

昭和50年8月
August, 1975

原生動物学雑誌

第8巻 第1号

*the Japanese Journal
of Protozoology
Vol. 8 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8巻 第1号

目 次

第8回日本原生動物学会大会概況

講演目次

特別講演「*Toxoplasma* の細胞質内顆粒について」……………小山 力

一般講演

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 澗 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)

日本原生動物学会大会概況

大会長 石井圭一博士

会場 私学会館
東京都千代田区九段北4-2-25

会期 昭和49年12月8日(日)

日程

9:25	開	会
9:30~12:00	一般講演	(1~10)
13:00~13:30	総	会
	幹事報告	
13:30~14:15	特別講演	
14:15~17:30	一般講演	(11~23)
17:30	閉	会

講演目次

特別講演

Toxoplasma の細胞質内顆粒について……………小山 力 (予研・寄生虫)

一般講演

1. 首都圏下における水質汚濁の生物学的解析(4)
原生動物を指標とした場合……………鈴木 実 (日大・法・生物)
2. 基質の活性汚泥原生動物群集におよぼす
影響について……………松井 宏明, 盛下 勇 (荏原インフィルコ・中央研)
3. 輸入サルの寄生原虫について (予報) …… 小山 力, 志賀 正男, 熊田 三由, 本田 武,
本庄 重男*, 高阪 精夫* (予研・寄生虫・*; 予研・獣疫)
4. トリコモナス原虫の freeze-etching 法による電子顕微鏡観察
……………伊藤 義博, 土肥美代子, 古谷 正人, 尾崎 文雄
(徳島大・医・寄生虫)
5. グレガリナ類の表面構造について……………星 出一 巳 (山口大・教育・生物)
6. *Blepharisma intermedium* の接合域の電子顕微鏡的観察
……………金井 美晴, 池口 信子, 稲葉 文枝 (奈良女大・理・動物)
7. *Blepharisma intermedium* の酸性フォスファターゼ等
酵素活性について……………伊藤 祐子, 横村 英一, 稲葉 文枝 (奈良女大・理・動物)
8. *Trypanosoma gambiense* の p-rosoniline 耐性形質転換に
関する研究: 核および kinetoplast DNA による実験……………猪木 正三, 小野 忠相
(阪大・微研・原虫)
9. *Trypanosoma evansi* K 型 clone の satellite DNA
に関する研究……………小野 忠相, 猪木 正三 (阪大・微研・原虫)
10. 正常家兎血清の *Trypanosoma cruzi* 原虫に対する
溶解作用の電顕的観察……………琴谷 景子, 神原 広二, 猪木 正三 (阪大・微研・原虫)
11. *Trypanosoma gambiense* の “surface coat” の特性に
関する研究……………古谷 正人, 服部 祐子, 伊藤 義博, 尾崎 文雄,
林 弘三*, 岡 好万* (徳島大・医・寄生虫, *; 徳島大・養護)
12. 実験トリコモナス症に対する特異抵抗性獲得の研究
特に *Trichomonas foetus* 80s ribosome の防御抗原性
……………岡 好万, 林 弘三, 石川富士郎, 古谷 正人*, 伊藤 義博, 尾崎 文雄*
(徳島大・養護, ・*; 徳島大・医・寄生虫)

13. ニワトリマラリア *Plasmodium gallinaceum* の発育鶏卵内
培養について……………中林 敏夫, 竹田 英子 (長崎大・熱帯医研・疫学)
14. *Eimeria tenella* の細胞培養 ……………堂本 憲司, 浜田 義雄 (武田薬品・畜産技術)
15. *Paramecium caudatum* 接合型の Modifier gene …樋渡 宏一, 茗原 宏爾 (東北大・理・生物)
16. *Paramecium caudatum* 接合完了体における DNA
合成の調節……………見 上 一 幸 (東北大・理・生物)
17. *Paramecium caudatum* の接合型物質……………北 村 昭 夫 (東北大・理・生物)
18. 繊毛虫 *Paramecium trichium* における表層構造の再生
について……………洲 浜 幹 雄 (広島大・理・動物)
19. 大核分裂の異常性を示す *Euplotes patella* (繊毛虫)
の系統について……………片 島 亮 (広島大・理・動物)
20. 走査電子顕微鏡によるウマ大腸内繊毛虫類の体表構造
……………今井 壮一, 大関 好明, 扇元 敬司, 勝野 正則, 王 俊秀*, 藤田 淳吉*
(東北大・農・家畜衛生, *; 日獣畜大・寄生虫)
21. *in vitro* 培養におけるルーメンプロトゾア相 I.
添加炭水化物による変動……………今井 壮一, 勝野 正則, 扇元 敬司 (東北大・農・家畜衛生)
22. NPN 添加無蛋白精製飼料給与山羊の第一胃内における
原生動物と細菌との共存について……………高橋 直身, 後藤 正幸, 岡田 保博, 保坂 直子
(明治大・農)
23. キャピラリー中におけるゾウリムシのらせん運動……………浅井 博, 福井 敬二 (早大・理工)

特 別 講 演

Toxoplasma の細胞質内顆粒について

小 山 力

国立予防衛生研究所寄生虫部

Cytoplasmic granules in Toxoplasma gondii

Tsutomu Koyama

Department of Parasitology, National Institute of Health, Kamiyosaki, Shinagawa-ku, Tokyo

原生動物の細胞質内には古来より各種の顆粒が見出され、記載されてきたが、それに伴って多くの名称も生じ混乱を招いてきた。それらのうち、特に光顕レベルで、RNA 顆粒、脂質顆粒、多糖顆粒、metachromasia 顆粒、acid phosphatase 顆粒、acridine orange 顆粒などと呼ばれてきたものについて、主として *Toxoplasma gondii* の trophozoite を中心に、演者の成績に文献的考察を加えて整理してみた。こうした顆粒は、超微細構造の上では、あるいは顆粒構造をとらぬものもあるかも知れないが、ここでは、光顕レベルで顆粒状に見えるものという意味に理解してほしい。

1. RNA 顆粒

阿部 (1958) が, trophozoite で, 核周囲に pyronin 好性部があり, trichloroacetic acid で消去されたとし, Dasgupta & Kulasiri (1959) は, trophozoite 内に, toluidine blue 顆粒, pyronin 顆粒を見出し, とともに RNase で消去され, zoite (cyst 内の一種の trophozoite) は, pyronin で不染であったと報告している。小山ら (1974) および小山 (未発表) は, trophozoite, zoite 両者で pyronin 好性部を認めており, Dasgupta & Kulasiri の結果とは一致しない。よくコントロールされた方法と RNase 処理などの対照群を併置して吟味することにより, pyronin はかなり特異的に RNA を, つまり ribosome を染める。従って, この場合には顆粒というよりは, diffusely に染まって, ある拡がりのある染着部を形成すると考えるのがより真実に近いのではないかと思われる。

2. DNA 顆粒

DNA の染色に関しては多くの研究があるが, すべて, DNA は核のみに存在するとし, kinetoplast のような特別な DNA 構造を認めていない。この点は, 多くの電顕的な研究結果からも支持されている。

3. 脂質顆粒

Cross (1947), 阿部 (1958), 青木ら (1964) は, Sudan III, Sudan IV, Sudan Black B, Nile blue sulphate などを用いて, 細胞質が一様に染着することを述べているが, 小山 (1972) が, trophozoite で, また小山ら (1974) が zoite で, Sudan III および Sudan Black B 染色をおこなない, 前者で 1~数個の脂質顆粒を見出したが, 後者では検出できなかった。この理由は現在不明だが,

原虫の stage による差異と思われ興味深い。

複合脂質に関しては、青木ら (1964) が, trophozoite で細胞質内に染着部ありとしているが, 小山ら (1974, 未発表) は, zoite で 1~数個の顆粒状染着部を認めている。前述の事実とあわせ考えると, trophozoite には単純脂質が, また zoite には複合脂質がより豊富に存在するものかも知れないが, この点については今後の検討が必要である。電顕的にも脂質顆粒が報ぜられているが, その数も数個どまりのものが多く, 上記の顆粒はこれに一致するものと思われる。

4. 多糖顆粒

trophozoite で, Frenkel *et al.* (1951), 阿部 (1958), Dasgupta & Kulasiri (1959), Gangi *et al.* (1961), 小山 (1972) は, PAS 顆粒を見出した。また, zoite では, Dasgupta & Kulasiri (1959), 小山ら (1974) が同じ顆粒を認めた。さらに小山ら (未発表) は, zoite にヨード顆粒のあることを見出したが, この顆粒は PAS 顆粒に一致した。

従来, この PAS 顆粒は, glycogen または glycogen 性顆粒と呼ばれたもので, 組織化学での一般的な glycogen 確認法では, PAS 反応陽性で, amylase 消化で消去されるものということになっていたが, 実際には, glycogen, amylose, amylopectin の3者は, 上記確認法で区別できない。しかし, 最近, Relay *et al.* (1969), Relay (1973) の分光分析, 酵素処理などのテクニックによる追究により, gregarine や *Eimeria tenella* の多糖顆粒の主成分は amylopectin であることが明らかとなった。その後この顆粒は, Schulte (1971) により *Klossia helicina* で, Sénaud *et al.* (1972) により *Besnoitia jellisoni* で, また Scholtyseck (1973) により, *Sarcocystis tenella*, *Isospora* sp., *Frenkelia* sp., *Besnoitia jellisoni*, *Toxoplasma gondii* などで, 電顕的に存在が確認され記載され, 現在では amylopectin 顆粒が Sporozoa に広く認められている。

粘液多糖を含む顆粒としては, Dasgupta & Kulasiri (1959) が, zoite および trophozoite に対して Alcian blue 8GS を用いて検出を試みたが見出せなかった。その後, 小山ら (1974, 未発表) は, 上記の結果に対して追試をおこない, Alcian blue 8GS では, 確かに trophozoite に Alcian blue 顆粒を認めなかったが, Alcian blue 8GX を用いた場合には, trophozoite, zoite の両者で原虫体鋭端に顆粒様の染着部が検出された。この染着部は, 牛壜丸由来および *Streptomyces* 由来の hyaluronidase で消去され, chondroitinase ABC で不変であったので, この部分には hyaluronic acid が含まれると思われる。この部にこのような物質が存在する機能面での意義は目下不明であるが, 原虫体鋭端部は, 機能不明の conoid, paired organelles, micronemes などの微細構造物が存在するところであり, 今後電顕的細胞化学の方向での研究が望まれる。

5. metachromasia 顆粒

Dasgupta & Kulasiri (1959) は, trophozoite を Toluidine blue で染めて, metachromasia 顆粒を認め, これは RNase で消去できたと述べた。小山 (未発表) も同じ材料を, Toluidine blue あるいは Giemsa で染色し, 同様の成績を得ている。従って, metachromasia 顆粒の中には, 確かに RNA を豊富に所有するものがあると思われる。しかし, 一方, 小山ら (1974, 未発表) は, zoite で metachromasia 顆粒を見出し, 牛壜丸由来および *Streptomyces* 由来の hyaluronidase, chondroitinase ABC のいずれによっても消去されることを確認した。このことより, 本顆粒のうちには粘液多糖を含むものもあるかも知れない。

6. 蛋白顆粒

小山ら (1974) は, zoite や trophozoite で Ninhydrine—Schiff 反応を試み, 細胞質が一樣に赤染されるだけで, 特別な顆粒構造を認めなかった. 光顕レベルでの報告は, ほかにみあたらないが, 最近電顕像として, Scholtyseck (1973) が, *Eimeria*, *Isospora*, *Frenkelia* などの merozoite で protein granules なるものを記載しており, 今後電顕的細胞化学の面での性質の解明が望まれる.

7. acid phosphatase 顆粒

Lund *et al.* (1966), Hansson & Sourander (1968), Norrby *et al.* (1968), 赤尾・松林 (1970), 赤尾 (1971), 小山 (1972) らが光顕並びに電顕的に存在を認めている. 一般細胞では本顆粒は lysosome に一致するとされているが, 原虫では一般にこの種の研究が乏しく, 不明とされてきたが, 最近 *Toxoplasma* でも, 電顕的細胞化学により, Hansson & Sourander (1968), 赤尾 (1971) らが一般細胞の場合と同様に, 局在の一致すなわち acid phosphatase=lysosome の成績を得ている.

8. acridine orange 顆粒

acridine orange で原虫体を生体染色すると, 細胞質内に顕著な赤色顆粒が出現する. この acridine orange 顆粒は, 一般細胞では早くより認められていて, しかも, その正体は acid phosphatase 顆粒すなわち lysosome そのものであるとする確実な証拠も得られている. (Koenig, 1963; Robbins & Marcus, 1963; Robbins *et al.*, 1964; Allison, 1967; Dingle & Barrett, 1968; Allison & Young 1969). しかし, 原虫類ではこの種の研究が不充分で, acridine orange 顆粒=acid phosphatase 顆粒=lysosome と考えたいが, なお追究の必要があり, 演者は後述のような検討を進めた.

9. 各種顆粒間の関係

Giemsa 染色あるいは Laybourn 染色での metachromasia 顆粒, 多糖顆粒, 脂質顆粒, acid phosphatase 顆粒, acridine orange 顆粒などは, 数, 大きさ, 分布などの諸点で相互によく類似しており, たかひの異同を明らかにする必要がある. そこで演者は, *Toxoplasma gondii* の trophozoite を用いて, 以下のような検討を試みた.

1) 重複染色による異同の追究

同一細胞上での細胞化学的重複染色で, 終始同一顆粒を追究した結果, acid phosphatase 顆粒, metachromasia 顆粒, 脂質顆粒の一部などは, すべて同一物であることを認めた (小山, 1972).

2) 顆粒の肥大化による検討

acridine orange 顆粒の肥大現象と, それと同一条件下における acid phosphatase 顆粒の肥大現象 (観察方法は Robbins & Marcus, 1963) との間に, 強い平行関係のあることを確認し, 両顆粒が同一物である可能性を見出した (小山, 1972).

3) 同一虫体対応法による検討

acridine orange 顆粒=acid phosphatase 顆粒の直接証明を目的として, *Toxoplasma* 感染マウスの肝包膜内 trophozoite を用いた同一虫体対応法 (acridine orange 顆粒の肥大化→蛍光鏡検→撮影①→同一虫体で acid phosphatase 顆粒の検出→撮影②→写真③と④の比較検討) により検討した結果, acridine orange 顆粒=acid phosphatase 顆粒を証明した (小山, 未発表). すでに述べた如く, 電顕像で acid phosphatase 顆粒が lysosome に一致することが知られているから, 以上の成績を総合して acridine orange 顆粒, acid phosphatase 顆粒, lysosome の3者は同一物であると考えたい.

以上のように、現在までのところ、各種顆粒間の関係の明らかとなったものもあるが、未だ不明のものも多い。今後光顕レベルの研究に電顕レベルの研究を対比させつつ、そしてまた細胞化学的な面での技術の開発をまちつつさらに研究を発展させたい。

 一 般 講 演

1. 首都圏下における水質汚濁の生物学的解析

IV 原生動物を指標とした場合

鈴木 実

日本大学法学部生物学研究室

*Biological analysis of water pollution problems in Tokyo and its vicinity.**IV. The saprobity of some ponds based on protozoa in comparison with that on other microbiota*

Minoru Sudzuki

Biological Laboratory, Faculty of Law, Nihon University, Omiya

近年、水質汚濁の段階を知る手段として、生物を利用する方法が著しく推奨されるようになってきたのは周知の通りである。しかし、それと同時に現在までに何の疑いもなく「指標 (indicators)」として扱われてきた生物群そのものの再検討や指標とされた生物群の違い (分類学的な) により汚濁度の判定や評価にも差が生じうのではないかという不安も出はじめてきたことも事実である。

演者は多摩川と都立公園内にある 2, 3 の池で細菌類, 珪藻類, 線虫類をのぞくほぼすべてのマイクロ生物をモニタリングしこの問題に関し調査を行ない次のような結果をえた。

石神井公園の場合: 三宝寺池15地点, 石神井池4地点から次のようなマイクロ生物が見出された。細菌類=4属, 藍藻類=4属, 不完全菌類=2属, 藻菌類=1属, 鞭毛藻類=6属, ミドリムシ類=2属3種, 緑藻類=18属41種, 鞭毛虫類=18属, アメーバ類=10属13種, 殻アメーバ類=13属18種, 太陽虫類=2属3種, 全毛繊虫類=21属27種, 旋毛繊虫類=14属18種, 淡水海綿類=1属 (骨片のみ), ヒドロ虫類=1属1種, 渦虫類=1属1種, 腹毛虫類=2属, 輪毛虫類=15属22種, 貧毛虫類=3属, クモ形虫類=1属1種, 甲殻虫類=13属14種, コ

ケムシ類=1属2種 (休芽のみ), 上記の生物群のうち指標となっているものを用いて水質を判定すると汚濁度は $\beta \sim \alpha$ であるものが7地点, $\alpha \sim \beta$ は4地点, α は3地点, P は2地点であるが, 原生動物だけに基づくると $\beta \sim \alpha$ は存在せず, $\alpha \sim \beta$ が10地点, α は4地点, $\alpha \sim P$ が2地点, P が1地点という結果がでてきた。

上野公園の場合: 不忍池12地点とボート池1地点から次のようなマイクロ生物が見出された。細菌類=8属, 藍藻類=8属10種, 不完全菌類=2属, 鞭毛藻類=4属, ミドリムシ類=5属13種, 緑藻類=16属25種, 鞭毛虫類=24属26種, アメーバ類=6属7種, 殻アメーバ類=14属25種, 太陽虫類=7属9種, 全毛繊虫類=32属37種, 旋毛繊虫類=19属21種, 渦虫類=2属4種, 腹毛虫類=5属7種, 輪毛虫類=23属45種, 貧毛虫類=3属5種, 甲殻虫類=13属15種, コケムシ類=1属1種 (休芽のみ)。上記の生物群に基づいて水質を判定すると汚濁度が $\beta \sim \alpha$ であるのは5地点, $\alpha \sim \beta$ が6地点, α は2地点であるが, 原生動物だけに基づいて判定すると $\beta \sim \alpha$ は4地点, $\alpha \sim \beta$ が5地点, α は4地点となるが, とともに $\alpha \sim P$ や P は存在しないという結果がえられた。

井の頭公園の場合: 池に16地点を設けて調査したところ下記のようなマイクロ生物が見出された。細菌類=4

属, 藍藻類=1属, 不完全菌類=2属, 鞭毛藻類=5属, ミドリムシ類=4属4種, 緑藻類=9属16種, 鞭毛虫類=26属32種, アメーバ類=5属7種, 殻アメーバ類=12属13種, 太陽虫類=4属6種, 全毛織虫類=27属30種, 旋毛織虫類=22属26種, 淡水海綿類=1属1種(骨片のみ), ヒドロ虫類=1属1種, 渦虫類=1属1種, 腹毛虫類=3属4種, 輪毛虫類=19属36種, 貧毛虫類=1属2種, クマムシ類=1属1種, クモ形虫類=1属1種, 甲殻虫類=6属, コケムシ=1属1種(休芽のみ). 上記の生物群に基づいて水質を判定すると汚濁度が $\beta \sim \alpha$ であるのは6地点, $\alpha \sim \beta$ は8地点, α が1地点, Pが1地点であるが, 原生動物だけに基づいた場合には $\beta \sim \alpha$ が2地点, $\alpha \sim \beta$ が8地点, α が3地点, $\alpha \sim P$ とP~Piがそれぞれ1地点ということになった.

浜離宮汐入池の場合は淡水ではないためにここでは省略し, 多摩川に関してはすでに報告が印刷中であるため割愛する.

上に述べたことから明らかなように原生動物だけを指標として判定を行なった場合にはマイクロ生物全般に基づいた場合よりも一般に水質はやや悪く評価される傾向がみられる. これはマイクロ生物においては, 1) その大部分の属種の汚濁度がまだ国際的に決定されていないこと, 2) 広分布を示す鞭毛虫類の汚濁性がきわめて高く

(悪く)評価されていることによるものである. このことは極めて重要なことであって, たとえば湧き水などは歴史的にもD段階の汚濁度とされてきているが, 三寶寺, 井の頭などの池において実際に湧き水を検鏡してみると, 見出された属種はほとんど α ないしP段階と評価されている鞭毛虫類で占められているために汚濁度が悪く判定されるという矛盾のもとをつくってしまうのである. 従って今後はとくに鞭毛虫類の指標性に関し再検討するとともに個々の種ではなく全毛織虫類と旋毛織虫類の種数の比率なども汚濁の判定に用いるべきものと思われる.

質問 小山 力(予研 寄生虫)

protozoaを汚濁のindicatorとすると, 水質がやや悪く評価される傾向があるといわれたが, これはprotozoa全般にいえることですか.

回答 鈴木 実(日大法)

とくに鞭毛虫類にその傾向がみられる. その理由として, 1) 鞭毛虫類は一般にコスモポリタンであるため湧き水などにも出現するが, それらが α , Pなどといった汚濁性の指標種とされているところに問題がある. また原生動物のうちほんの一部しか汚濁度との関連が決められていないことにも問題がある.

2. 基質の活性汚泥原生動物群集におよぼす影響について

松井 宏明, 盛下 勇

荏原インフィルコ株式会社・中央研究所

The influence of substrates on the protozoa community in activated sludge

Hiroaki Matsui and Isamu Morishita

Biological Laboratory, Research and Development Section, Ebara Inflico Co.

活性汚泥法は污水, 廃水を処理する場合, もっとも多く使用されている方式である. 活性汚泥はこの処理方式において重要な役割を果たすもので, 水酸化物と細菌類, 原生動物類, 後生動物類などの生物群集から構成されている. したがって活性汚泥中の生物群集に関する知見は処理施設あるいは装置の維持管理に有益な指針となる.

活性汚泥に関する化学工学的研究は従来から数多く行なわれているが, 原生動物学的研究は現在なおきわめて少ない状態である. 演者らは主として施設管理の指針として生物群集の挙動が利用しえるものとの考えに立って種々な検討を行なって来た.

今回は活性汚泥の処理対象となる原水(基質)の形態

と群集構成との関係について検討を行なった結果を報告する。

原水(基質)は BOD=250ppm, N=30ppm となるよう C-成分として Glucose, Starch, Na-Glutamate のいずれかを, N-成分としては, NH_4Cl , NaNO_3 , KNO_3 , $(\text{NH})_2\text{CO}$, のいずれかを組み合わせ, それらに NaCl , CaCl_2 , MgSO_4 , K_2HPO_4 , を加えて調整した。したがって C-成分の影響については C-成分, 3種と N-成分中の NH_4Cl の組合せ, N-成分の影響については C-成分を Glucose とし N-成分 4種の組み合わせで行なった。実験装置は 10ℓ 連続曝気槽を使用し 20~25°C の範囲において 70日間行なった。なおその他の条件としては, 原水注水量 5ml/l, BOD=負荷 0.36kg-BOD/m³/日とした。原水成分の影響については, 処理水性状, 活性汚泥の物理的性状, 生物群集間の類似性〔森下(1959)の C_2 Index を使用〕の面から検討した。なお活性汚泥について他から移植した場合と, 生成したものについて行なった。

1. C-成分の影響

同一実験条件下において Glucose, Starch, Na-Glutamate の影響についてみると処理水水質, 活性汚泥の物理的性状について著しい差異は認めがたい。しかしながら群集構成は特に生成実験例についてみるとその優占的種 (*Euglypha*, *Arcella*, *Trinema*, *Aspidisca*, *Epistylis*, *Vorticella*)の組み合わせに差異がみられ, Glucose, Starch ではかなりの類似性が認められたが Na-Glutamate と 2 者の間はまったく異なった結果となった。

2. N-成分の影響

同一実験条件下において NH_4Cl , NaNO_3 , KNO_3 , $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ の影響についてみると, 処理水水質, 活性汚泥の物理的性状は, NH_4 群と NO_2 - NO_3 群の 2 型に分れる傾向がみられた。 NH_4 群においては SVI: 200 以下, 処理水 pH=4.6~5.0, COD=12~13ppm, BOD=6~8ppm であり, NO_2 - NO_3 群では SVI: 400 以上, 処理水 pH=7.75~8.12, COD=2.9~3.7ppm BOD=1.0ppm とその差は著しい。また群集構成についても同様な傾向がみとめられ, NH_4Cl と $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$, KNO_3 と NaNO_3 , の両者においてはきわめて類似の群集となるが, NaNO_3 と NH_4Cl , $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ との間はきわめて類似性が少ないことが明らかとなった。

以上の結果はあくまで, 一定条件下での実験のものであり, 実際の施設においては群集構成に及ぼす因子はさらに複雑となる。また活性汚泥の主体をなすものは細菌類であるが, 現在までに明らかとなった活性汚泥中の原生動物のほとんどのものが, holozoic, あるいは saprozoic なものであることからすると, 今回の結果が

基質の差異→細菌相の差異→原生動物群集の差異との仮定の有効性を示唆するものと思う。

また活性汚泥方式における維持管理において, しばしば N 成分の補強が行なわれることがあるが, このような場合, 使用する N 成分の選択の如何によっては維持管理がきわめて困難となる可能性も有ることを意味するものと考えられる。今後より種々の基質の形態的, 量的な違い, またその組み合わせ, 条件変動等に対する群集挙動を追求していきたい。

3. 輸入サルに寄生する原虫について (予報)

小山 力, 志賀 正男, 熊田 三由, 本田 武
国立予防衛生研究所寄生虫部

本庄 重男, 高阪 精夫
国立予防衛生研究所獣疫部

Survey of protozoan parasites in the imported monkeys

Tsutomu Koyama, Masao Shiga, Mitsuyoshi Kumada and Takeshi Honda

Department of Parasitology, National Institute of Health

Shigeo Honjo and Masao Takasaka

Department of Veterinary Science, National Institute of Health

近年、実験用動物あるいはペットとして、サルを輸入し飼育することが多くなったが、それに伴ってサルから人への各種病原体による感染の危険性も増大している。

厚生省ではこの点を重視して人畜共通感染症調査小委員会を設置して、主としてサルの病原体、すなわちウィルス、細菌、マイコプラズマ、寄生虫などを対象に実態調査をおこなった。本報告は、1973年10月より1974年1月にわたっておこなったその調査のうちの原虫に関する部分の成績である。

〔調査方法〕

髄液は遠心沈澱の後その沈澱を、また血液はそのまま塗抹し、ともにギムザ染色後鏡検した。糞便は塗抹の後、生鮮状態のまま鏡検する一方、一部をシャウジン固定後、ハイデンハイネ鉄ヘマトキシリン染色標本として鏡検した。さらに糞便の一部を田辺、千葉の培地に投入し、培養による検索をおこなった。組織内原虫の検出は、パラフィン切片法とヘマトキシリン・エオジン染色法により作製した標本をもっておこなった。

〔成績および考察〕

サルの種類別に検出した原虫種は以下の通りである。(原虫種のととの()内は検出部位)

- 1) カニクイザル (マレーシアおよびインドネシア産 27頭)。

Entamoeba histolytica (便) 陽性数 13 (48.1%), *E. hartmanni* (便) 4 (14.8%), *E. coli* (便) 8 (29.6%), *E. sp.* (便) 3 (11.1%), *Endolimax nana* (便) 1 (3.7%), *Iodamoeba bütschlii* (便) 3 (11.1%), *Chilomastix mesnili* (便) 1 (3.7%), *Giardia lamblia* (便) 1 (3.7%), *Tri-*

chomonas hominis (便) 4 (14.8%), *Plasmodium sp.* または *Hepatocystis sp.* (血) 3 (11.1%), *Hepatocystis sp.* (肝) 4 (14.8%), *Balantidium coli* (便) 5 (18.5%)。

2. ミドリザル (エチオピア産 9頭)。

Entamoeba histolytica (便) 3 (33.3%), *E. hartmanni* (便) 1 (11.1%), *E. coli* (便) 3 (33.3%), *E. sp.* (便) 1 (11.1%), *Endolimax nana* (便) 1 (11.1%), *Sarcocystis sp.* (筋) 1 (11.1%)。

- 3) リスザル (ボリビア・コロンビア・ペルー産 9頭)。

Trichomonas hominis (便) 3 (33.3%), *Trypanosoma sp.* (血) 2 (22.2%)。

アメーバ類はほとんど嚢子型であったが、各種でそれぞれ肝1~2例ずつ栄養型虫体を見出した。*Chilomastix mesnili* と *Giardia lamblia* の両種はどちらも嚢子型で検出した。

血液内に *Plasmodium sp.* または *Hepatocystis sp.* とと思われるものを見出したが、ほとんどが輪状体か生殖母体であって、分裂体を認めていないので後者の可能性が強い。肝臓に見出した結節の病理切片像は、*Hepatocystis* の特徴を示していたが、種名については、さらに検討する必要がある。問題の *Toxoplasma* またはその近縁種は、筋肉内からの *Sarcocystis sp.* を除いては検出されなかった。

腸管寄生原虫の検索にあたってしばしばその形態の類似性から問題になる *Blastocystis sp.* がカニクイザルで12頭 (44.4%)、ミドリザルで4頭 (44.4%) に見出された。

リスザルでは、アメーバ類の寄生がみられず逆に他のサルでみられない *Trypanosoma sp.* が検出されているのは興味深く、この *Trypanosoma* には彎曲性の強い小型種、細長大型種、幅広大型種の3種が区別され、2～3種混在する可能性がある。

Balantidium coli はすべて栄養型で検出されている。

以上の諸原虫のうち、人体への感染の危険性は、耐久性の嚢子を形成する点で、*Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Balantidium coli* などにあると思われるが、病原性および輸入サルにおける高い寄生率から、最も警戒しなければならぬのは *Entamoeba histolytica* であろう。現在サルの検査頭数を増して調査を続行している。

質問 鈴木 実 (日大法 生物)

輸入サルの場合、現地での寄生動態が日本に輸入され、日本で飼育された場合、どのような変動がみられたのでしょうか？

回答 小山 力 (予研 寄生虫)

現地での寄生状況がつかめておりませんので、変動については現在のところわかりません。

質問 猪木 正三 (阪大 微研)

1. 赤痢アメーバの判定に動物感染実験を行なわれましたか。

2. 発見されたトリパノソーマは培養を試みられましたか。

回答 小山 力 (予研 寄生虫)

作業量が大であったため、そこまで試みておりませんが、将来はぜひ実施してみたいと思います。

質問 井関 基弘 (大阪市大 医)

糞便検査の場合、*Eimeria*, *Isospora* などの Oocyst の検出には浮遊遠心沈澱法の適用が必要ではないでしょうか？

回答 小山 力 (予研 寄生虫)

原虫から蠕虫類全般にわたる検索であったため、作業量が大となり、浮遊遠心沈澱法は実施しておりませんが、糞便は生で観察する一方、ホルマリン固定して保存し、後日時間をかけて検索を続けるという方法を加味しています。しかし、現在までのところ *Eimeria*, *Isospora* などの Oocyst は検出しておりません。

4. トリコモナス原虫の freeze-etching 法による電子顕微鏡観察

伊藤 義博, 土肥美代子, 古谷 正人, 尾崎 文雄
徳島大学医学部寄生虫学教室

Electron-microscopical observations of trichomonads by freeze-etching method

Yoshihiro Ito, Miyoko Doi, Masato Furuya and Humio Osaki

Department of Parasitology, School of Medicine, University of Tokushima

超低温で凍結させた生物試料の切断面には、電顕的に切片法やネガティブ染色法で得られない三次的構造が観察でき、更に、凍結試料の断面に真空下で食刻 (etching) を加えることにより、別な角度からの観察が可能になった。我々は切片法の観察で微細構造が比較的良好に知られているトリコモナス原虫に凍結エッチングを施し、そのレプリカ像から新しい所見を求めた。

原虫：人工液体培地で継代維持している *Trichomonas vaginalis* (4F 株) 及び *Trichomonas foetus* (Inui 株) を使用した。

方法：原虫を 2% glutaraldehyde (0.05M 磷酸緩衝液, pH 7.2) で1時間固定後遠心によりペレットとし、引き続いて20及び40% glycerin にそれぞれ12及び24時間浸漬した。次いでフリーズエッチング装置 (日立 HF Z-1, FE-1) の試料台にフロンガスで凍結固着させ、装置とともに液体窒素中で十分冷却させた。更にこれをエバポレーターに入れ、 5×10^5 真空下 (予測温度 -150°C) で金属ナイフを使用して試料を切断し、断面を作った。エッチングは装置内蔵のヒーターに30秒通電 (約 1.5mV) して行なった。シャドウイングは Pt-Pd 金属

及びカーボンを使用し、45°角から投射して約 300Å 被覆、更に 90°角からカーボン投射で補強した。次いで試料を次亜塩素酸液で除去し、残った金属レプリカ膜を電子顕微鏡で観察した。

所見：核膜は二重構造を示し、外径、内径それぞれ 1,000, 700Å 前後の膜孔を有し、中心小体を認めず、孔の配列は不規則であった。ゴルジ装置は核の前方に存在し、主として層板状の滑面小体から成っていた。グリコーゲン顆粒は *T. foetus* に多く見られ、その構造に規則性を認めなかった。*T. vaginalis* の細胞質内、特に後部に小空胞を多数認めた。軸索、根小毛（コラーゲン線維）及び粗面小体は切片法での像と同様で、新しい所見は得られなかった。軸索及び最も太い根小毛周辺の小体（paraxostylar body, paracostal body; Mattern *et al.*, 1967）は一層の限界膜に包まれ、あらゆる断面が正円形で、三次構造も球形を示したことから、ひずみのない球体と考えられた。小体の内容は均質で、一部に粒子の配列を見たが明確でなかった。前べん毛起始部の細

胞質内に、やや広がりを持った微小線維を認めたが、べん毛形成の微小管の延長か他構造物かは確認できなかった。後べん毛は *T. vaginalis* ではやや凹んだ細胞前端部より発し、波動膜の側面に連結、ともにいったんループ（V字型）を描いた後、後部へ向かった。*T. foetus* では波動膜の先端に連結していた。べん毛はいずれも細胞膜に覆われ、微小管等の内部構造については詳しく検討できなかった。波動膜には独立した構造は認められず、細胞膜の延長と考えられた。波動膜と後べん毛との連結部の細胞膜内に約 1,000Å の管状構造物を認めた。これは切片像の accessory filament 若しくは marginal lamella (Mattern *et al.*, 1967) に該当すると考えられる。後べん毛直下の断面の観察で、細胞膜表面に約 1,600Å の幅を持つ横じまの構造物を認め、約 150Å の線維が後べん毛と直角方向に規則正しく配列していた。このしま状線維構造が波動膜と考えられるが、現在までの観察では片側にもみ出現しているの、更に観察を続けこの点を確認したい。

5. グレガリナ類の表面構造について

星 出 一 巳

山口大学教育学部生物教室

Studies on the surface structure of the gregarines

Kazumi Hoshide

Biological Institute, Faculty of Education, Yamaguchi University

グレガリナ類の表面構造はその独特の運動と深い関係を持っていると考えられ古くから興味ある問題であった。グレガリナ類の運動には2つの型がある。1) 体の屈曲運動、2) 滑走運動、後者はグレガリナ類特有の運動で体形をほとんど変化させないで滑るようになめらかに前進する。Kölíker が最初にこの運動を記載して以来、この運動のメカニズムに対する多くの仮説が出されている。それらを大別すると2つにまとめられる。1) 何らかの収縮機構をともなっているもの、2) 収縮機構といったものはなく水又は粘液の噴出により運動する。これらの機構を確かめる為に多くの実験や観察がなされてきた。しかし現在のところ光学顕微鏡レベルでのミオネーム粘液等の存在と電子顕微鏡レベルでの構造との関

連がはっきりとしたわけではない。演者はグレガリナ類の系統分類学的研究を行ってきた。その過程で得られた電子顕微鏡及び走査型電子顕微鏡による原虫表面の微細構造についての2, 3の知見を報告する。

使用した材料は *Marphysa sanguinea* よりの *Ferraria cornucephala iwamusi* H. Hoshide, *Copera annulata* Selys よりの *Ancyrophora* sp, *Scolopendra subspinipes multilans* L. Koch. よりの *Nina japonica* H. Hoshide, *Anisolabis maritima* Borelli よりの *Gregarina ovata* Dufour, *Mitella mitella* Linne よりの *Gregarina kamenote* H. Hoshide. である。材料はいずれも *Cephalina* 類に属するグレガリナで全て成熟したスポロントを用いた。

透過型電子顕微鏡用の標本としては5%グルタールア

ルデヒドで前固定，1%オスミック酸で後固定，エタノール，プロピレンオキシドで脱水後エポン 812 に包埋した。走査型電子顕微鏡用標本としては5%グルタルアルデヒド，1%オスミック酸で固定後エタノールで脱水，酢酸イソアミールに入れ凍結乾燥を行なった。その後カーボンと金を蒸着した。

走査型電子顕微鏡による観察によれば，いずれの原虫にも表面に縦に走る無数の突起，襞状構造が認められた。その大きさ，長さ，形状は原虫の種類によって異なっていた。

Ancyrophora sp. 襞状構造は長さ 25~66 μ ，巾 800~900 $m\mu$ ，襞と襞との間隔 800~1000 $m\mu$ ，間隔は広く襞状構造は振幅の非常に小さい横へのうねりが見られる。又 10~25 μ の間隔でかなり規則的な表面の凹凸が見られる。

Nina japonica 襞状構造は長さ 5~10 μ ，巾 100~160 $m\mu$ ，襞と襞の間隔は，60~80 $m\mu$ ，襞は規則的な波状構造を持ちその波の1周期の大きさは 2~2.3 μ ，襞の大きさに比して間隔は狭く密に寄せあつたような状態を示す。

Gregarina ovata 襞の長さ20~50 μ ，巾 300~450 $m\mu$ ，間隔は 300~600 $m\mu$ ，襞はほぼ直線的で波状構造はない。襞は左右への分枝が多く分枝したものは隣の襞と融合して見える場合が多い。原虫表面には横に走る凹凸が見られその間隔は 1~4 μ である。又透過型電子顕微鏡による切片標本の観察では，観察された原虫は腔胞構造の多い内質とそれを包む腔胞構造の全くない外質に分けられる。外質の中には内と外との2つの膜構造が見られる。外側は2層の電子密度の高い層の間に電子密度の低い層がある3重膜構造，内側の膜は3層の電子密度の高い層

の間に2つの電子密度の低い層のある5重膜構造をしている。多くの原虫において襞の先端部で内膜の内側に数本の電子密度の高い繊維構造が見られ，襞状構造の基部には電子密度の高い1本の太い繊維構造が見られた。

質問 鈴木 實 (日大法生物)

グレガリナの中には体長が3mmをこえるものがあるというお話でしたが，単細胞でこれだけ大きなからだを維持するのはたいへんなことと思われる。小形のグレガリナにくらべ，核の相対的な大きさ，内部構造の複雑さ，寿命などとの関係はどのようになっていますか。

回答 星出 一巳 (山口大 教育)

グレガリナ類の大きさは数10 μ から3000 μ を越えるもの等様々である。核の大きさはある程度の大きさまでは大体その体の大きさの増大に従って大きくなる傾向がある。内部構造は光学顕微鏡では簡単に見えるが電子顕微鏡観察ではかなり複雑なものである。現在培養等の方法が成功していないので寿命等はわかりません。

質問 小山 力 (予研 寄生虫)

現在 *Gregarina* 類と *Coccidia* 類の分類系統学的な関係が問題になっていますが，前者の sporozoite で頂端構造 (conoid や paired organelles など) の存在をお調べになっていますか。

回答 星出 一巳 (山口大 教育)

現在 *Gregarina* 類において sporont の時代だけでなく，他の life cycle の虫の微細構造も研究しているのですが，Cyst の時代等ではエポキシ樹脂の浸透が悪くよい電顕像を得ていない。現在研究計画として，*Gregarina* 類だけでなく他の Sporozoa の微細構造を調べ系統分類的に比較検討したいと考えている。

6. *Blepharisma intermedium* の接合域の電子顕微鏡的観察

金井 美晴, 池口 信子, 稲葉 文枝
奈良女子大学理学部生物学教室

Electron microscopy of the contact region between two conjugants in Blepharisma intermedium

Miharu Kanai, Nobuko Ikeguchi and Fumie Inaba

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

繊毛虫の接合は2つの虫体の接着によって行なわれるが、その接合面の微細構造の変化については、*Paramecium* の2-3の種で報告されているのみである。本研究では、異毛目に属する *Blepharisma intermedium* の野生型、red系と突然変異型 albino系を用いて、接合を誘導し、接合開始後5, 10, 15, 20, 24時間に固定して、接合域の表層の変化を時間的経過を追って、電顕で観察した。

接合予定域は、波動膜と膜板にはさまれた罅口部のうち、波動膜側に偏した1/2-2/3の部分で、元来繊毛を欠いている部分である。体表は2層構造の外皮と、外皮下空隙を隔てて細胞質限界膜とから成る3層構造を示している。接合はまず両虫体の罅口部の外皮が約60nmの間隙を保ちつつ、微細な網状構造によって連結されることに始まる。ついで両虫体外皮の外膜どうしが所々近接する2点で連結し、その間の両虫体外皮が癒合し、ついで消失することにより、細胞質の小連絡が形成される。その他に、一方の虫体の外皮の陥入部へ相手の虫体の外皮の突出部がスナップのようにはめこまれる、「嵌合構造」によって、両虫体の接着が強化される。また両虫体の罅口部体表の凹凸によって、虫体の間に外皮間空隙が形成される。この空隙の外膜は、はじめ3層構造であるが、まず外皮内膜と細胞質限界膜が連結して、扁平な小胞が形成され、ついでこれが消失することにより、外皮外膜のみから成る1層膜に囲まれた空隙となる。

接合開始後5時間以内に、罅口部の上半分が接着するが、そのうちの下半分では小細胞質連絡孔に始まる外皮の消失が漸次拡大する。しかし両虫体の境界線上には尚外皮間空隙が直線的に並んで残り、境界線を示している。

10-15時間になると、既に罅口部の全長にわたって接

着が進行し、しかも罅口部の下部2/3では外皮間空隙も消失し、境界線は全く消失して、接着域の中全体にわたる10~15 μ mの中細胞質連絡を生ずる。これらの接着域外皮の変化に伴い、細胞質内では当初含まれていた大きな空隙 (Membrane bounded spaces, MBS) が漸次減少し、基質を増すが、その中には種々の形態の小胞が出現する。これらの小胞群は外皮の消失に関係する酵素を含むと考えられる。

15-20時間には、細胞質連絡による接着域は更に拡がり、罅口部の先端部のみを残す。先端部では「嵌合構造」と小細胞質連絡孔によって両虫体の外皮の接着が保たれている。

この時期の下1/3の部分には約20 μ mの中細胞質連絡と、移動中と思われる小核が観察された。原核の移動に関しては、*Paramecium aurelia* で Schneider (1962) が約10 μ mの中広い細胞質連絡を通して原核が移動するのを見ており、一方 Inaba ら (1966) は、*P. multimicronucleatum* で広い連絡は生ぜず、径約1 μ mの小細胞質連絡孔の1つを径約8 μ mの移動原核がくびれつつ通過するのを観察している。*Blepharisma intermedium* では、*P. aurelia* の場合と同様、約20 μ mの中広い細胞質連絡を通して核の移動が行なわれることが確かめられた。

20時間を過ぎると、先端部にみられた「嵌合構造」は消失し、両虫体の罅口部は離れる。従って全接合過程を通じて、先端部では「嵌合構造」と小細胞質連絡孔が形成されるのみで、中広い細胞質連絡は生じない。また20時間後には、罅口部の下1/4の部分も離れ、最後まで広い細胞質連絡を示すのは、中央から下1/4までの部分である。離れ始めた部分の細胞質中には種々の小胞の増加がみられ、外皮の損傷の修復にあずかっているもの

と思われる。

7. *Blepharisma intermedium* の酸性フォスファターゼ等酵素活性について

伊藤 裕子, 横村 英一, 稲葉 文枝
奈良女子大学理学部生物学教室

Localization of some hydrolytic enzymes in the cytoplasmic vesicles of Blepharisma intermedium

Yuko Ito, E-iti Yokomura and Fumie Inaba

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

Blepharisma intermedium の虫体内には、大核、小核、ミトコンドリア、ゴルジ装置、食胞及び“membrane-bounded spaces” (MBS) の他に、各種の膜に包まれた構造、すなわち、亜鈴型構造、ER 様構造及び種々の大きさの vesicles 等がある。しかし、これらの膜に包まれた構造については明らかでない点が多いので、これらについて形態学的観察と共に、チアミンピロフォスターゼ (TPPase)、イノシンジフォスファターゼ (IDPase)、酸性フォスファターゼ (Acid Pase)、アルカリ性フォスファターゼ (Alk. Pase)、及びアデノシントリフォスファターゼ (ATPase) 活性を電顕組織化学的に調べた。

実験方法。材料は *Blepharisma intermedium* の野性型 (red) 系の栄養期細胞を用いた。虫体の形態を調べるためには、1.25%グルタルアルデヒド、2%フォルムアルデヒド、1%四酸化オスミウムの混液で固定し、脱水、Epon 包埋、超薄切片とし塩基性鉛で電子染色し、電顕観察した。電顕的組織化学のためには、2.5%グルタルアルデヒド、2%フォルムアルデヒドの混液で前固定し、緩衝液で洗浄後、各 incubation medium 中で incubate した。incubation medium としては、TPPase, IDPase のためには Novikoff & Goldfischer (1961) Acid Pase のためには Barka & Anderson (1962), Alk. Pase のためには Hugon & Borgers (1966), ATPase のためには Wachstein & Meisel (1957) の方法によった。対照としては基質を除いたもの、またはフッ化ナトリウムを加えたものを用いた。incubation 後、四酸化オスミウムで後固定し、脱水、包埋し、電顕観察した。

結果及び考察。本研究では主に虫体後半部 (ただし、

末端の 1/4 は除く) の細胞質中の膜に包まれた構造について観察した。虫体の一般的な微細構造は Kennedy (1965) 及び Dembitzer (1968) の報告と一致したが、この細胞質内には、彼等の報告している食胞 (1.5~10 μm)、内部密度の低い空胞、すなわち、MBS (0.3 μm 以上)、種々の形の sac 様構造、亜鈴型構造 (球部直径: 0.08 μm)、"vacuolated bodies" (0.05~0.7 μm) 及びゴルジ装置以外に、やや内部密度の高い vesicles (0.3~2.4 μm) がゴルジ装置の付近、食胞壁近辺及び細胞質内各所にみられた。盃状、太く短かい棒状、細長いひも状の外見を示す sac 様構造は細胞質内に分散または集合して存在していたが、ゴルジ装置の saccules と連なっているようにみえる場合もあった。亜鈴型構造は、細胞質内に散在していた。食胞は横断面では虫体中央よりにみられたが、MBS は at random に各所に存在していた。TPPase 活性は上記のやや電子密度の高い vesicles, sac 様構造及び亜鈴型構造ではそれらの一部のものにみられ、食胞、MBS, "vacuolated bodies" 及び Golgi saccules には反応がみられなかった。IDPase は、やや電子密度の高い vesicles 及び sac 様構造でそれらの一部のものに活性がみられた。Acid Pase 活性陽性のものとしては、やや電子密度の高い vesicles、一部陽性のものとしては、食胞、"vacuolated bodies" 及び亜鈴型構造、陰性のものとしては MBS, ゴルジ装置及び sac 様構造があった。Alk. Pase 及び ATPase 活性は、調べた限りでは、どの構造にも検出できなかった。

亜鈴型構造を Dembitzer は独立した一つの構造と考え、Acid Pase 活性陽性のことからライソゾームである

と推論したが、本研究ではその活性が陰性のこともあったことと sac 様構造の断面が亜鈴型構造と同じ外見を示す場合があったことから、この亜鈴型構造はライソゾームとは考えられず、sac 様構造の一部であろうと思われる。この sac 様構造はその形態、ゴルジ装置との相対的位置関係及び TPPase と IDPase 活性陽性の場合があることから ER と思われるが、この点は、G-6-Pase 等活性を調べて明らかにしていきたい。ライソゾームとしては、本研究でその存在を確認することができた Acid Pase 活性陽性のやや電子密度の高い vesicles がこれに相当すると考えるのが妥当と思われる。

質問 小山 力 (予研 寄生虫)

検出された vesicle の中で酸性フォスファターゼ活性がみられないから lysosome でないといわれた部分がありますが、この点は、慎重に扱う必要があるのではあり

ませんか。

回答 横村 英一 (奈女大 理)

Denbitzer が lysosome であると考えている “dumbbell-shaped bodies” が、本研究では必ずしも Acid phosphatase 活性陽性ではなかったこと、とこの bodies が sac-like structure (ER) と連続しているのが形態学的に観察されたこと、及び他の Acid Pase 活性が必ず陽性の lysosome と考えられる vesicles が存在していたことから、この “dumbbell-shaped bodies” は lysosome であると考えられないと述べた。他の Acid phosphatase 活性が見られなかった vesicles が lysosome ではないとは結論しておりません。これらの vesicles については将来さらに他の酵素活性等を調べていきたいと考えております。

8. *Trypanosoma gambiense* の *P*-rosaniline 耐性形質転換に関する研究、核および kinetoplast DNA による実験

猪木 正三, 小野 忠相

大阪大学微生物病研究所原虫学部門

Studies on the genetic transformation of P-rostaniline resistance of Trypanosoma gambiense, using its nuclear and kinetoplast DNA

Shozo Inoki and Tadasuke Ono

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

アフリカ睡眠病の病原体である *Trypanosoma gambiense* は鞭毛起始部に近く kinetoplast とよばれる小器官をもっている。これは DNA を含み、mitochondria の母体であるといわれている。1953年以来、猪木らはこの kinetoplast が薬剤の作用によって消失する現象について遺伝学的な解析を行っており、DNA と結合する薬剤や、DNA 合成を阻害する薬剤を原虫に作用させると kinetoplast の分裂が阻害され、これを失なった原虫 (AK 型原虫) が誘発されることを見出した。更に、*P*-rosaniline 耐性の clone を作り、この原虫では AK 型原虫が誘発されないことを認め、AK 型原虫の出現率を調べることによって、*P*-rosaniline 耐性が測定できること (AK 型誘発試験) を見出し、これを利用して、*T. gambiense* に *P*-rosaniline 耐性の genetic transfor-

mation が起こることを発見した。しかし、その時行なった実験では Donor の *P*-rosaniline 耐性株の原虫は凍結融解をくりかえして作った lysate の状態で使用していた。その後、DNA を抽出して実験を行なっているが、この場合は核と kinetoplast の DNA が混在しており、形質転換における核および、kinetoplast DNA の役割が不明であった。そこでこの実験では *P*-rosaniline 耐性株原虫から DNA を抽出し、更にこれを核と kinetoplast の DNA に分けた後、それぞれの DNA を使って *P*-rosaniline 耐性の形質転換が可能かどうかを調べた。実験はまず *T. gambiense* 感染マウスから原虫を含む血液をとり出し、Lanham's exchanger method によって原虫のみを分離した。そして 0.8% (final) SLS を 60°C30分作用させ、ついでこれに 1% (final) Pronase

を37°C12時間作用させた。その後 phenol によって DNA を抽出した。このようにして得た DNA は塩化セシウム密度勾配遠心沈澱 (#65 rotor, 42,000rpm 46hrs) によって分析すると1.703と1.688の density の部分にそれぞれ peak をもった核 DNA と kinetoplast DNA に分けることが出来るのでそれを使って形質転換を行なった。形質転換の操作は DNA 0.5 μ /ml と生きた原虫5 \times 10⁵/ml を 37°C 1h 接触させる方法によって行ない、その後 0.05ml をマウスの腹腔内に接種し、3日後、マウスの末梢血中に原虫が出現した時、P-rosaniline 10mg/kg マウス体重量を注射して AK 型誘発試験を行ない感染原虫の P-rosaniline 耐性を測定した。その結果、形質転換に P-rosaniline 感性株原虫の核および kinetoplast DNA を使用した場合には約30%の AK 型原虫が出現するのに対して、耐性株原虫からの核および kinetoplast DNA を使用した時には約16%しか AK 型原虫が出現しなかった。この形質転換は kinetoplast の分裂阻

害に関係のある P-rosaniline 耐性を genetic marker としているが P-rosaniline 耐性株原虫の kinetoplast だけではなく、核 DNA にも形質転換能のあることが示されたわけである。なお、P-rosaniline 耐性株原虫および感性株原虫の AK 型原虫出現率はそれぞれ約 6% および 30%であり、上記のいずれにおいても AK 型原虫誘発試験をしない場合の AK 型原虫出現率は 1%以下である。

質問 鈴木 守 (東海大 医)

N-DNA にせよ、K-DNA にせよ、一旦 transformation が成立したのち、back-mutation をおこす事があるか。

回答 猪木 正三 (阪大 微研)

transform された原虫を 1 匹釣りし resistant clone をつくると、その性質はマウス継代によって容易に変化せず長く一定に保たれています。

9. *Trypanosoma evansi* K 型 clone の satellite DNA に関する研究

小野 忠相, 猪木 正三

大阪大学微生物病研究所原虫学部門

Studies on the satellite DNA of Trypanosoma evansi K clone

Tadasuke Ono and Shozo Inoki

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

トリパノソーマ科原虫には life cycle の途中で metacyclic change を行なう種類と行なわない種類があるが、後者に属する *Trypanosoma evansi* は他の species と異なり、kinetoplast のない原虫でも増殖が可能である。先に我々はこの理由を解明するために実験を行ない、このような原虫では kinetoplast として認められる小器官がなくても CsCl 密度勾配遠心沈澱法によって kinetoplast DNA の density に相当する部分に一致して satellite DNA が存在することを見出した。しかし、*T. evansi* の kinetoplast のない clone で見出したこの DNA が kinetoplast のない *T. evansi* の clone にのみ特有のものか、或は kinetoplast をもつ *T. evansi* の clone にも見出されるものかが明らかでない。そこでこの点を調べるために今回の実験を行なった。実験は *T. evansi* の

kinetoplast をもった clone に感染したマウスに acriflavine (10 μ /g), hydroxystilbamidine (1 μ /g) などを注射し、kinetoplast を消失させた後、マウスから原虫を含む血液をとり出し Lanham's anion exchanger method によって原虫のみを分離した。その後、37°C in vitro で約5時間 ³H-thymidine (final 5 μ c/ml) を label させた。そして 1% (final) pronase を 37°C12時間作用させた後、Phenol によって DNA を抽出した。このようにして得た DNA は塩化セシウム密度勾配遠心沈澱 (#65 rotor, 4,200rpm 46時間) によって調べると核 DNA である main band に shoulder が認められた。この成績は *T. evansi* の satellite DNA が kinetoplast のない原虫として長年継代を続けてきた clone にのみ存在するものではなく、kinetoplast のある clone から薬剤に

よって誘発した直後の kinetoplast のない原虫にも存在することを示すものである。次に kinetoplast がいないと増殖出来ない。 *T. gambiense* について同じような実験を行なったが、この species では kinetoplast の消失と共に satellite DNA もみられなくなった。これらの成績は kinetoplast のない原虫の増殖性と satellite DNA の存在との関係を一層支持するものと思われる。

質問 岡 好万 (徳大 養護教諭養成所)

T. evansi の AK 型の N-DNA を *T. gambiense* の AK 型に transform した場合、 *T. gambiense* の AK 型は分裂しないのか。

回答 小野 忠相 (阪大 微研)

御質問の実験は試みてみましたが、耐性の移行がおこらず、形質転換がおこらなかったものと考えております。

10. 正常家兎血清の *Trypanosoma cruzi* 原虫に対する溶解作用の電顕的観察

琴谷 景子, 神原 広二, 猪木 正三
大阪大学微生物病研究所原虫学部門

Electron microscopic observation on lytic action to epimastigote of Trypanosoma cruzi by normal rabbit serum

Keiko Kototani, Hirozi Kambara and Shozo Inoki

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

Trypanosoma cruzi の媒介昆虫内 form である epimastigote はマウスを除くいろいろな動物の正常新鮮血清によって溶解される。一方、感染動物内 form である amastigote, trypomastigote はこれに抵抗し、その原因が膜の性質によることはすでに報告した。

この溶解作用は、血清を加熱して非働化することにより消失するが、epimastigote に対する凝集作用は残っている。又、非働化した血清にマウスの新鮮血清を加えると、再び溶解作用が回復する。これらのことから、epimastigote に対する溶解作用は、補体を必要とする抗原抗体反応であり、抗体は何らかの機作で獲得される自然抗体であると考えられる。

この溶解作用を更に検討するために、ウサギの正常血清を *T. cruzi* の epimastigote に反応させ、それを経時的に固定し、包埋の後、電顕で観察した。

用いた材料は、Tulahuen strain の liquid medium 培養型で98~99%の epimastigote を含む *Trypanosoma cruzi* である。

血清を加えて5分後では、細胞質部分は少し荒れた様に見える。特に細胞膜部分の microtubules がかなり消失している。細胞の形全体は凸凹していて、細胞膜自身

が外へ突き出して、細胞質を分泌するような像を呈する。

10分後では5分後とあまり大差はないが、核やミトコンドリアの部分に影響が見られるようになる。つまり核では核膜が非常に広がってくること、ミトコンドリアではクリステが膨化してくることである。

30分後、細胞質の消失は進んでくる。核、ミトコンドリア、液胞、kinetoplast 等は残っているが、膜系は断片的にしか見られない。細胞全体の形は、最初の頃に見られた様な凹凸がほとんどなくなり smooth である。しかし細胞膜は拡大して見ると、前と同様に細かい突出が存在している。

60分後、細胞はかなり破壊されたものが多くなる。残っている細胞では、細胞質はほとんど消失し、核は chromatin が分解した様な状態に見え、kinetoplast も内部の kinetonucleus が核の chromatin 同様に分解してくる。鞭毛は最後まで良く残っているが、これも数は少なくなっている。

感染マウスより液体培地に移植し、25℃にて継代培養を続けると、長期間に亘って強い感染能を保持する。この時の培地中にでてくる form は epimastigote が85~

90%である。(trypomastigote 1% 内外, amastigote 10~15%) 完全に epimastigote に変わってしまったものがほとんど感染性を示さないのに比べて非常に興味あることである。この培養型に正常家兎血清を働かせると、外観的には epimastigote であるがより細長い形態の、溶解作用に抵抗性の虫体が多く認められる(約10%)。これが長期に亘って感染能を保持する要因であろうと思われるが、この form は血清に対しての膜抵抗性から見ると、trypomastigote への移行型ではないかと考えられる。trypomastigote ならば kinetoplast の特徴をもって epimastigote と区別できるので、それを見るために正常血清を作用させて残ってくる虫体を電顕で観察した。その結果、細胞は他の epimastigote と比べて非常に小さく細長く、細胞質はかなり density が高い。kinetoplast の kinetonucleus は coil 状(epimastigote の形)である。

以上のことから、kinetoplast の形から見ると epimastigote 型をとるが、感染性から見ると、trypomastigote への移行型だと考えられる。つまり膜の抵抗性の変化は、kinetoplast の変化に先行すると思われる。

質問 鈴木 守(東海大 医)

(1)電子顕微鏡像にみられる fuzzy substance について、

(a)血清を加えた系に直接固定液を加えているとすれば、これは artifact とも解釈できるが、この点についてのお考えをお聞きしたい。

(b)反応後1時間経た時の原虫を観察しておられるが、たとえばトキソプラズマ、羊赤血球、さらに細菌の系に於いては約15分で反応は終了する。もしトリパノソーマにこの事があてはまるとすれば1時間後の像は、死後45分を経た虫体を観察していることになり、直接、免疫反応とは関係なくなると思われる。

回答 琴谷 景子(阪大 微研)

(1)

(a) この溶解作用が予想より早く進み過ぎたので、前

過程の解析が充分でないので何とも言えない。

(b) 言われる通りこの溶解反応も5分後の像が殆ど完全に反応を受けたようにみうけられるので、それまでの経過の方が重要であると考えます。今後検討します。

質問 古谷 正人(徳大 医)

血清に対して抵抗する原虫と抵抗しない原虫とで unit membrane に差があるのか、それとも抵抗する原虫には unit membrane 上にさらにバリアー的なものが付着していると考えておられるのか。

回答 神原 広二(阪大 微研)

先に trypomastigote form, amastigote form には抗原性の異なる surface coat と思われる物質がある事を見出している。epimastigote は本来 surface coat を欠いているため血清の溶解作用を受けるが、膜自身がすでに抵抗性を獲得している事は、抵抗性 epimastigote は trypomastigote への移行型で膜の性質としてはすでに t-form と同じ性質を持っていると考える。

質問 鈴木 守(東海大 医)

トリパノソーマが補体の添加によって免疫溶解を受けるという事であるが、これは新鮮血清を加える事により、立証された事実であるか。若しそうであるとすれば、証拠として不十分であろうと考えられる。

回答 神原 広二(阪大 微研)

現在の所 mouse 血清に溶解作用のない事を利用して、非働化家兎血清に、これを加えると溶解作用を回復するデータしかない。今後検討します。

質問 伊藤 義博(徳島大 医)

peripheral microtubles の消失と細胞形態の変化に関係がある様に見られますが?

回答 琴谷 景子(阪大 微研)

peripheral microtubles の消失が早過ぎて今回の電顕観察ではその過程が明らかでなく何とも言えないが、原則的にはまず膜の変化が起こって、それに引続いて起こるものと考ええる。

11. *Trypanosoma gambiense* の “surface coat” の特性に関する研究

古谷 正人, 服部 裕子, 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

On properties of “surface coat” of Trypanosoma gambiense

Masato Furuya, Yuko Hattori, Yoshihiro Ito and Humio Osaki

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

Hiroshi Hayashi and Yoshikazu Oka

Training School for Nurse-Teachers, University of Tokushima, Tokushima

Trypanosoma gambiense は感染経過中不適当な生活環境の下ではその抗原性を変異させやすい特性を有し、この点が宿主側の感染防御に重大な影響を与えている。この変異及び感染防御に関与する抗原物質は、原虫細胞膜の外側に形成される一層の “surface coat” に関係深いものと考えられる。しかしながら、変異の機序及び “surface coat” の特性並びに形成に関してはほとんど明らかでない。今回は原虫から得た各種抗原を防御抗原性の観点から検討した結果及び顕微鏡観察所見を基に、“surface coat” の特性並びに形成に関する解析を試みた。

DEAE-Sephadex A-25 を使用して感染マウスの血液から分離精製した原虫を材料に以下の抗原を作製した。

1) 10mM tris-HCl buffer, pH 8.0 (5mM Mg⁺⁺, 30 mM KCl 加) に懸濁後、繰り返し3回凍結融解し、更に teflon homogenizer で軽く処理して得た 10% cell homogenate 粗抗原 (CA), 2) 前者に80, 60, 50及び40°C30分間の熱処理を施した抗原, 3) 4% formaldehyde 又は 2% glutaraldehyde で固定した抗原, 4) phosphate buffered saline-glucose に懸濁後、等量の 0.5% trypsin を加えて 4°Cで15分間反応させた上、2回遠心洗浄して得た生原虫から 1) の方法で得た homogenate 粗抗原 (TCA), 5) CA 及び TCA を 1,000×g 10分間遠心して cell debris を除去、次いで 10,000×g 20分間遠心後の上清を 144,000×g 90分間遠心処理して得た可溶性タンパク画分及びマイクロソーム画分抗原。

これらの抗原を等量の Freund's complete adjuvant とともにマウスの腹腔内に接種し、3日目及び30日目に

10⁴ 又は 10³ コ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、以下の結果を得た。

1. CA には免疫3日目及び30日目の原虫攻撃に対してマウスを20日以上耐過生残させる能力があった。この能力は80~50°C30分間の熱処理によって全く消失し、50°C30分間の熱処理で抗原に変性の起こることがゲル内沈降反応で示された。一方40°C30分間の処理の場合は免疫4日目の攻撃では耐過マウスは得られなかったが延命効果を示し、30日目の攻撃では全例が20日以上耐過生残した。

2. trypsin 処理は原虫細胞膜に傷害を与えることなく “surface coat” のみを分解消化することが電子顕微鏡観察で認められた。この処理原虫からの TCA の防御抗原性は CA に比べて極端に減弱した。更に “surface coat” 構成々分は trypsin によってもはや抗原活性を発現し得ない程度に分解されていることがゲル内沈降反応で明らかになった。

3. 4% formaldehyde 又は 2% glutaraldehyde で固定した原虫には宿主に防御能力を付与する力が認められなかった。

4. “surface coat” は amylase 処理によっても消化されること及び ruthenium red による糖染色法で染色されることが電子顕微鏡で観察された。

以上の結果から “surface coat” が感染防御に重要な役割を演じていることが強く示唆されると同時に、その構成々分はタンパク質のみでなく酸性多糖類を含む糖タンパク複合体であり、熱に非常に不安定なほか、alde-

hyde 系化合物によって抗原決定基 グループに変性の起こることが判明した。

5. CA 遠心分離物抗原においては、マイクロソーム画分に CA と同じ効果が認められ、この作用はマイクロソーム画分の DOC 処理により消失したが、可溶性タンパク画分では CA と同じ効果が得られなかった。trypsin によって “surface coat” のみを除去した TCA からのマイクロソーム画分にも 防御抗原性が認められたが、CA からのマイクロソーム抗原と比較して弱かった。

以上から “surface coat” 構成成分は原虫細胞質内で可溶性糖タンパク質として形成されると考えるよりも、小胞体内で形成、蓄積されたものが分泌して “surface coat” を構成している可能性の方が大である。引き続き

“surface coat” 構成成分を単離精製し、酵素処理法、等電点分析法、免疫学的手法等を用いてその特性を究明するとともに、抗原型変異株間での “surface coat” の分析を進め、抗原型変異機序の解明に資したい。

質問 猪木 正三 (阪大 微研)

使用されたフォルマリンの濃度は少し高過ぎるのではないのでしょうか？私の経験から0.03%ぐらいの稀積のものを試みてみられる必要があると思います。

回答 古谷 正人 (徳島大 医)

2% glutaraldehyde の方が少し防御抗原性に関して成績がよいようでもあり、御指摘の点はそのとうりだと思いますので、もう少し濃度を下げてやってみたいと思います。

12. 実験トリコモナス症に対する特異抵抗性獲得の研究、 特に *Trichomonas foetus* 80S ribosome の防御抗原性

岡 好万, 林 弘三, 石川富士郎
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

Studies on the acquirement of specific resistance to experimental trichomoniasis in mice with reference to the protective antigenicity of 80S ribosomes isolated from Trichomonas foetus

Yoshikazu Oka, Hiromi Hayashi and Fujiro Ishikawa

Training School for Nurse Teachers, University of Tokushima, Tokushima

Masato Furuya, Yoshihiro Ito and Humio Osaki

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

はじめに

抗原刺激に対応する生体の反応機構には、B細胞系の作動、増生に基づく抗体性免疫とT細胞系の分化、増生から導かれる細胞性免疫がある。細胞内増殖性細菌あるいは原虫に対する宿主の特異的防御反応はこの後者に強く依存しているが、防御免疫発現のためには少なくとも弱毒生菌(生虫)による感染の過程が必要であるとされている。しかし細胞性免疫の標識的存在である遅延型過敏反応は死菌に Freund's complete adjuvant (FCA)

を添加、処置することでも誘導が可能である。細胞性免疫のこの2面性を理解するためには、防御免疫を同じ枠内にとどめながらも、その抗原の質的構造の何かに相違があることを仮定しなくてはならない。

我々の研究目標は、この仮定を実験的に立証することと同時に、細胞外増殖原虫に対してもこの理論が適用できるか否か解答を求めることである。実験素材である *Trichomonas foetus* (Tf) は細胞外増殖性の原虫であり、この原虫の腹腔内感染に耐えた mouse は、その後

の致死の再感染に強く抵抗できるが、死虫による抗体免疫ではこれに耐えられないことを知った。この生虫に存在する防御抗原性が *Tf*-ribosome に局在することを1967年より度々公表してきた。ここでは ribosome の防御抗原性発揮に FCA 及び Freund's incomplete adjuvant (FIA) がどのように影響するかを中心にして述べる。

実験方法

Tf-ribosome の分離、調製及び免疫処置：*Tf*-ribosome は物理的ストレスに著しく不安定であるため、分離精製には最も温和な法を採用した（林ら、医学と生物学、86、309～312、1973）。分離した *Tf*-ribosome は 77.9S の単一の peak を示し、紫外部吸光において最低吸光 235m μ 、最大吸光 260m μ 、max/min は 1.66～1.87、RNA 対 protein の化学分析比は約 1 : 1 であった。

上記の性状を持つ *Tf*-ribosome を抗原として腹腔に免疫処置した mouse の防御能力を測定した。実験系は *Tf*-ribosome のみ、*Tf*-ribosome+FIA 及び *Tf*-ribosome+FCA の3免疫処置に大別し、その各々について1回及び2回免疫を比較測定した。2回免疫の場合は投与抗原量を等分し、adjuvant の添加は特別の場合を除き初回のみとした。また adjuvant の添加量は基礎実験の結果から、特に FCA の見掛け上の非特異的効果の少ない0.1mlあるいは0.05mlを選んだ。防御効果の測定には 4.0×10^7 *Tf* 生虫を腹腔内に攻撃し、1カ月間生死を観察記録した。

成績

Tf-ribosome のみによる免疫：*Tf*-ribosome 1.12mg という比較的大量1回免疫では延命効果さえ観察されず、無処置対照群と同様に100%の致死率を示した。6～10mg（1回量3～5mg）の2回免疫群においては、極めて微弱であるが延命が認められた。しかし、致死率は依然として100%であった。また合計60～100 μ g以下の2回免疫群では全く無効であった。

Tf-ribosome+FIA による免疫：FIA を添加した ribosome 1.12mg の1回免疫では明らかな延命効果を見たが、100%の致死率を変更することは不可能であった。2回免疫においては10mg（1回5mg）という極大量の免疫処置を施した際に顕著な延命効果を示すとともに約40%の生残例を得た。また100 μ g（1回50 μ g）免疫群においても著しい延命が現れたが、生残率は数えることができなかった。10 μ g（1回5 μ g）免疫群では全く無

効であった。

Tf-ribosome+FCA による免疫：FCA を添加した場合、ribosome 60 μ g という極めて微量の1回免疫で約92%の、また600 μ g以上の1回免疫では100%の生残率を見た。この場合 FCA のみの注射（対照）群でも30%弱の生残例を見たので、免疫群の生残を完全有効%とみなすことはできないが、実験群中で最も高い防御成績であった。2回免疫群の成績は、1回免疫とほぼ同じか幾分低い結果を示した。すなわち2回免疫による免疫2次効果は現れなかった。

総括

Tf-ribosome のみの投与では、大量を用い更に追加免疫を施しても防御免疫はもちろん、抗体免疫さえも成立し難い。これは免疫担当細胞による抗原認識に至らないためと思う。大量の *Tf*-ribosome+FIA の1回免疫ではB細胞を刺激増殖し、抗体免疫を生じ、更にこれに追加を施すと、ある程度見掛け上の防御免疫が現れ、耐過生残例を見るに至るが、これが真の感染防御免疫であるか否かは今後検討を加えたい。FCA の添加の際は、たとえ *Tf*-ribosome が微量であってもT細胞を刺激増殖し、これから分化した感作リンパ球が防御免疫の主役を果たすと推測している。また *Tf*-ribosome+FCA で免疫後に *Tf*-ribosome の追加免疫を施しても、免疫2次反応による防御の増強は現れなかったことが、どのような理由か明らかでない。これらの諸点について更に追究を進め確証を得たい。

質問 中林 敏夫（長崎大 熱研）

アジュバント接種によって、ある程度の感染防御が得られているが、アジュバント接種によって、腹腔内あるいは脾臓などのマクロファージ活性（非特異的か）が亢進しているか否か検討されたか。

回答 岡 好万（徳島大養護教諭養成所）

Freund's incomplete adjuvant の ip-injection では腹腔内細胞の誘出は顕著ではありませんが、complete adjuvant を injection しますと lymphoid cell の著しい誘出が起こります。しかし、これらのすべての cell が *T. foetus* と反応するのではなく、反応するリンパ球（T-クローン）が効率よく ip 内に誘導されることは推測できます。ただ complete adjuvant の非特異効果については今後明らかにされなくてはならない問題です。

13. ニワトリマラリア (*Plasmodium gallinaceum*) の発育鶏卵内培養について

中林 敏夫, 竹田 英子
長崎大学熱帯医学研究所疫学部

Developing chick embryo culture of Plasmodium gallinaceum

Toshio Nakabayashi and Eiko Takeda

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

マラリア原虫の発育鶏卵内培養 (CEC) は1940年代よりすでに試みられ, 現在までに多くの報告がある. 初期の CEC はマラリア原虫の赤外型 (EE 型) をめぐるマラリア発育環の確認を主目的とするものであったが, 最近原虫の増殖, 病理学, 薬剤作用などの検討に応用されると共に, EE 型の組織培養への中継として利用されてきた.

この研究もニワトリマラリア (*Plasmodium gallinaceum*) の EE 型の組織培養への中間段階として, まず CEC における赤血球型 (E 型) の培養の可否, および EE 型の検出如何を検討したものである. なお一部の報告を除き, 人を含む哺乳動物マラリアの CEC 成功の具体例はまだ無い.

感染ひなどり (白色レグホン) からの E 型材料としては適当な時期の感染血液を, EE 型材料としてはスポロゾイト感染によるものは接種後10~14日, 血液感染によるものは30~40日の感染鶏の臓器 (主に脳, 脾) を用いた. CEC の接種法は主として静脈内接種法 (i.v.) および漿尿膜接種法 (CAM) を用い, 時に胎児接種法なども試みた. 鶏卵は孵化10日前後のものを主に使用した.

感染鶏血液 (E 型を含む) による i.v. では, 技術上の困難さや術後の出血などから死亡する卵が少なくなかったが, 接種された卵の胎児血液中に5~7日頃から E 型が出現し, 活発に増殖するのが認められた. 接種原虫数は 10^4 - 10^6 を用いたが, 最近ではかなり少数原虫でも十分培養が可能なることを知った. まだ i.v. 接種卵から EE 型を検出していない. CAM 接種では原虫の血中出現は

遅延し, 7~10日以上経て後に検出できた. 時には孵化後に検出するものもあり, 接種時期について配慮が必要と思われる. 何れの場合も感染赤血球率が80%以上に達し, 胎児はすべて死亡した. 感染胎児心血を採取し, 次代卵に i.v. または CAM で累代維持できるが, この維持株は現在にわたりへの感染性を失っていない. 興味あることは感染胎児が感染にわたりに見られるような顕著な貧血を来さないことである.

感染にわたり及び感染胎児臓器 (EE 型を含む) を材料とし CAM を試みた. 材料は主に脳, 脾で小細片としてか, 細胞浮遊液として接種した. 血中への E 型出現は7~10日以上を経て検出できるが, 少数例に胎児脳内に EE 型を検出している. これらの EE 型材料による次代卵への接種や組織培養への応用を実施中である.

スポロゾイトの CAM 法による接種については, Marty ら (1971) がスポロゾイトを持つネッタイシマカに発育卵を吸血させ, 一部の卵に感染が成立し, EE 型を検出したと報告している. 我々も感染ネッタイシマカの唾液腺よりスポロゾイトを集め i.v. および CAM 法を試みたが, 培養は不成功に終わっている. 直接感染蚊に吸血させた卵について, 胎児の脳, 脾をひなどりに接種し発症させえたことから, 間接的に胎児中に原虫が存在することを認めるに止まった.

ニワトリマラリアの CEC は比較的容易に実施しえること, またこれを用いてマラリア原虫に関する多方面的生物学的研究に応用しえることを知りえた.

14. *Eimeria tenella* の細胞培養

堂本 憲司, 浜田 義雄
武田薬品畜産技術

Cultivation of Eimeria tenella in cell culture

Kenji Domoto and Yoshio Hamada

Animal Health Products Research Department, Takeda Chemical Industries, LTD., Osaka

固有宿主の腸管以外では発育しないとされていたニワトリコクシジウムを Patton (1965) および Strout *et al.* (1965) が細胞培養で発育させることに成功して以来、本原虫の研究は細胞レベルで解析可能となり急速に進展しつつある。しかし近年になって始められたものであるため感染および抗コクシジウム剤の定量面に関する研究は充分でない。

我々は本原虫の細胞培養法によるスクリーニング系をニワトリコクシジウムの一種である *Eimeria tenella* と数種の株化細胞を用いて感染の定量化を中心に検討した成績を報告する。

細胞は BHK 21, BK, 2CER, C-5-10, HeLa, PS および VERO 株化細胞を用いた。培養液は kanamycin を 50mcg/ml 濃度含有する Eagle's MEM に Tryptose Phosphate Broth を加えたものを使用した。*E. tenella* の培養はカバースリップを入れたレイトンチューブに単層細胞シートをつくらせた後、培養液を交換し人工脱殻によって得たスポロゾイド浮遊液を接種、総量 2ml/tube とし 41°C の 5% 炭酸ガス孵卵器で培養した。スポロゾイト接種後一定間隔でカバースリップを取り出しプアン固定、ヘマトキシリン・エオジン染色をし鏡検した。侵入虫数および初代シズント (シズント) 数は標本を 400 倍で観察、10視野中の虫数を計数、それぞれ 2 枚の標本の平均虫数で示した。初代メロゾイト (メロゾイト) 数は培養液中に遊出したメロゾイト数を血球計算盤で計数、2 本のチューブの平均数で示した。monensin は methyl-alcohol で robenidine は dimethylsulfoxide で 1mg/ml 濃度に溶解し以下培養液で 10 倍階段希釈した。各濃度とも 2 本のチューブに培養液 1.5ml, 薬液 0.2ml, スポロゾイト浮遊液 30 万コ / 0.3ml の順に接種し 3 日間培養後染色、虫数を計数し薬剤の効果を判定した。

スポロシストからスポロゾイトへの脱殻は 37°C より 41°C で行なう方が良好であり、90% のスポロシストを脱殻

するのに要する時間は 37°C では約 120 分間、41°C では約 60 分間であった。

脱殻に用いる胆汁はニワトリヒナ胆汁または 5~10% 胆汁粉末液の上清がイヌおよびウサギ胆汁より脱殻力が強かったが得られたスポロゾイトの細胞内侵入力、発育力には差が認められなかった。

スポロゾイトは活発に屈曲、回転運動をしながら遊泳し、虫体の一端から速やかに細胞内へ侵入した。細胞への侵入は接種直後から始まり侵入率は 2 時間で約 50%、4~6 時間で plateau に達し以後 24 時間までほぼ維持された。

未成熟シズントは接種 48 時間後から、成熟シズントは 72 時間後から出現し、これら発育シズント数は接種 3~4 日後が最も多かった。

未成熟シズントの形態は Conventional type, Blastophore type および Sporozoite shaped type が、成熟シズントは Rosette type と Nonrosette type が観察された。また Budding type もみられた。

BHK 21 細胞で培養した 50~500 コの核またはメロゾイトを含有するシズントの大きさは 5.7~40.5 × 11.3~61.6 μ, 平均 20.2 × 37.4 μ であった。

細胞の種類による発育を比較してみると、スポロゾイトの細胞内侵入数には差がないが、シズントの発育数は BHK 21 と BK 細胞が最も多く、次いで 2CER, VERO 細胞が多く、HeLa, PS 細胞がこれにつづき、C-5-10 細胞が最も少なかった。

線維芽細胞では上皮細胞ではみられない非常に細長いシズントが多数観察され、シズントの形は宿主細胞の形の影響を受けやすいことがわかった。

BHK 21 細胞におけるシズント数はチューブ当り 60 万コのスプロゾイトを接種した時が最も多く、120 万コ以上接種では細胞の剝離が起り正確な計数が不可能であった。一方遊離メロゾイト数は 30~120 万コ接種間でほと

んど差が認められなかった。

BHK 21 細胞を用いて、侵入虫数（スポロゾイト～シズント数）とシズント数の同時計数により薬剤の効果を測定した結果、monensin の最小シズント発育阻止濃度（MIC）は 0.001mcg/ml、最小細胞毒性濃度（MCTC）は 0.1mcg/ml であった。そのさい、薬剤濃度に応じて侵入虫数とシズント数を同じ比率で減少させていたことからその作用は、スポロゾイトの細胞への侵入阻害であることがわかった。

robenidone は MIC ; 0.1mcg/ml, MCTC ; 10mcg/ml であり、その作用は細胞侵入後のスポロゾイトの発育阻害であった。

質問 浅井 利勝（阪大 微研）

E. tenella を培養細胞中で培養して Oocyst を形成させ得たか。Oocyst を形成できたとすれば、それからの感染は可能であったか。Oocyst まで発育しないとすれば、どの Stage まで発育させ得たか。

回答 堂本 憲司（武田薬品 畜産技術）

発育は初代メロゾイト迄です。一部初代メロゾイトが細胞内に侵入、膨化2代シズントと思われるものもみられたが小さく発育は悪かった。

質問 鈴木 守（東海大 医）

(1) 薬剤効果を定量化する際に虫体が細胞シートの上に均等にばらつかない為に問題がある事があるが、この点をいかに解決されたか。

(2) 細胞の感受性は、用いる細胞に原虫を何代も通過させる事によって、変化してくる事をも考慮されたい。

回答 堂本 憲司（武田薬品 畜産技術）

1) スポロゾイト浮遊液を41℃に接種時迄保っておくと、細胞シート内にはほぼ均等に侵入します。

2) 株化細胞では life cycle が一巡しないので、細胞通過は不可能であり、常に初代（未通過）の原虫で行なった。

質問 扇元 敬司（東北大 農）

1. *Eimeria tenella* は古くから Oocyst まで in vitro 培養の可能な *Coccidia* としてよく知られていますが、この実験ではなぜ、その途中の相を観察されたのですか。

2. このような薬剤スクリーニングをされる場合、新鮮分離株を用いられず、細胞に馴化した *Eimeria tenella* を用いられた方が再現性があるのではないのでしょうか。

回答 堂本 憲司（武田薬品 畜産技術）

1) 株化細胞を用いて初代シズントを計数する方法がばらつきが少なく、再現性が高いからです。

2) in vitro では、ニワトリ腎初代細胞を用いてもオーシストの産生数は少なく、従って細胞に馴化させることは困難です。なお新鮮なオーシスト（H株）を用いればスライドで示したごとく再現性が高い成績が得られます。

15. *Paramecium caudatum* 接合型の Modifier gene

樋渡 宏一, 茗原 宏爾

東北大学理学部生物学教室

A modifier which suppresses the dominant mating-type allele in Paramecium caudatum

Koichi Hiwatashi and Koji Myohara

Biological Institute, Tohoku University, Sendai

Paramecium caudatum の接合型は1対の対立遺伝子によって支配されており、優性ホモ又はヘテロは一方の接合型を現し、劣性ホモは他方の接合型を表現する。ところが優性遺伝子によって支配される方の接合型は成熟期

に入ってから一定の分裂をくり返すと、その表現型が不安定となり、定常期の後半になると劣性形質を示すようになる。これを接合型転換とよんでいるが、これがアクチノマイシンDやシクロヘキサミドによって抑制される

ことはすでに報告した。この現象は優性形質の発現の抑制がタンパク合成阻害剤で抑えられるという、2重の抑制現象であって、現象的には Bridges の定義した suppressor mutation によく似ている。そしてタンパク合成阻害剤は優性形質の発現そのものは抑制しないから、阻害剤は優性接合型遺伝子の働きを抑制しているのではなく、他の遺伝子の働きを抑えていることを暗示する。この新しい遺伝子を明らかにする目的で、ニトロソグアニジンによる突然変異の誘発を試みた。

優性遺伝子によって支配される接合型に属するクローンを $75\mu\text{g/ml}$ の N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine で30分処理し、処理後約30個の細胞を分離し、それぞれクローンを作り、各クローンに自系接合を行なわせて、その子孫に接合型転換を行なわないものを探した。その結果 NG 601 と名づけたクローンが接合型転換を行わないことが判明した。

NG 601 を野生型の Kok 1 (接合型遺伝子が劣性ホ

モ) に交雑してえた F_1 の優性遺伝子によって支配される方の型はすべて接合型転換を行なうが、これを自系接合させて得た F_2 には接合型転換を行なわない系統が分離した。すなわち、ニトロソグアニジンによって得た接合型転換を行なわない系統は真の遺伝子突然変異であることがわかる。従って型転換を行なう野生型の株は、この突然変異の対立遺伝子である優性遺伝子をもっていることになり、この優性遺伝子の働きは接合型を決定する優性遺伝子の働きを抑制して、劣性ホモの表現型に変えることである。

この新に見出された遺伝子はゾウリムシにおいて見出された第3番目の modifier gene であって $su (+^{miv})$ で表すことにした。 $su (+^{miv})$ をホモにもつ系統は型転換を行なわないので、遺伝的な研究や、大量培養を必要とする生化学的研究には極めて便利であり、すでに接合型物質の研究には利用されている。

16. *Paramecium caudatum* 接合完了体における DNA 合成の調節

見 上 一 幸

東北大学理学部生物学教室

Regulation of DNA Synthesis in exconjugants of Paramecium caudatum

Kazuyuki Mikami

Biological Institute, Tohoku University, Sendai

接合を完了したゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) において、新大核の形成過程に2通りある。一つは、通常の場合で、小核の還元分裂によって生じた前核の融合によって出来た核(融合核)に由来する場合である。もう一つは、旧大核断片の再生したものに由来する場合 (Macronuclear regeneration) である。現在まで、知る限りにおいて、融合核由来の大核原基があるときには、大核再生は起こらない。大核原基のない場合にだけ、旧大核の断片は新大核になり得る。したがって、大核原基が存在すると、断片核の成長を抑制する機構が働いているはずである。

接合において、大核は紐状化の後、40~50個の球状又

は楕円状の断片となる。これらの断片核は、すぐには消失しない。接合完了体を飢餓状態におき、細胞分裂をおさえた場合、その数の半減時期は、培養液によって異なり、Stationary culture medium 中では5~6日であるが、Exhausted medium 中では著しい減少はみられない。さらに、接合完了体を飢餓状態におかず、富栄養の生レタス培養液に直接移した場合にも、数の減少は著しくなく、接合後6回の細胞分裂を完了した時期、つまり7 Cell cycle でも断片が観察された。

これらの断片核のほぼすべてが、潜在的には再生能力を持っている。これは大核原基を欠く細胞を、 ^3H チミジンのオートラジオグラフィーで調べた場合、すべての

断片核への、等しく盛んな取り込みが見られることから知ることができる。また、接合完了体を早い時期に生レタス培養液に移した場合、大核原基が分裂能力を獲得する以前に細胞分裂が起こり、高い頻度で大核原基を欠く細胞を生じるが、これらの細胞では大核再生が行なわれる。この現象は、接合後第4回の細胞分裂でも起こるから、少なくとも5 Cell cycle まで、断片核は再生能力を持っているといえる。

次に、接合後、各 Cell cycle の断片核の体質がどのように変化するかを調べた。第2 Cell cycle から第3 Cell cycle、第4 Cell cycle と分裂が進むにつれて、個々の断片核の体積が増加が見られた。酢酸オルセイン染色によっても、明らかに実質的な体積の増加を示す像が多く観察され、フォイルゲン染色でも同様の傾向がみられた。したがって、たとえ大核原基の存在下でも、接合後、初期の数 Cell cycle では、断片核において DNA 合成が行なわれていることが示唆される。

そこで、大核原基存在下での、旧大核断片の DNA 合成を ^3H チミジンのオートラジオグラフィで調べた。その結果、接合完了体では、断片核での単位面積当りのグレイン数が、大核原基を1としたとき、約0.1~0.2、

続く第2 Cell cycle では、大核原基への取り込み量に近い約0.8という値を示した。第3 Cell cycle 以後では、断片核への取り込みは減少し、再び接合完了体と同様又はそれ以下の値を示した。この取り込みの差は、大核原基の取り込み量の変化に起因するものではなく、主として断片核自身の取り込み量の変化を反映したものと見える。第1 Cell cycle における断片核での DNA 合成の低下は、断片化後の間もない時期であり、第3 Cell cycle 以後での場合と質的に異なった現象であると考えられる。

大核原基が旧大核断片の DNA 合成を抑制する機構として、(1)大核原基が DNA 合成に必要な前駆物質等を優先的に使用する、(2)大核原基から、直接又は間接に断片核の DNA 合成を阻害する“ファクター”が出される、という2つの考え方が可能である。接合後、第3 Cell cycle から始まる断片核の抑制は、大核原基の成長過程から見て、(2)の考えが妥当である。大核原基から出されるファクターが何であるかは、今後の問題である。第3 Cell cycle は、融合核に由来する4個の大核原基が1細胞1大核(原基)に分配された時期であり、大核として分裂能力を獲得する時期であるという点で興味深い。

17. *Paramecium caudatum* の接合型物質

北村 昭夫

東北大学理学部生物学教室

Mating substances in Paramecium caudatum

Akio Kitamura

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

ゾウリムシの接合過程は、相補的な接合型細胞間の凝集反応により開始される。この反応は、繊毛を介しての接着であり、接合型特異性が非常に高いことから、繊毛表面に接合型物質が存在するものと考えられている。ところが、この接合型物質を抽出する試みは、Metz 以来20余年、三宅や Cronkite らの試みにもかかわらず、すべて不成功に終わっている。

演者は、16ℓ培養の *Paramecium caudatum* から改良した MnCl_2 法で分離した繊毛を材料に、接合型物質の抽出を試みている過程で、以下の方法により、交配反応性

粒子を得た。

繊毛を2M尿素、0.1mM EDTA で60分処理後、7,000 g 10分の遠心で残渣繊毛を除き、その上清を pore size 0.45 μ の membrane filter でろ過する。ろ液は、10mM Tris-塩酸緩衝液 (pH 7.3) で10数時間透析後、105,000 g で60分遠心分離する。不溶性分画に交配反応性粒子が得られる。つぎにこの粒子について明らかになった性質を述べると、

(1) 接合型特異的に相手型の生細胞に細胞凝集を誘導し、交配反応に始まる接合の全過程を正常に誘導する物

質としては、今までに得られた最小の系である。

(2) 細胞凝集能に関しては、分離直後の繊毛と同じ程度に高い比活性を保持しており、one cell あたり 10g^{-9} の粒子で細胞凝集を誘導し、しかも比活性は数週間安定である。

(3) 電顕負染色での観察から、粒子は直径 1000\AA の vesicle と幅 300 ないし 500\AA 、長さ数 μ の filament が対をなしている様な形態を有する。後者が、 0.45μ の membrane filter をそのままの大ききで通過したとは考えにくいので、透析後に再構成された可能性が高い。vesicle と filament を 0.2μ の membrane filter でろ過しても、ろ液に活性が認められることから、少なくとも vesicle は活性を有する。

(4) 得られる粒子は、処理前の全繊毛タンパク質中 $5\sim 10\%$ を占め、stock により差がある。

(5) 分離繊毛の超音波処理では、このような反応性粒子は得られないことから、単なる物理的な破壊で生じたものではない。

交配反応性粒子は、実験に使用したすべての stock から、この尿素-EDTA 法で得ることができる。これら粒子及び性的に未熟期の状態のゾウリムシの分離繊毛から同じ方法で得た反応性の無い粒子について、その構

成 subunit の比較を SDS-polyacrylamide gel 電気泳動で調べた。なお、粒子は、 1% SDS, 1% β -mercapto-ethanol, 8M 尿素を含む 10mM リン酸緩衝液 (pH 7.2) 中で、 35°C 3 時間処理することにより可溶化し、 0.1% SDS, 10mM リン酸緩衝液, 8M 尿素, 50mM モノヨード酢酸を含む溶液に対し、 25°C 10 数時間透析し、カルボキシメチル化した。gel system は Weber & Osborn (1969), コーマージーブルー染色は Fairbanks *et al.* (1971), PAS 反応は、基本的には Segrest & Jackson (1972) の方法に従った。

粒子は約 20 種の polypeptide から成り、そのうち分子量 12 万の polypeptide-7 は、未熟粒子には存在せず、すべての成熟粒子に検出された。この subunit が接合型物質の active site である可能性は高いが、直接の証明はまだできない。また polypeptide pattern では、接合型 V と VI の間には差はなかった。さらに gel の PAS 反応では、5 本の PAS 陽性のバンドをえた。その中、PAS-1, 2, 3 が、それぞれ polypeptide 3, 4, 16 に相当し、他のみかけの分子量 1 万の PAS 陽性の脂質あるいは糖脂質を多量に含んでいることが分った。糖タンパク質が、接合型物質に必須の要素なのかどうかは、目下検出中である。

18. 繊毛虫 *Paramecium trichium* における表層構造の再生について

洲 浜 幹 雄
広島大学理学部動物学教室

Regeneration of surface structures in Paramecium trichium

Mikio Suhama

Zoological Laboratory, Faculty of Science, Hiroshima University, Hiroshima

ゾウリムシの表層は高度に分化し、著しく硬直性に富み、体の一端を切除された再生片においても既存の表層部分の移動によって失われた部分を補うことはない。新しい表層部分は新しい生長によってのみ生ずると考えられている。この研究は細胞の前端約 $1/4$ を細胞の長軸に対してほぼ直角な面で切除されたゾウリムシにおいて、失われた部分の再生過程を細胞の大きさの変化からではなく表層を構成する単位 (cortical unit territories) の増殖による数量的な変化を通して追求した。

切除を受けた細胞の背側または腹側などにおいて一定の区域が定められ、これらの中の各繊毛列を構成する単位が数えられた。この数値から 1 本の繊毛列当りの単位数が求められ、各細胞間の比較の基準とされた。対数期にある正常細胞の背側の 1 繊毛列当りの平均単位数は $44\sim 47$ の間にある。再生片の最初の 2 分裂において表層構成単位の前の娘細胞 (Proter I) と後の娘細胞 (Opisthe I) への不均衡な分配が起る。各区域の両娘細胞側における単位数の比 P/O は $0.55\sim 0.70$ (7 細胞) の間にあ

り、Opisthe I の方の単位数が極端に多い。増殖が完了して単位数が増加してもこの比は0.62-0.73 (13細胞) である。正常細胞において2分裂時の形態形成によって生ずる両娘細胞間の単位数の比は背側ではほぼ1.0 (31細胞) である。Proter I の次の分裂において、前の娘細胞 (Proter II) の単位数に対する後の娘細胞 (Opisthe II) のそれとの比P/Oは0.90-0.96 (9細胞) である。しかし各娘細胞の1 繊毛列当りの単位数はどの区域においても正常細胞のそれよりはるかに少ない。

Opisthe I の2分裂によって生じた姉妹細胞 (5対) における繊毛列当りの単位数は正常細胞のそれに匹敵するまで回復する。

Proter II の次の2分裂において P/O は 0.92-0.96

(3細胞) の間にある。しかし両娘細胞の繊毛列当りの単位数は正常細胞のそれよりまだ少ない。

一方、再生片における構成単位の増殖様式が調べられた。最初の2分裂における Proter I 側の増殖様式は増殖域が細胞前端近くまで広がっている点を除けば正常細胞のそれに近い。急激な単位数の増加を示す証拠は認められない。同様に Opisthe I 側でも顕著な変化は観察されない。

以上の結果は再生片における細胞分裂面の位置が3回の2分裂を通じて徐々に細胞の赤道面に復することを示している。このことは切除を受けた細胞において口部の位置の移動とそれを取り巻く繊毛列の前方への伸長が起ったことを暗示する。

19. 大核分裂の異常性を示す *Euplotes patella* (繊毛虫) の系統について

片 島 亮

広島大学理学部動物学教室

Abnormality of macronuclear division in certain strains of Euplotes patella (Ciliata)

Ryo Katashima

Zoological Laboratory, Faculty of Science, Hiroshima University, 730 Hiroshima

E. patella の細胞分裂における正常過程では、大核分裂が終わってから細胞質分裂が完成して、娘細胞が離れる。ある系統の分裂体では、大核分裂がおこるけれども細胞質分裂の異常によって、細胞質でつながれた鎖体が形成される。多くの繊毛虫で報告されている鎖体または monster はこの型に類似している。今回報告しようとする系統5aの分裂体では、小核分裂並びに細胞質分裂は対照と同様に正常におこるにもかかわらず大核分裂が異常になることに原因して、大核でつながれた鎖体ができる。この鎖体は5-96時間中に、連結大核を運動によって切断して単体を生じる場合と、そのまま増殖して3-4細胞からなる鎖体をつくる場合がある。関連する知見は他の繊毛虫で今日までにえられていない。ここでは、大核でつながれた鎖体形成を系統のどの細胞も一樣に行なうかどうかという立場からの研究成果について述べる。

5a 系統の成長相において、対数期のある時点では細胞の32%、定常期では3%が鎖体で他は単体である。培地のどの細胞も鎖体を形成するかどうかをしらべるために、培地から単体を単離し、5日間培養して観察した。どの単離系も分裂比は対照よりも低く、その75%では子孫の全部または一部が鎖体を形成するが、25%は形成しない。後者について、細胞分裂が正常であるかどうかをしらべるために、初期分裂体 (低倍率で細胞の左右の両側の中央に浅いくぼみが認められる) を単離し、娘細胞分離までに要する時間を測定した。対照の必要時間は24℃で約60分間である。実験区の初期分裂体の3%は対照と同じ時間に (詳細は後述)、21%は平均70分、26%は110分、30%は150分、20%は190分それぞれ対照よりも遅れて娘細胞を分離する。分離が遅れる場合も、分離前の両娘細胞は細い紐状の大核で前後に連結された一時的な鎖体である。この鎖体の両細胞は独自の運

動によって連結大核を切断して単体になる。この場合、分離時間の対照よりの遅れの程度は連結大核の太さに比例するようである。一時的な鎖体は細胞分裂における大核分裂の失敗によって生じることから、基本的には永続的鎖体と相同であることが明らかとなった。かくして、系統5aの細胞の97%は、細胞分裂において永続的または一時的な鎖体を形成することになる。

細胞分裂における大核分裂の異常、さらに鎖体が単体を生じる際の太核の一部の体外放棄によって、細胞の大核量のかなりの相異が予想される。観察した細胞群では、無大核体、対照の1/5-1/10に相当する小さな大核、対照よりも著しく大きな大核をもつ細胞等が変化する割合で混在する。このような細胞群で生じる分裂体および鎖体を観察して、大核に関する次の知見をえた。

小さな大核をもつ分裂体では、大核は体の前方に偏在し、大核分裂がおこらないのに細胞分裂が完成するために、鎖体は形成されないが、生産される後嬢細胞は無大核体である。前述の実験区の初期分裂体の3%は鎖体形成を行なわないで対照と同じ時間に嬢細胞を生ずる場合は、生産する一方の嬢細胞が無大核体であることから、小さな大核をもつ分裂体から由来するものと思われる。

無大核体は細胞群の最高8%以下で生産される。普通の大きさの大核をもつ分裂体でも、大核が体の前方に偏在するために、前嬢細胞は大核の大部分を、後嬢細胞は小部分を占有する。後者の大核は対照の1/2~1/5に相当する。また、大きな大核をもつ分裂体においても同様な大核の不平等分配がみられる。大核の不平等分配では、前嬢細胞が後嬢細胞よりも大きな大核を占有する場合が多く、逆の場合はまれである。さらに、大核の大きさは無関係に両嬢細胞が等しい大きさの大核をもつ場合もみられる。観察した鎖体において、大核の両嬢細胞への平等性は23%、不平等性は77%であった。このような現象は、細胞分裂時における大核分裂の異常と大核の細胞内位置の偏在の相乗的結果によると思われる。

かくして、系統5aの大核分裂に関する異常性はどの細胞でも一様に発現されていることから、この形質は遺伝的要因によって裏付けされていると想像される。

質問 樋渡 宏一(東北大 理)

5aは接合過程は正常に行なわれますか。

回答 片島 亮(広島大 理)

接合過程は、大核編成を除いて、正常に行なわれます。

20. 走査電子顕微鏡によるウマ大腸内繊毛虫類の体表構造

今井 壯一, 大関 好明, 扇元 敬司, 勝野 正則
東北大学農学部家畜衛生学教室

王 俊秀, 藤田 潯吉
日本獣医畜産大学寄生虫学教室

Scanning electron microscopy of the ciliate protozoa in the large intestine of horse

Soichi Imai, Komei Ozeki, Keiji Ogimoto and Masanori Katsuno

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

Jiunn-Shiow Wang and Jinki-ichi Fujita

Department of Parasitology, Nippon Veterinary and Zootechnical Collage, Tokyo

反芻動物と並ぶ大型草食獣であるウマにおいては盲腸および結腸が極度に発達し、ここに多数の細菌群および反芻胃内繊毛虫と酷似した繊毛虫類が棲息するが、これらの繊毛虫相の構成については、すでに第6回本学会大

会において成績の概要を報告した。演者の1人今井および角田は、さきにヒツジ反芻胃内繊毛虫類の体表構造を走査電子顕微鏡(以下SEM)で調査し、それらの体表に種により異なる縞状構造が存在することを明らかにし

たが、今回本法をウマ大腸内絨毛虫類に応用し、その体表構造を調査して反芻胃内絨毛虫類との比較をおこなった。

材料は山形県新庄市の屠場より採取し、2重ガーゼ濾過後、前報に従ってショ糖処理をおこない、1%グルタルアルデヒドおよび1%過マンガン酸カリウムで重固定をおこなった。0.1M リン酸緩衝液で洗浄後、定法通りアルコール系列による脱水をおこない、さらに酢酸イソアミルで置換して、日立 HCP-1 型臨界点乾燥装置で乾燥した。乾燥試料はカーボン、金蒸着を施し、日立一明石の MSM-2 型 MINI-SEM で観察をおこなった。

その結果、金毛亜綱裸口目 Bütschliidae 科に属する *Blepharospaera sp.*, *Polymorpha ampulla*, *Bundleia postciliata*, *Didesmis ovalis* などにおいては、体表の1部あるいは大部分に均一な絨毛が観察され、絨毛の基部には粒状構造が存在し、体軸に平行に配列されているのが見られた。また、粒状構造の配列と平行に走る細い溝が認められた。これに対して絨毛を欠いている部分には微細な縞状構造が観察されたが、絨毛基部の粒状構造様の形態はまったく認められなかった。また、絨毛の存在する部分と欠除している部分との境界には明瞭な形態学的区分はなく、*B. postciliata* においてわずかに絨毛発生部位の陥没が見られた。毛口目 Paraisotrichidae 科に属する *Paraisotricha sp.* においても裸口目の各種と類似した絨毛基部の粒状構造が観察されたが、それらの配列の間隔は広く、また粒状構列をはさむ溝状の構造は認められなかった。これに対して同じ目に属する *Blepharocorythidae* 科の *Blepharocorys sp.* は、光学顕微鏡的に旋毛亜綱に属する絨毛虫と類似した形態をもつが、SEM による観察においても他の全毛類とは異なり、口部絨毛域において体表が広範囲に陥没し、他の体表部位とは明らかに区分が画されているのが認められた。しかしながら旋毛亜綱と比較して、棘毛が形成されず、また絨毛部位をとりまく lip の形成も認められない点で異なっていた。本科に特徴的な頭部の鳥の口ばし状の突起は体表の連続として観察された。体表には微細な縞状構造あるいは明瞭な脳皺状構造が認められ、種内において特徴的な体表構造をもつことを示唆された。

吸管虫目 Acinetidae 科の *Allantosoma intestinalis* では体表にやや不明瞭な亀甲状の構造が観察され、体中央部にリング状構造で他の体表と隔てられた収細胞の excretory pore が認められた。

旋毛亜綱に属する絨毛虫類では全毛類に比較して、より複雑な形態をもち、絨毛部位では反芻胃内旋毛類と類似した構造が観察されたが、他の体表部位ではかなり明瞭な差異が見られた。*Spirodictyon equi* は、外形が反芻胃内に棲息する *Epidinium ecaudatum* と類似しており、体表には両種とも明瞭な縞状構造が存在するが、*Ep. ecaudatum* の縞状構造が体軸に平行に配列されるのに対し、*S. equi* のそれは体軸に対し斜めに配列するのが認められた。一方、他の種類に関しては、反芻胃内旋毛類のほとんどの種が縞状構造をもつのにに対し、ウマ大腸内旋毛類では種々の構造が見られた。特に *Cycloposthium sp.* においては、全毛類の *Blepharocorys sp.* ときわめて類似した脳皺状の体表構造が認められたが、本構造が人工産物によるものでなければ、*Blepharocorys* 属の旋毛類に対する他の形態学的類似点と併せて、系統分類学上興味深い所見であると考えられる。これに対して *Triplalmaria dogieli*, *Triadinium caudatum*, *T. galea* においては、体表には脳皺状構造あるいは縞状構造は認められず、きわめて微細な粒状構造が見られたのみであった。また *T. galea* では体表に収細胞の excretory pore が認められたが、pore の周囲に分化した構造は観察されなかった。一方、*Tetratoxum sp.* では体軸と平行に走る縞状構造が認められ、種により、明瞭に観察されるもの、不明瞭のものが存在した。また体側部においては光学顕微鏡でもわずかに認められるうね状構造が明瞭に観察された。体表の excretory pore の周囲には分化した構造は見られなかった。絨毛部においては反芻胃内旋毛類と同様、棘毛構造が観察され、またこれをとり囲む明瞭な lip の形成が認められた。これらの結果から、ウマ大腸内絨毛虫類においても、種により独自の体表構造をもつことが示唆され、また絨毛部位において目あるいは科により、構造の分化の相違が見られることが明らかとなった。

21. *in vitro* 培養におけるルーメンプロトゾア相 I. 添加炭水化物による変動

今井 壮一, 勝野 正則, 扇元 敬司
東北大学農学部家畜衛生学教室

*Changes of the rumen ciliate protozoa population in vitro**I. Effects of the carbohydrates added*

Soichi Imai, Masanori Katsuno 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 *in vitro* 培養は、1940年代から多くの研究者によって試みられている。しかしながら、それらの多くはルーメン内の代謝ないしは動物生理学的側面からの追求を目的としたものであり、ルーメン繊毛虫自体に視点をのいた研究は多くない。

演者らは、ルーメン繊毛虫間の相互作用、また繊毛虫—バクテリア関係について解明することを目的として研究を進め、成績の一部はすでに第63回日本畜産学会で報告したが、さらに今回は、比較的長期間の *in vitro* 培養方法について検討し、添加した炭水化物が繊毛虫相にあたえる影響を検索した成績について述べる。

培養には 100ml の試薬ビンを用い、これに CO₂ ガス相下で作製した培地 50ml を入れ、ディリーキューブ給与のヒツジより採取した新鮮ルーメン液 1.0ml および 0.5ml の炭水化物源を CO₂ ガス通気下で接種したのち、さらに CO₂ ガスを 3 分間通し、ブチルゴム栓をして 39 °C のフラン器で培養した。培地組成は、K₂HPO₄ 0.42 %, KH₂PO₄ 0.3 %, NaCl 0.043 %, CaCl₂ 0.003 % および MgSO₄ · 7H₂O 0.006 % (いずれも W/V) の水溶液 300ml に 3,000rpm., 20分遠心したルーメン液上清 50ml を加え、さらに 2 % (w/v) 塩酸システイン 4.5ml., 5 % (w/v) NaHCO₃ 60ml. および 0.1 % (w/v) レサズリン水溶液 0.2ml を加えて作製した、添加炭水化物として、小麦粉、馬れいしょデンプン、セルローズ、可溶性デンプン、グルコース、セロピオースを 1.5 % (w/v) の割合で蒸留水に懸濁または溶解したものをを用いた。毎日 CO₂ ガス通気下で 1.0ml のサンプルを採取し、その後 0.5ml の炭水化物を新たに加えてゴム栓を施し、8 日目まで培養をおこなった。

その結果、小麦粉添加の場合に最も全繊毛虫数の維持が良好で、6 日目までは接種繊毛虫密度の 10⁴/ml の

レベルを保持した。馬れいしょデンプン、セルローズ、可溶性デンプン、グルコースでは培養 6 日目で約 10³/ml のレベルであったが、構成繊毛虫相には明らかな相違が見られた。また、セロピオース添加では 8 日目で、無添加では 5 日目で生存する繊毛虫は全く検出されなかった。一方、培養に伴う培地中の総菌数、VFA 量、pH について検索した結果、いずれの培地間においても明らかな差異は認められなかったが、全繊毛虫数—総菌数の間に弱い負の相関 ($r = -0.63$)、および総菌数—VFA 量の間に弱い正の相関 ($r = 0.52$) が認められた。全繊毛虫数—VFA 量の間には相関はほとんど認められなかった。

炭水化物添加による繊毛虫各種の変動については、小麦粉添加では *Entodinium*, *Diplodinium*, *Eudiplodinium*, *Epidinium* のいずれも培養 6 日目までは接種時の繊毛虫数が維持されたが、同じデンプンである馬れいしょデンプン、可溶性デンプンでは、いずれの繊毛虫も小麦粉に比較して繊毛虫数は低下した。両者とも、*Entodinium* の低下が比較的顕著であったが、*Diplodinium*, *Eudiplodinium*, *Epidinium* では著しい差異は見られず、培養 7 日目以降ではむしろ小麦粉より良好に維持された。一方、セルローズ添加においては *Entodinium* の顕著な減少が見られたが、大型の Ophryoscolecidae である *Diplodinium* では小麦粉添加時とほぼ同程度の繊毛虫数が維持された。また可溶性糖類であるグルコース添加では、Ophryoscolecidae の繊毛虫はいずれも減少したが、*Entodinium* はほぼ 10³/ml で安定した。これに対して全毛類の *Iso-tricha* では他の炭水化物に比べて顕著な増加を示し、培養 2 日目から 8 日目までは 10²/ml の繊毛虫数を維持した。同じ可溶性糖類であるセロピオース添加では、いずれの繊毛虫ともに減少し、*Entodinium* を除いて 5 日目までに消失した。また、*Entodinium* の種内においても添

加炭水化物の種類による生育の相違が見られ、比較的大型の *Entodinium* である *E. caudatum*, *E. vorax* などでは小型の *E. nanellum* に比べ、馬れいしょデンプン添加時で良好に維持された。また *E. nanellum*, *E. caudatum* では、一般にこれらが利用できないとされている可溶性糖類の一つであるグルコース添加時においても培養後半でむしろ繊毛虫数が増加する傾向が見られた。

ルーメン内繊毛虫類の炭水化物利用性についてはこれまでにも *E. caudatum*, *Eudiplodinium maggii*, *Epidinium sp.* および *Isotricha sp.* などについての報告があり、これらの種については今回の混合培養実験においても、それらの結果とほぼ一致したが、繊毛虫と炭水化物の間で果たすバクテリアの役割が大きな比重を占めるものと考えられ、現在、繊毛虫相の変動要因としてのバクテリアの役割について検討中である。また培養8日目の繊毛虫の光学顕微鏡的観察では、接種当初の形態との間に差異は認められなかった。これらの結果から、本培養法を用いてルーメン繊毛虫の各々の特徴をあまり損うことなしに一週間程度維持し得ることが示唆された。

質問 高橋 直身 (明治大 農)

与えた炭水化物の種類の中で、小麦粉の効果が高いようです。それは精製したものでしょうか。

回答 今井 壮一 (東北大 農)

市販されている小麦粉を用いましたので、多少の不純物は混入しているものと思われます。それらの不純物は繊毛虫の生育に特に大きな影響は及ぼしていないものと考えられますが、さらに精製した小麦粉についても検討したいと思います。

質問 小山 力 (予研 寄生虫)

培養実験を8日で打切っておられますが、実際には長期培養あるいはうえつきが可能なのでしょうか。

回答 今井 壮一 (東北大 農)

週に1回あるいは2回、培地の上清を半量除去し、新鮮培地をもとの量まで加えた後、よく攪拌して2本に等量ずつ分け、さらに新鮮培地をもとの量まで加えることにより、 10^4 /ml のレベルで長期培養が可能です。ただし基質は毎日加えなくてはなりません。演者らの実験では、基質添加後72時間放置したものでは繊毛虫は死滅しました。

22. NPN 添加無蛋白精製飼料給与山羊の第一胃内における原生動物と細菌との共存について

高橋 直身, 後藤 正幸, 岡田 保博, 保坂 直子
明治大学農学部

The symbiosis of protozoa and bacteria in the rumen of the goat fed on the protein-free purified synthetic diet containing NPN compound

Naomy Takahashi, Masayuki Gotō, Yasuhiro Okada and Naoko Hosaka
School of Agriculture, Meiji University, Kawasaki

研究目的、反芻動物の第一胃内における原生動物と細菌との共存機構を明らかにし、併せて反芻動物の栄養との関係を解析する目的で本研究を行なった。

実験方法 実験はすべて山羊を用いて行なった。すなわち、山羊にとうもろこし、脱脂こめぬか、ふすま、大豆粕などを中心とする天然物配合飼料と野乾草とを投与した区と、これらの飼料中の蛋白質の大部分を NPN す

なわち非蛋白態窒素化合物である尿素化合物で置換え、さらに精製でんぷん、パルプ、蔗糖、磷酸カルシウムならびに食塩などを配合した精製飼料と野乾草とを与えた区について、第一胃内における原生動物の種類と数との変化ならびに相互の相違を比較した。又同時に、これらの飼料区における山羊の第一胃内における細菌区分の菌体蛋白質の量とそのアミノ酸組成とを検討し、それらと

原生動物の種類と数との変化における関連を求めた。

結果 天然物配合飼料と野乾草とを給与した区における山羊の第一胃内原生動物は、*Diplodinium*, *Entodinium*, *Ophryoscolex*, *Isotricha*, *Dasytricha* などの多様な種類から成り、その数も胃液 1 ml あたり約 10×10^8 個体以上に達した。しかし尿素化合物添加無蛋白合成飼料を給与した区においては、原生動物は速やかに減少し、7日後において殆んど消滅し、第一胃内微生物活動の中心は細菌によって占められた。次いで、精製飼料に野乾草を併用して与えると、原生動物は約 1/3~1/4 程度復活するのが認められた。これらの結果から、乾草すなわち牧草中の原生動物復活因子を追及した結果、その因子は牧草の酢酸エチル抽出区分中に存在する事が明らかにされた。そこで、この牧草の酢酸エチル抽出区分をこの精製飼料に添加して山羊に与えたところ、第一胃内原生動物は消滅せず、その数も胃液 1 ml あたり約 10^8 個体程度維持されるのが認められた。しかしその種類は大部分

Entodinium simplex, *Entodinium caudatum* に限定され、その比は 6 : 4 であった。このような状態における第一胃内細菌の量とその菌体蛋白質のアミノ酸組成を自動分析機を用いて測定し、天然物配合飼料の給与時におけるそれらの値と比較した結果、両者間に殆んど相違は認められなかった。次いでこれらの飼料から元の天然物配合飼料と野乾草とに戻して給与した所、原生動物は急速に増殖し、3~4日で元の数に回復し、その種類も増加するのが認められた。

考察 これらの結果から、反芻動物の第1胃内で、真に菌体との共存又は細菌によって合成された蛋白質のみに依存して生存可能な原生動物は *Entodinium simplex* ならびに *Entodinium caudatum* の2種類であり、他の *Entodinium* に属する種類や *Diplodinium*, *Ophryoscolex*, *Isotricha*, *Dasytricha* などはさらに天然物飼料成分に由来する因子をも必要とするものと考えられる。

23. ガラスキャピラリー中におけるゾウリムシのらせん運動

福井 啓二, 浅井 博
早稲田大学理工学部物理学学科

Spiral Motion of Paramecium in Glass Capillary

Keiji Fukui and Hiroshi Asai
Department of Physics, Waseda University, Tokyo

これまでゾウリムシの行動については走性など様々な性質が明らかにされてきた。その方法はそれぞれの目的に従って生化学、電気生理学的方法から、運動軌跡をそのまま解析する方法など広範にわたっている。

我々はガラスキャピラリーに閉じてめたゾウリムシがらせん運動をすることを発見した。これはこれまで知られていない行動(運動)様式である。そこでいろいろな条件のもとで例えば Ca^{2+} -rich, K^+ -rich, 低イオン環境などの条件でそのらせん運動の詳細について調べた。

① キャピラリー中の実験方法及び解析方法

ワラの浸出液中で培養したゾウリムシを集め実験液に10分間順応させた後キャピラリーに閉じてこめる。その後1~2分たってから暗視野下で写真撮影をする。従ってらせん運動は正弦波のように写されることになる。

らせん運動を解析するために運動軌跡の曲率 λ と振率 μ を求めた。これらを求めるためには暗視野下でとった写真からキャピラリーの半径 r とらせんのピッチ h を読みとる。 λ , μ はそれぞれ r , h の関数として

$$\lambda = \cos^2 \theta / r, \quad \mu = \cos \theta \cdot \sin \theta / r \quad (\theta = h / 2\pi r)$$

と表わされる。

② 結果

(i) キャピラリーの半径を変えた場合

半径 r を 0.67 mm, 1.01 mm, 1.30 mm と変化させたところ、いずれの場合も運動軌跡の曲率が約 0.3 と一致した値になっている。

(ii) イオン環境を変えた場合

あらかじめ通常良く行なわれる方法で平面上とキャピラリー中の遊泳速度を調べた。またゾウリムシの自

転方向がイオン環境によって左回転になったり右回転になったりすることが知られているが、ここでは Ca^{2+} -rich な条件を 5mM, K^{+} -rich な条件を、5mM 低イオン環境を蒸溜水中とし、自転を左回転に統一した。その結果平面上では、

- a) 蒸溜水中 : $3.0 \times 0.25 \text{mm/sec}$. ($S=0.76$)
- b) Ca^{2+} -rich : $3.5 \times 0.25 \text{mm/sec}$. ($S=0.44$)
- c) K^{+} -rich : $2.0 \times 0.25 \text{mm/sec}$. ($S=0.86$)

に速度分布の最頻値が見られキャピラリー中では ($r \approx 0.5 \text{mm}$)

- a') 蒸溜水中 : $3.0 \times 0.25 \text{mm/sec}$. ($S=0.36$)
- b') Ca^{2+} -rich : $3.5 \times 0.25 \text{mm/sec}$. ($S=0.39$)
- c') K^{+} -rich : $2.5 \times 0.25 \text{mm/sec}$. ($S=0.27$)

となりほぼ平面上の値と同じになっているが標準偏差 S はキャピラリー中の方が小さくなっている。

このようなイオン条件のもとでキャピラリー中のらせん運動を解析したところ蒸溜水中で $\lambda=0.33$ Ca^{2+} -rich 中で $\lambda=0.28$ K^{+} -rich 中で $\lambda=0.71$ となりそれぞれ異なった値となった。(半径はいずれの場合も 1.3 mm)。

③ 観察

写真撮影による結果とは別に次のような観察結果が得られた。

- (i) 自転方向とらせんの巻き方向とがともに左回転で一致している。
- (ii) 1 ピッチを進む間に 1 自転している。
- (iii) キャピラリー中の溶液の粘度をあげてもらせん運動をすること。

④ 結論

観察(iii)からこのらせん運動はキャピラリー内での流体力学的な要因によるものではないと考えられる。

キャピラリー内に閉じこめられたゾウリムシは体のある 1 部分とキャピラリーの内側とを接触させながら (観察(i)(ii))、さらにキャピラリーの内壁といつも同じ接触角を保ちながら進んでいる (結果(i))。

またイオン環境が変わるとその接触角が変わる。さらにキャピラリー中の速度分布と、平面上での速度分布の標準偏差とを比較するとキャピラリー中の方が小さい。

(結果(ii)) このことからイオン環境によってらせん運動の性質が変化するの、単に速度の差だけでなく泳ぎ方そのものに差があるからであろうと考えられる。

質問 金子 弘毅 (北里大 医)

1) ゾウリムシ (*P. candatum*) は通常の状態でも spiral movement がみられます (前進にしろ後退にしろ) が、それを capillary につめた場合にみられるような spiral movement は movement 時において capillary の壁などを感じて spiral movement を controll しているとお考えですか?

2) ゾウリムシの種類 (species) を identify されてはいかがでしょうか?

回答 福井 啓二 (早大 理工)

キャピラリー中の運動の解析から、いつも同じ体の一部が壁にそっていていると考えられます。従って、キャピラリー中のらせん運動は壁に対するゾウリムシの定常的な応答の結果であると考えています。

種類は *P. candatum* と思われませんが、その同定は急いで行ないたいと思っています。

質問 北村 昭夫 (東北大 理)

実験に使用されたゾウリムシの培養液は何か? 培養液を変えた場合にも、同様なキャピラリー中でのらせん運動はなされるのか?

回答 福井 啓二 (早大 理工)

走熱性については培養液によって差があることが知られておりますが、我々はワラの浸出液でかったものを用いました。種類は *P. candatum* と思われ、確認はこれからですが早急に行ないたいと思います。

また、レタスや小麦粉等でかったゾウリムシもらせん運動をします。 (詳細は一例えば曲率などはしらべていませんが。)

質問 樋渡 宏一 (東北大 理)

Ca と K のほかに Ba はやってごらんになりませんでしたか。

回答 福井 啓二 (早大 理工)

Ba イオン, Ni イオンな。ゾウリムシの行動に顕著な影響を与えるイオンについては非常に興味があり、これから実験をしたいと思っています。

ニ ュ ー ス

トリコモナス研究会記事

昭和49年度トリコモナス研究会は、東海大学医学部泌尿器科大越正秋教授、河村信夫助教授及び国立栃木病院泌尿器科木村哲博士のお世話により、次のような会合が持たれ、約30人の出席者があった。

日時：昭和50年2月22日（土）15時～17時30分

場所：東京霞が関ビル 東海大学同窓会館

話題：

1. 膣トリコモナスのリンゴ酸脱水素酵素を中心とした代謝について
田辺将信, 浅見敬三 (慶応大・医・寄生虫)
2. *Trichomonas vaginalis* と *Trichomonas foetus* のリンゴ酸脱水素酵素の性状について
土肥美代子 (徳島大・医・寄生虫)
3. トリコモナス症に対する tinidazole の1回投与方法と膣内移行 尾崎文雄 (徳島大・医・寄生虫)
4. 膣トリコモナス男子尿性器感染の持続期間について
河村信夫 (東海大・医・泌尿器科)
5. 慢性前立腺炎と膣トリコモナス
木村 哲 (国立栃木・泌尿器科)

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

第8巻第1号をお届けします。今回も原著の投稿がなく、第8回大会の抄録号の形となりました。本誌をより充実したものにするため、原稿をどしどしお寄せいただきたいと思います。また、会員数は毎年少しずつ増加していますが、もっと多くの方々に入会していただきたいと思いますので、ご勧誘をお願いいたします。

1977年に開催予定の第5回国際原生動物学会のプログラム試案が此の程ニューヨークで開かれた国際委員会 (International Commission on Protozoology) で審議され、これには猪木正三会長も出席されましたが、その内容は本号に間に合いませんので、後日、会員の皆様にお知らせしたいと思っております。(小野)

原生動物学雑誌 第8巻 第1号

The Japanese Journal of Protozoology Vol. 8 No. 1

昭和50年7月15日 印刷

昭和50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 (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, Japan