：予めこれら4株の oocyst を経口投与して cyst を作らせてあるマウスの脳 1/5～2 個分づつを体重 230～560g の仔ネコ23匹 (0—1 株：8 匹, 0—2 株：2 匹, 0—3 株：7 匹, 0—4 株：6 匹) に経口投与した。感染後は oocyst の排泄状況, O.P.G. の推移, ネコの生死などの経過を観察し, 死亡または殺処分後は肉眼病変の検査, 臓器乳剤の生鏡検とマウス接種法の併用による Tp 原虫の検査を行なった。まず oocyst の排泄は感染後 4～5 日目から全例にみられ prepatent period は Beverley 株 cyst 投与の場合と一致していた。しかし Beverley 株の場合とは異なり oocyst 排泄中に 18例が死亡したので patent period は少数例からしかえられなかったが 5～14 日とかなりのばらつきがみられた。O.P.G. の最高値は感染後 4～8 日目 (oocyst 排泄第 1～第 5 日) にみられ $10^6 \sim 10^7$ 個台に達した。これらのネコは 23例中 20例が 6～19 日目に死亡し, 肝の腫大, 壊死, 脾の腫大, 肺の水腫, 腸間膜リンパ節の腫大, 壊死, 出血, 空腸下部～回腸の肥厚など Tp 病特有の病変がみられ, また Tp 原虫の検査でも肝, 脾, 肺, 腸間膜リンパ節, 腸などから Tp 原虫が証明された。これらの成績を Beverley 株 cyst 投与での成績と比較すると, 病原性の点では野外株の方がやや強かったが, 本質的にはほぼ一致していた。

2) oocyst 感染試験：上記 4 株の野外分離 oocyst を体重 250～660g の仔ネコ 25 匹 (0—1 株：5 匹, 0—2 株：8 匹, 0—3 株：7 匹, 0—4 株：5 匹) に 10^4 個または 10^5 個づつ経口投与し, cyst 投与の場合と同様に経過を観察した。まず oocyst の排泄は Beverley 株 oocyst 投与の場合とは異なり, 0—1 株で 1 例, 0—2 株で 3 例, 0—3 株で 6 例, 0—4 株で 3 例, 計 13 例のネコに oocyst の排泄がみられた。しかし oocyst 排泄陽性例の出方は株により一様ではなく, 0—1 株のように 5 例中 1 例のものと 0—3 株のように 7 例中 6 例のものとかみられた。これが株の性質によるのか, 偶然なのかは今後さらに検討の必要がある。prepatent period は cyst 投与の場合とは異なり 21 日から 41 日と一定ではなかった。patent period は 5～14 日でかなりばらついていたが cyst 投与の場合とよく似ていた。O.P.G. の最高値は oocyst 排泄第 1 日～第 5 日に見られ 10^6 個～ 10^7 個を示し投与の場合とよく似ていた。しかし cyst 投与の場合とは異なり死亡率は約半数で, Tp 性病変の顕著な

例はごく僅かであった。また死亡時または殺処分時の臓器からの Tp 原虫の検査は 0—3 株の 7 例と 0—4 株の 1 例を除く 17 例について実施したが 12 例に Tp 原虫が証明された。

むすび：野外分離 oocyst を仔ネコに経口投与してその体内で life cycle を完結させようとした試みは 25 例中 13 例に oocyst の排泄がみられた。その陽性率は Dubey らの 17 例中 8 例とよく似ており比較的良好であった。しかし cyst 感染の場合には全例に oocyst の排泄がみられた事と比較すると陽性例の割合はまだまだ少なかった。ここで prepatent period が oocyst 感染では 21 日～41 日と一定していなかったのに対し, cyst 感染では 4～5 日とほぼ一定していたことなどを考え併わせると toxoplasma (*I. bigemina* 小型種) は本来 *Eimeria* のように一宿主の体内でその life cycle を完結するものではなく, むしろ 2 種類またはそれ以上の宿主間を往来し, その際有性生殖だけはネコ科の動物の体内で行なうのが普通な原虫なのではないかと思われる。*Sarcosporidia* と *Isospora* との関係を明らかにした Rommel らの一連の報告や Dubey らによる *I. felis* および *I. rivolta* の oocyst を投与したマウス体内での無性生殖体の証明とこれら無性生殖体をネコに戻した際の prepatent period の短縮などの事実は上記の仮説が独り Tp のみでなく他の *Isospora* にも共通した性質としてあてはまることを示している。尚今回の試験でも O.P.G. 値が $10^6 \sim 10^7$ 個に達した例はきわめて多く oocyst が Tp 感染に果している役割の重要性を一層認識させられる成績であった。

質問 伊藤 義博 (徳島大 医)

我々の実験で RH 株 trophozoite (マウス ascites) をネコに経口感染させた場合, Frankel ら (1969) の報告のような結果 (oocysts 排出) が得られません, trophozoite→ネコ→oocyst の系は検討が必要と思いますが, ご教示下さい。

回答 伊藤 進午 (家畜衛試)

私共も RH 株 trophozoite (感染マウス腹水) をネコに投与しておりますが oocyst の排泄はみられませんでしたが, 私共は Frankel らの報告での trophozoite が RH 株腹水中のそれと本質的に同じかどうかについては多少疑問を持っております。この点につきましては現在実験を進めておりますので近い将来はつきりさせることが出来ると思っております。

12. 遠心分画法による *Trypanosoma gambiense* 感染防御抗原の分析

古谷 正人, 伊藤 義博, 尾崎 文雄
徳島大学医学部寄生虫学教室

林 弘三, 岡 好万
徳島大学養護教諭養成所

Analysis of protective antigenicity of fractionated antigens by the use of differential centrifugation method in Trypanosoma gambiense

Masato Furuya, Yoshihiro Ito and Humio Osaki

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

Hiromi Hayashi and Yoshikazu Oka

Training School for Nurse-Teachers, Tokushima University Tokushima

各種のトリパノソーマから分画した抗原や感染動物血中に出現する exoantigen の免疫学的, 理化学的特性は多くの研究者により検討されたが, 感染防御の観点に立った原虫細胞内抗原の分析は余りなされていない。そこで遠心分画法により防御抗原性の解析を中心に原虫細胞内物質の分析を試み, 現象としては既に認識されている抗原型変異の機序解明の第一歩とした。

Trypanosoma gambiense (T.g.) 生原虫 (10⁶個) を接種されたマウスを3日後にと殺・放血し, ヘパリン (10 i.u./ml) 加 phosphate buffered saline glucose pH 8.0 と混和後, DEAE-Sephadex A-25 を用いた吸着カラムにかけて血球成分を除去, 流出した原虫を buffer で2回遠心洗浄し単離精製した。これらの原虫は 10mM tris-HCl buffer pH 8.0 (5mM Mg⁺⁺, 30mM KCl 加) に懸濁後繰り返し3回凍結融解し, 更に teflon homogenizer で軽く処理して 10% cell homogenate に調整した。次にこの粗抗原から熱処理抗原と遠心分画抗原を作製し防御抗原性を検討した。後者は粗抗原を 1,000×g で10分間遠心して cell debris を除去, 次いで 10,000×g で20分間遠心し postmitochondrial supernatant を得, これを 100,000×g で120分間処理し可溶性タンパク分画 (SPF) と microsome 分画 (MF) に分けた。

これらの抗原に Freund の complete adjuvant を添加したもので ddY 系マウス (♀, 20~25g) を腹腔内免疫し, 3日目以後適時 10⁴ 個の同一抗原型原虫を静脈内に接種して, 宿主の感染死を指標に免疫効果を判定した。

その結果微量 (0.9mg protein/mouse) の抗原でマウスは免疫3日後既に 10⁸ 個原虫の攻撃に耐過した。

熱処理は(A)80°C30分, (B)60°C30分, (C)50°C30分, (D)40°C30分並びに (E)凍結融解の5種類で行なった。その結果, (A), (B)及び(C)処理抗原 (4.5mg protein/mouse) 免疫群では44日間の免疫期間中に耐過マウスが全く得られなかった。(D)処理抗原の場合は免疫4日目の攻撃では耐過マウスは得られなかったが, 前3者の約2倍延命し, 攻撃8日目までに死亡例なく, 一方対照マウスの生存日数は 5±1日であった。更に免疫33日目の攻撃では全例が20日以上耐過生残した。(E)処理抗原は前4者と異なり免疫4日目, 33日目の攻撃に対して全例が生残した。この結果から, 防御抗原は著しく熱処理に不安定なタンパク分子であることが推察できる。

分画抗原である SPF 2.5mg protein/mouse 及び MF 1.8mg protein/mouse でそれぞれ免疫した後4日目に攻撃した場合, SPF 免疫群では10匹中8匹死亡したが, それらの死亡日は1例を除き攻撃後10~13日目であり, 対照の2倍の日数を要している。他方, ME 免疫群では全例が生残した。免疫10日目の攻撃に対しては両群ともすべて生残した。しかしながら, 10⁸ 個原虫の攻撃に対しては SPF 免疫群で7匹中2匹が8日目以降に死亡し, MF 群より免疫効果が弱いことを示した。以上の結果は防御抗原物質が原虫細胞質内に可溶性タンパク質として存在するよりも, endoplasmic reticulum 内か又は “surface coat” のような膜に結合したタンパク質である可能性を強く示唆している。この際 SPF で作用した

抗原は細胞破壊時に endoplasmic reticulum 内から可溶性部に移行したか、又は結合タンパク質が解離したものと考えられ、免疫電気泳動の実験結果からもこのことがうかがえる。すなわち、SPF も MF も同じ位置に抗原抗体反応を示し、更に MF を Brij 58 で処理した上清 (100,000×g sup) も前二者と同じ位置に反応を示した。

今回の実験結果から原虫細胞内の endoplasmic reticulum 内か又は“surface coat”のような膜結合のある種のタンパク質が感染防御抗原として作用している可能性が高い。今後この物質を追究すると共に原虫の surface coat 及び exoantigen との関係並びに変異株原虫における防御抗原との比較を進め、感染防御抗原の表現型変異

の有限・無限性を含め抗原型変異機序の解明に資したい。

質問 神原 広二 (阪大微研)

免疫電気泳動で variant strain には precipitin line が出現していませんので、防御抗体は variant antigen に対するものと考えられますが、防御能と関連して原虫の agglutination test 等の抗体価はどうですか。

回答 古谷 正人 (徳島大医)

今回の実験では、免疫後に同一抗原型原虫を静脈内に接種して、宿主の感染死を指標に免疫効果を判定しただけで agglutination test 等他の抗体価測定は行なっていない。

13. *Trypanosoma gambiense* の Kinetoplast に対する Hydroxy-stilbamidine 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 Hydroxy-stilbamidine on the Kinetoplast in Trypanosoma gambiense

Tadasuke Ono and Shozo Inoki

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

Trypanosoma 原虫は kinetoplast (以下, K) をもっているが、これは DNA を含んでおり、原虫の分裂に際しては最初 K, ついで核、細胞質と順次分裂する。従って核が分裂して 2 個になった、いわゆる分裂型原虫ではひきつづいておこる細胞質の分裂にそなえてすでに分裂した 2 個の K が互いに相離れた位置に移動している。K は DNA と結合したり、DNA 合成を阻害したりする物質によって影響を受け、これのない原虫 (AK 型原虫) が誘発される。*T. gambiense* ではこの AK 型原虫は増殖出来ないといわれている。Hydroxy-stilbamidine (以下, OHSM) は DNA 合成を阻害する薬剤であるが、1971年 Delain らは培養した *T. cruzi* にこの薬剤を作用させ、OHSM に AK 型誘発力のあることを見出した。今回の実験は *T. gambiense* に感染したマウスに OHSM を注射し、血流型のこの原虫においても AK 型原虫が誘発されるかどうか、誘発されるならばそれはど

のような機序でおこるのか、を明らかにするために行なわれた。まず、*T. gambiense* 感染マウスに OHSM 10 γ /g を注射したところ、4 時間後約 34% の AK 型原虫が出現し、本種においても AK 型原虫が誘発されることを知った。そこで AK 型原虫の誘発に有効な OHSM の投与量を調べるため、*T. gambiense* 感染マウスに 0.05 γ /g ~ 30 γ /g マウス量の OHSM を注射したところ、0.05 γ /g では AK 型原虫の誘発がみられなかったが、0.1 γ /g 以上では AK 型原虫が出現し、その出現率は 10 γ /g マウス量で最も高く、投与量がそれより多くても、少なくとも AK 型原虫の出現率が減少することを認めた。これは *T. gambiense* および *T. evansi* 感染マウスに *p*-rosaniline, acriflavine および ethidium bromide を注射した場合に認められた現象 (猪木, 1956. 坂本, 1963) と同じであり、薬剤の量が多すぎると原虫の分裂が抑制され、誘発される AK 型原虫の数が少なくなるのでは

ないかと思われる。しかし、この実験で使用した OHSM は上述の薬剤に比べて AK 型原虫の誘発に有効な薬剤量の中が著しく広がった。これは虫体の増殖を抑える薬剤量に比べて、極めて微量の OHSM であっても充分、K に効果を及ぼすことを示している。次に OHSM による AK 型原虫誘発の機序を調べるため、*T. gambiense* 感染マウスにそれぞれ OHSM 1 γ /g, 10 γ /g および 30 γ /g マウス量を注射し、30分後より30分毎に原虫の塗抹標本を作り、ギムザ染色を行なった。標本について分裂型原虫 100 個を調べ、K の分裂が阻害され K が 1 個しかないもの (1K2核)、K が分裂して 2 個になっているが互いに離れていかず、2 個の K が接触しているもの (1K2核 亜鈴型)、分裂して出来た 2 個の K の間の距離がはなれているもの (2K2核) の出現比率を調べた。薬剤を注射しない対照マウスの原虫では分裂型原虫が総て 2K2核 であるのに対して、OHSM を投与すると K の分裂が阻害され、1K2核 亜鈴型、1K2核が増加し、相対的に 2K2核が減少する。1 γ /g では K の分裂が阻害された分裂型原虫が時間の経過とともにゆっくりと増えていくのに対して、10 γ /g では K が分裂してもそれらが互いに離れていかない 1K2核 亜鈴型が早い時間にあらわれ、その後この型の減少とともに K の分裂が完全に阻害された 1K2核が増加する。一方、30 γ /g では 10 γ /g とほぼ同じ傾向を示すが、1K2核 亜鈴型と 1K2核が混在する時間が長い。これは K のみならず、原虫自体の分裂も抑えられているためかも知れない。結局 OHSM による AK 型原虫の誘発は猪木 (1954) が他の薬剤で見出した如く、K の分裂阻害によって誘発されるものと思われる。

なお、1 γ /g では 4 時間後、10 γ /g、30 γ /g では 3 時間

後より K のない分裂型原虫が出現しはじめ、これは時間の経過とともに増加していく。10 γ /g では 24 時間後、感染原虫の約 90% が AK 型となるが、これは K の分裂阻害による AK 型原虫の誘発以外に AK 型原虫自体の分裂が AK 型原虫の出現率を増加させたためと思われる。*T. gambiense* の AK 型原虫は 1 つの clone として分離出来ないが、OHSM の作用を受けた後、しばらくは増殖出来るものと思われる。次に OHSM 0.5 γ /g, 1 γ /g 投与後 4 時間および 24 時間の原虫の K を電子顕微鏡によって調べ、kinetoculus および envelope に対する効果を見た。まず 4 時間後では kinetoculus の線維状構造が消失して 1 ～ 数個の electron dense な fragment に変化し、あるいは fragment も消失して envelope だけが認められる。また鞭毛が 2 つあるにもかかわらず envelope が僅かにくびれただけで分裂せず、kinetoculus も fragment になったものがあり、これは光顕で亜鈴型の K をもった分裂型原虫として認められるものに相当する原虫と思われる。24 時間では envelope にも変化があり、2 枚の膜は解離し、不鮮明となり、あるいは完全に消失して kinetoculus だけが少量の electron dense な塊として残っているものがある。このような原虫で鞭毛が 2 本あるものは光顕で AK 型の分裂型原虫として認められるものと思われる。

質問 石田 政弘 (京大 原子炉)

ミトコンドリアは、hydroxy-stilbamidine でどのような形態的变化をとるのか。

回答 小野 忠相 (阪大 微研)

用いました *Trypanosoma gambiense* の Clone ではすでにミトコンドリアを失っております。

14. *Trypanosoma* の核およびキネトプラスト核酸の microspectrofluorometry

猪木正三

大阪大学微生物病研究所原虫学部門

尾崎文雄

徳島大学医学部寄生虫学教室

Microspectrofluorometry of nuclear and kinetoplast nucleic acids in Trypanosoma

Shozo Inoki

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

Humio Osaki

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

Trypanosoma のキネトプラスト (kinetoplast) (以下 K) に DNA および RNA が含まれていることは電顕や化学的な方法によって既に証明されているが、今回はこれらの事実について更に確証を得るため、Zeiss の UMSP (universal microspectrophotometer) に付置した特別な microspectrofluorometer (山田正興博士らの開発したもの) を使用し、*T. gambiense* (Wellcome strain, K clone), *T. evansi* (Taiwan strain, K および AK clone), *T. cruzi* (Tulahuen strain, K clone) の核と K の核酸を虫体内に存在したまま (*in situ*) の状態で測定した。実験には、Le Pecq and Paoletti (1966) の報告に従い、蛍光色素として特に ethidium bromide (以下 EB) を選び使用した。本色素は、適当な条件下では 2 重鎖核酸の base pair の間に intercalate し、強い蛍光を発する特性を有し、しかもこの反応は極めて鋭敏で核酸特異性が高いため、抽出された核酸の蛍光測光に現在広く用いられている。

本研究に使用した 3 種の *Trypanosoma* の内、*T. gambiense* および *T. evansi* は、それぞれの感染マウスから採取した血液を Lanham (1968) の報告にならい、DEAE cellulose column にかけて血球成分を除去し、原虫 (すべて trypomastigote 型) だけを純粋に集めた。しかし、*T. cruzi* にはこの Lanham 法が適用できなかったため、やむを得ず Boné and Parent (1963) の培地に増殖させた原虫 (ほとんどが epimastigote 型) を遠心で集めて使用した。

観察方法および結果は下記のとおりである。まず原虫を石英ガラス製のスライド上に薄層塗抹し、5 分間メタノール固定を行なった後 A 液 (0.15M NaCl, 10mM Tris HCl 0.5mM EDTA Na², pH 7.5) の中に 10 分間置き、次いで B 液 (染色液) (EB 10 μ g, A 液 1.0ml) に移して 30 分間放置し、EB を核酸に intercalate させた (この際使用する EB の濃度は 10 μ g/ml が最適で、この場合最も強い蛍光を発することが予備実験で確かめられている)。最後にこの標本を A 液で軽く洗ってから石英ガラス製のカバーで覆い、その周囲をマニキュア液 (nail polish) で封じ、上記の microspectrofluorometer にかけて励起スペクトル (emission spectrum) および蛍光スペクトル (excitation spectrum) を求めた。その結果使用した *Trypanosoma* の種類によって蛍光強度にかなりの差異が見られたが、いずれの種類も励起最大波長は 590 m μ 、蛍光最大波長は 330 m μ と常に一定の値を示していた。この値は、EB と 2 重鎖核酸との至適量比の complex の値と同じである。したがって、この実験結果から *Trypanosoma* の核および K には 2 重鎖の核酸 (恐らく DNA) が含まれていることが明らかである。本研究において *T. evansi* の ghost kinetoplast (dyskinetoplast と呼ばれるもので kinetoplast envelope or kinetoplast membrane をもっているが、内部に kinetoplast fibrils or kinetoplast nucleus が見られない K の変異型) 内に極めて微量の 2 重鎖核酸の存在が認められたことは、先に報告した電顕オートラジオ

グラフィーなどの成績と一致して興味がある。しかしその値は *T. evansi* の正常なKの核酸の測定値よりはるかに小さく、本法によっても検出可能な限界点であった。したがって今後同様な測定を重ね、この結果を更に確認したいと考えている。なお螢光を發した核酸のほとんどすべてがDNAであると考えてもよいと思うが、なお少量の2重鎖RNAの存在の可能性もあり、現在この点を慎重に検討中である。

15. 八重山諸島の *Dictyosteliaceae* について

萩原博光

国立科学博物館植物研究部微生物研究室

The Dictyosteriaceae of the Islands of Yaeyama

Hiromitsu Hagiwara

Department of Botany, National Science Museum, Tokyo

Dictyosteliaceae は、その多くが森林土壌の生活者であり、分類学的には變形菌植物門無游子綱あるいは原生動物門肉質虫綱菌虫目無游子亜目に属し、形態形成研究者には細胞性粘菌という名前で知られている。その生活環は細菌や酵母を摂取して二分分裂により増殖するアメーバ状の栄養増殖期と増殖した多数の粘菌アメーバが集合して孢子塊と柄からなる子実体をつくる子実体形成期とからなり、孢子は発芽して粘菌アメーバとなる。孢子の発芽の際に鞭毛を生じないため、いわゆる變形菌と区別して無游子類という名が与えられている。

Dictyosteliaceae に属する種類が世界で初めて発見され記載されたのは、100年より少し前の1869年のことで *Dictyostelium mucoroides* Brefeld という種類である。次いで1880年に *Acrasis* 属、1884年に *Polysphondylium* 属、同年に第4の属 *Coenonia* 属が記載された。1902年に E.W. Olive は *Dictyosteliaceae* をまとめ *Acrasis* 属1種、*Dictyostelium* 属7種、*Polysphondylium* 属3種、*Coenonia* 属1種の計12種を報告した。1935年に K. B. Raper によって、形態形成研究の実験材料として広く利用されている *Dictyostelium discoideum* が記載された。それ以後、次々と新種が追加され、現在までに4属30種ほどが知られている。日本においては、1889年に柴田桂太によって *Polysphondylium violaceum* Brefeld (1884)

本研究は *microspectrofluorometry* を細胞や組織に直接利用した実験としても、*chinacrine mustard* をヒトの染色体に利用した Caspersson らの報告(1970)に次ぐものとして興味があるが、それよりもむしろ螢光色素のEBを細胞に利用し、染色体より更に小さい(1 μ 内外)Kに含まれる核酸の *in situ* 測定に成功したことに重要な意義があると思われる。

が報告されているので研究史としては決して欧米に遅れていないが、ごく最近まで殆んど未知の状態であった。1971年に萩原と李によって相次いで日本産の *Dictyosteliaceae* が発表され、現在までに *Dictyostelium* 属10種 *Polysphondylium* 属3種が報告されている。

著者は文部省科学研究費の補助を受け1973年1月に西表・石垣両島を調査して、森林および畑の土壌を採取し、ビニール袋に入れて研究室に持ち帰ったのち、*Dictyosteliaceae* の分離、培養および観察を行なった。分離用培地として5%わら煎汁寒天培地を使用した。培養および観察に際して無栄養寒天培地を使用し、*Escherichia coli* を栄養源として添加した。調査結果をここに報告する。

1. *Dictyostelium mucoroides* Brefeld 群

D. mucoroides は、形態上著しい変異性を持つとされている種類で、分類学上多くの問題点を含んでいる。著者は、白色の子実体を形成し、明確な特徴を持たない *Dictyostelium spp.* を *D. mucoroides* 群として取扱った。世界的に分布。

2. *Dictyostelium purpureum* Olive

子実体は、赤紫色、孤生。向光性あり。孢子は、長楕円形、平滑。5.2~7.6 \times 2.0~3.6 μ 。世界的に分布。

3. *Dictyostelium rhizopodium* Raper et Fennell

子実体は群生あるいは束生。胞子塊は、帯黄褐色。柄は帯赤紫色。胞子は、楕円形、平滑、 $4.8\sim 7.6\times 2.6\sim 4.2\mu$ 。熱帯アメリカに分布。

4. *Dictyostelium monochasioides* Hagiwara

子実体は、白色、孤生あるいは群生、一般に著しく分枝し、しばしば *monochasium* 様である。胞子は、楕円形、平滑、 $4.2\sim 6.8\times 2.8\sim 3.8\mu$ 。ニューギニアに分布。

5. *Dictyostelium* sp.

子実体は、淡赤紫色、群生。胞子は、楕円形、平滑、 $5.2\sim 6.0\times 2.8\sim 3.6\mu$ 。ニューギニアに分布（未発表）

子実体の色が類似している *D. purpureum* と比較検討する予定である。

6. *Polysphondylium violaceum* Brefeld

子実体は、赤紫色、孤生あるいは群生。胞子は、楕円

形、平滑、 $4.2\sim 6.8\times 2.8\sim 3.8\mu$ 。世界的に分布。

7. *Polysphondylium pallidum* Olive

子実体は、白色、孤生あるいは群生。胞子は、楕円形、平滑、 $5.6\sim 7.8\times 3.2\sim 5.4\mu$ 。世界的に分布。

8. *Polysphondylium* sp.

子実体は、白色、孤生あるいは群生。胞子は、楕円形、平滑、 $6.0\sim 9.2\times 3.4\sim 5.0\mu$ 。

多くの子実体が *Dictyostelium* 型で、輪生状の分枝をする場合、その回数が少ない。

以上の八重山諸島産同定種 6 種のうち、*Dictyostelium rhizopodium* および *Dictyostelium monochasioides* の 2 種は、日本新記録である。*Dictyostelium mucoroides* 群および未同定種 2 種について、今後さらに検討する予定である。

第4回国際原生動物学会に参加して

猪 木 正 三

大阪大学微生物病研究所原虫学部門

1973年9月2日から10日にわたる9日間、フランスの Clermont 大学において、会長 P. De Pyutorac 教授（動物学）司会の下に、第4回国際原生動物学会が開催された。私は学術会議から派遣され、同学会に参加する機会を得たので、ここにその概要を報告する。

学会本部の発表によれば、参加国は40か国、参加者は727名となっている（第1表参照）。この参加

第 1 表

Pays	Nombre de participants
Allemagne de l'ouest	62
Allemagne de l'est	1
Australie	1
Autriche	1
Belgique	18
Bresil	5
Bulgarie	3
Canada	10
Danemark	8
Egypte	4
Espagne	11
Ethiopie	2
France	119
Grande-Bretagne	84
Grece	1
Hollande	22
Hongrie	1
Inde	8
Iran	1
Israel	4
Italie	29
Japon	9
Kenya	1
Mexique	3
Nouvelle-Zelande	1
Panama	1
Pologne	18
Porto Rico	1
Portugal	1
Roumanie	4
Suede	1
Suisse	33
Tchecoslovaquie	5
Thaïlande	1
Tunisie	1
U.R.S.S.	28
U.S.A.	220
Yougoslavie	1
Zaire	2
727	

Nombre de pays : 40

Nombre de participants français : 119

Nombre total de participants : 727

Nombre de participants étrangers : 608.

者数は前回のレニングラード大会（1969年）の741名（樋渡教授の報告による）と比較して大差はないが、今回はとくに日本人の出席者が多く、米国からの2名を加えて11名にも達し、非常に力強く感じた次第である（第3表参照）。

開催地の Clermont-Ferrand 市は人口僅か15万、Auvergne 高原の麓にある静かな町で、郊外には美しい田園が緩やかな起伏をなして広がり、その中には中世紀の姿をとどめる古城や教会が見られ、学都としての理想的な環境を形成している。

小都市の Clermont-Ferrand には大きなホテルが少なく、参加者の大半は大学の寮（Cité universitaire=Student hostel）に泊った。寮は米国の学生寮にも匹敵するほどの立派な設備を有し、食堂はカフェテリア式であったが食事の内容もよく、部屋が清潔で、そのうえ宿泊料も安く、1泊3食付きで僅か US \$6.50（当時の換算で約1800円）だから、利用者はみな満足していたようである。もちろん、これには会長の配慮もあったことと思うが、物価高に喘ぐわが国の大学生生活に比し、この国はなんと学生の恵まれた国だろうと思ったのは、私一人ではなからう。

会場は学生寮から徒歩で5分ほどの処にある医薬学部（Faculty of Medicine and Pharmacy）に設けられ、大講堂と6つの階段教室が使用され、学会報告は workshop, plenary session, section の3つの種類に分けて運営された（第2表参照）。すなわち、workshop には既定の課題（第2表A）があり、それに応募した者や座長予定者から依頼された演者が、極めて簡単な（約5分間）研究報告を行い、それに対して十分な時間をかけて徹底的に討論を交し、練りに練ったうえ、後日、座長がその結果を総括報告するといった、言わば近年流行の学会方式である。この会長報告会（compt rendu）は大講堂で行われ、その時は他の会場は総て閉鎖され、全会員がこれに参加できるように配慮されていた。plenary session はわが国でいう特別講演に相当するもので、今回は G. Poliansky（ソ連）、B.M. Honigberg（米国）、K. Grell（西ドイツ）、T.M. Sonneborn（米国）の講演が行われた。いずれも老大家の蘊蓄を傾けての話だけあって、深い感銘をうけた（第2表B）。section は workshop の課題に該当しない報告を集めて行われるもので、第2表Cに示したような7つのグループに分類されていた。

第 2 表

A. Tables Rondes (Workshops)

- N° 2. L'ADN extranucléaire
- N° 3. Métabolisme des purine et pyrimidines
- N° 4. La régulation de la morphogénèse
- N° 5. Métabolisme des lipides
- N° 7. Héritéité extranucléaire
- N° 8. Adaptations physiologiques dans les conditions expérimentales
- N° 9a. Cycles de développement des Coccidies et apparentes
- N° 9b. Cycles de développement (sauf chez les Coccidies)
- N°10. Mouvements améboïdes
- N°11. Mouvements ciliaires, flagellaires
- N°12. Conjugaison et génétique chez les Protozoaires libres
- N°13. Variations de la spécificité parasitaire (intra- et interspécifiques)
- N°14. Les noyaux des Ciliés
- N°15. Divisions nucléaires
- N°16. Acquisition du caractère parasite par les Protozoaires libres
- N°17. Les hôtes inhabituels des parasites dans les conditions naturelles et expérimentales
- N°19. Les relations morphologiques et physiologiques entre cellule-hôte et parasite *in vivo* et *in vitro*
- N°20. Ecologie des Protistes marins
- N°21. Ecologie des Protistes d'eau douce

- N°22. Ecologie des Protistes du sol
- N°23. Classification et phylogénie des Protistes
- N°24. Mécanismes d'ingestion et de digestion. Secretions. Excretions
- N°26. La stomatogénèse
- N°27. Les processus de contractilité
- N°28. Problèmes pratiques de recherche sur la Coccidiose
- N°29. Le cycle cellulaire

N° 1, 6, 18, 25 は行われなかった。

B. Conférences (Plenary sessions)

1. G. Poljansky : Le problème de l'adaptation chez les Protistes
2. B.M. Honigberg : Mechanisms of pathogenicity among parasitic Protozoa
3. K. Grell : *Trichoplax adherens* and the origin of Metazoa
4. T.M. Sonneborn : The present contribution of Ciliates in the problems of cell morphogenesis

C. Sections

1. Parasitisme (1)
2. Parasitisme (2)
3. Ultrastructure (1)
4. Ultrastructure (2)
5. Biochimie
6. Trypanosomes
7. Myxomycètes-Amibes

本学会では英語、フランス語、ドイツ語、ロシア語の4か国語が、公用語として使用されたが、同時通訳はロシア語を除いた3か国語について行われ、しかも大講堂での開会式、特別講演、workshopの座長報告、閉会式以外の講演には通訳がつかなかった。従って、会場によっては、討論が十分行われなかったのではないかと思う。

フランス人は英語を話すことができても、英語を話そうとはしないとよく言われるが、会場においても掲示や会議は総てフランス語で行われ、英語は全く使用されなかった。これは開催地がフランスであったことにもよるが、私は今回ほど国際語としてのフランス語の重要性を痛感したことはなかった。

会期中、原生動物学国際委員会 (International Commission on Protozoology) が会場で開催され、私は日本の学会を代表して出席した。

この委員会での決議事項は、すでに本誌第6巻、第1号、31頁に掲載公表済みなので、それを参照して頂くこととし、ここでは割愛する。

学会場には例の如く、郵便局、銀行、喫茶店が設けられていたが、驚いたことに今回の学会のシンボルマークとして採用された *Giardia* の図案 (1969年のレニングラード大会に用いられたものと同じ) が、学会の郵便局で公式な消印となって使用されていた。このようなことは、わが国では到底考えられないことであり、極めて些細なことではあるが、ここにもフランス人の科学に対する深い理解の一端が窺われ、誠に羨しく思った。

また学会では種々のリクリエーションやパーティーが企画されていた。1日は湖水と古城のある郊外に数台のバスを連ねてドライブし、絵のように美しく展開する Auvergne 高原の景観を鑑賞し、1日は市内の劇場において、郷土芸能と民謡の夕を楽しんだ。また、豪華なシャンデリアのある Salons de l'Hôtel de Ville (City Hall Saloons) の大広間における市長招宴、ダンスパーティーで終わった Casino de Royat における会長主催のフェアウェルパーティーなど、いずれも忘れ得ぬ思い出となった。

第3表 日本人出席者氏名およびその演題 (括弧内は発表が行われた Tables Roundes (T.R.)=Workshops と Sections の番号を示す)

-
- Inoki, S. : Studies on the kinetoplast DNA in *Trypanosoma evansi* (T.R. N°2)
 Suyama, Y. : Structural and functional properties of *Tetrahymena* mitochondrial DNA (T.R. N°2)
 Inoki, S. : Incorporation of pyridine nucleosides into nucleic acids in *Trypanosoma cruzi* (T.R. N°3.)
 Horiguchi, M. : Biosynthesis of phosphonic acids in *Tetrahymena pyriformis* (T.R. N°5)
 Ishii, K. and Kanno, F. : An analysis of ectoplasmic movement in *Amoeba* (T.R. N°10)
 Hiwatashi, K. : Mating substances in *Paramecium caudatum* (T.R. N°12)
 Miyake, A. and Beyer, J. : Gamones in conjugation of *Blepharisma* (T.R. N°12)
 Beyer, J. and Miyake, A. : On the molecular mechanism of gamone-induced conjugation in *Blepharisma intermedium* (T.R. N°12)
 Morishita, I. : Protozoa in the sewage and waste water system (T.R. N°21)
 Aikawa, M. and Seed, T.M. : Cytochemical surface properties of malarial parasites enhancing penetration of host erythrocytes (T.R. N°19)
 Sudzuki, M. : Colonization of protozoa in various habitats (T.R. N°21)
 Higashinakagawa, T., Tashiro, R. and Mita, T. : DNA-dependent RNA polymerase of *Tetrahymena pyriformis* (Section Biochimie)
 Onodera, R. : Synthesis of lysine from α ϵ diaminopimelate by rumen ciliate protozoa (Section Biochimie)
 Aikawa, M. and Sterling, C.R. : High voltage electron microscopy of microgametogenesis of *Haemoproteus columbae* (Section Ultrastructure 2)
-

追記

発表論文の内容については、Progress in Protozoology (学会抄録) や最近 Clermont 大学から発刊された Actualités Protozoologiques を参照していただきたい。

学会事務局よりのお知らせ

本年度からの学会会長及び学会役員は次のようにま
りましたのでお知らせします。

学会会長 猪木正三

(庶務) 尾崎文雄, (会計) 稲葉文枝

(編集) (長) 猪木正三, 高田季久, 尾崎文雄, 稲葉文
枝, 事務局より小野忠相を加える。

(会計監査) 小山 力, 渡辺良雄

ニ ュ ー ス

トリコモナス研究会記事

昭和48年度トリコモナス研究会は福島県立三春病院産
婦人科, 大川知之博士のお世話により次のような会合が
持たれた。

日時: 昭和49年2月23日(土) 16.00~17.00

場所: 福島県飯坂温泉 花水館

話題:

1. T施設におけるトリコモナス症の実態
大川知之, 鈴木幸男 (福島県立三春病院, 産婦
人科)
2. 前立腺炎と膣トリコモナスの臨床
木村 哲 (国立栃木病院泌尿器科)
3. freeze-etching 法による *Trichomonas vaginalis* の
電子顕微鏡観察
尾崎文雄 (徳島大, 医, 寄生虫)
4. 実験 *Trichomonas* 症における ribosomal protein
と ribosomal RNA の防御抗原性
古谷正人 (徳島大, 医, 寄生虫)
5. On the cryo-biology of the parasitic protozoa (1)
Studies on the freezing Conditions of tricho-
monads (Akira-Miyata)
誌上発表 中林敏夫 (長崎大, 熱研, 疫学)

日本原生動物学会会則

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

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

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

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

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

第4条 本会会員は正会員、賛助会員および名誉会員とする。正会員は年会費1,500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

諸物価高騰の折から、発足以来据え置かれて来た会費が、昨年総会において49年度から1500円と改正されました。しかしインフレにはとても追いつけぬ現状です。そこで Vol. 7 の No. 2 の発行は財政上とても無理と考えられ、とりやめることを幹事会で決定、No. 1 のみを印刷部数を500部に減らして発行することになりました。

いつものことながら、本部よりのお願いとして、会費未納の方はこの際ぜひお納めいただきたく、また御同好の方に入会ご勧誘いただきたい旨お伝えいたします。どうかご協力のほどお願いいたします。
(稲葉 記)

原生動物学雑誌 第7巻 第1号

The Japanese Journal of Protozoology Vol. 7 No. 1

昭和49年8月15日 印刷

昭和49年8月31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 (06) 877-5121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