

昭和54年10月
October 1979

原生動物学雑誌

第12巻 第1号

*the Japanese Journal
of Protozoology*
Vol. 12 No 1

日本原生動物学会
Japan Society of Protozoology

原生動物誌 Jap. J. Protoz.

原生動物学雑誌 第12巻第1号

目 次

第12回日本原生動物学会大会概況

講演目次

特別講演 「キネトプラストをめぐる諸問題とその研究」……猪 木 正 三

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 石 井 圭 一 尾 崎 文 雄 角 田 清 高 田 季 久

中 林 敏 夫 樋 渡 宏 一 藤 田 潯 吉 盛 下 勇

Committee of the Japan Society of Protozoology

Shozo Inoki (President)

Keizo Asami, Keiichi Ishii, Humio 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)

尾 崎 文 雄 高 田 季 久 中 林 敏 夫 小 野 忠 相

Editorial Board

Shozo Inoki (Chief)

Humio Osaki, Suehisa Takada, Toshio Nakabayashi, Tadasuke Ono (Secretary)

Dr. Stanisław L. Kazubski
Secretary General
VI International Congress of Protozoology
Nencki Institute of Experimental Biology
3, Pasteur str., 02-093 Warsaw,
POLAND

日本原生動物学会大会概況

大会長 齋藤 実 博士

会 場 横浜国立大学教育学部
横浜市保土ヶ谷区常盤台156

会 期 昭和53年11月19日（日）

日 程

8:50	開	会
8:55~11:57	一 般 講 演	(1~13)
13:00~13:30	総	会
	幹 事 報 告	
13:30~14:15	特 別 講 演	
14:15~17:17	一 般 講 演	(14~26)
17:20	閉	会
17:30	懇 親	会

講演目次

特別講演

キネトプラストをめぐる諸問題とその研究……………猪木正三(奈良医大・寄生虫)

一般講演

1. 渦鞭毛虫類の *Ceratium trichoceros* の中体と角状突起の形態について
……………¹⁾森田 順一, ²⁾黒沢 修治, ²⁾齋藤 実 (1) 清水ヶ丘高校, 2) 横浜国大・教育・生物)
2. *Cryptocodinium cohnii* (渦鞭毛虫類) の peduncle について
……………丸山 正 (都立大・理・生物)
3. 海浜性殻アメーバ類の分類体系について……………鈴木 実 (日大・法・一般・生物)
4. *Hoplorhynchus polyhamatus* の成長と成熟……………阿部 弘和 (山口大・教育・生物)
5. グレガリナ類のシスト及び胞子の構造について……………星出 一巳 (山口大・教育・生物)
6. ネコの小腸に寄生した *Cryptosporidium* sp. について
……………井関 基弘, 木俣 勲, 高田 季久 (阪市大・医・医動物)
7. 実験小動物の寄生原虫について……………¹⁾小山 力, ¹⁾熊田 三由, ¹⁾児玉 邦子, ¹⁾川端 真人,
¹⁾齋藤 玲子, ¹⁾志賀 正男, ²⁾石井 俊雄 (1) 予研・寄生虫, 2) 日獣大・寄生虫)
8. ディディニウムのゾウリムシに対する摂食率……………堀上 英紀, 石井 圭一 (法政大・教養・生物)
9. トリトン処理ゾウリムシの Ca-ATP などによる変形・繊毛逆転
……………森田 勉, 友本 貴士, 福井 啓二, 浅井 博 (早大・理工・物理)
10. 摂食行動時におけるディディニウムの膜電位変化……………原 律雄, 浅井 博 (早大・理工・物理)
11. アメーバの糸状仮足の回転運動Ⅲ……………菅野 文和, 石井 圭一 (法政大・教養・生物)
12. 太陽虫における微小管の動的変化について
……………重中 義信, 豊原 明, 洲崎敏伸 (広島大・総科・情報)
13. *Paramecium* における有性生殖後の口部形成と小核の機能……………見上 一幸 (宮教大・理教研)
14. ゾウリムシの生殖核の機能の発現—核移植法を用いた解析
……………春本 晃江, 樋渡 宏一 (東北大・理・生物)
15. ゾウリムシの性的凝集活性の発現と細胞周期……………松田 順二, 樋渡 宏一 (東北大・理・生物)
16. ゾウリムシの未熟物質の性質とその分離・精製……………芳賀 信幸, 樋渡 宏一 (東北大・理・生物)
17. テトラヒメナの細胞質分裂における微細構造変化
……………¹⁾保田 友義, ²⁾渡辺 良雄 (1) 予研・技術部, 2) 筑波大・生物科学)

18. テトラヒメナのアクチン様蛋白質の性状……………沼田¹⁾ 治, 保田²⁾ 友義,
大西¹⁾ 和夫, 渡辺¹⁾ 良雄 (1) 筑波大・生物科学, 2) 予研・技術部)
19. テトラヒメナの Ca²⁺ 結合蛋白質について
……………鈴木 保博, 平林 民雄, 渡辺 良雄 (筑波大・生物科学)
20. テトラヒメナの DNA ポリメラーゼの性状について
……………酒井 明, 渡辺 良雄 (筑波大・生物科学)
21. テトラヒメナ膜脂質の環境適応
……………葛西 令子, 関谷 孝, 福島 弘文, 野沢 義則 (岐阜大・医・生化)
22. 赤血球の分化と *Toxoplasma gondii* の侵入性との相関……………田辺¹⁾ 和祐, 木俣¹⁾ 勲,
高田¹⁾ 季久, 古沢²⁾ 満 (1) 阪市大・医・医動物, 2) 阪市大・理・発生物学)
23. *Trichomonas foetus* 初感染に対するマウス年令別抵抗性の分析……………林¹⁾ 弘三, 石川²⁾ 富士郎,
富吉²⁾ 富貴代, 岡²⁾ 好万, 尾崎³⁾ 文雄 (1) 徳島大・教育・保健科学, 2) 徳島大・養教,
3) 徳島大・医・寄生虫)
24. *Trypanosoma gambiense* filopodia の抗原性及びその特性
……………古谷 正人, 岡 三希生, 伊藤 義博, 岡 好万, 尾崎 文雄 (徳島大・医・寄生虫)
25. *Trypanosoma gambiense* の microtubules 形成におよぼす vinblastine, colchicine
および concanavalin A の効果に関する電子顕微鏡的観察
……………小野 忠相, 中林 敏夫 (阪大・微研・原虫)
26. ニワトリマラリア, *Plasmodium gallinaceum*, 赤外型の組織培養の試み
……………中林 敏夫, 井元 孝章, 石嶺 毅 (阪大・微研・原虫)

 特 別 講 演

キネトプラストをめぐる諸問題とその研究

猪 木 正 三

奈良県立医科大学寄生虫学教室

Several problems and studies on kinetoplast

Shozo Inoki

Department of Parasitology, Nara Medical University

キネトプラスト (kinetoplast) (以下K小体) は Order Kinetoplastida Honigberg, 1963に属する原生動物の鞭毛基始部にある大きさ約 1μ の細胞質内小器官 (cytoplasmic organelle) である。このK小体はあたかも高等動物の細胞にみられる中心体 (centrosome) の如く、核分裂に先行して2分裂し、各娘細胞へ1個ずつ移行することが知られているが、その生理的役割については現在全く不明である。

K小体の微細構造については、Kleinschmidt and Klein (1950) の報告以来、多くの電顕観察が行われ、現在では2重の単位膜 (unit membrane) からなる kinetoplast envelope (または kinetoplast membrane) (以下K膜) に包まれ、その内部に染色体類似の糸状構造物、いわゆる kinetoplast nucleus (または kinetoplast fibril) (以下K核) を包蔵する盤状の小器官であることが明かにされている。このK小体は単管状の mitochondrion (以下M) と連絡し、Mと同じように cristae を有しているところから、両者を1つの小器官とみなし kinetoplast-mitochondrion (Pitelka, 1961) とよばれることがある。かつて、Steinert (1960), Ris (1962), Vickerman (1962) らが「K小体はMの母胎なり」と述べた根拠も、上記の構造にあったことは容易に理解することができる。

猪木は1954年頃より *Trypanosoma gambiense* (以下Tg) の Wellcome 株を使用して、K小体を中心に種々の電顕学および遺伝学的研究を行ってきたが、現在までに得られた成果の中から興味あるものを選びここに概説し、皆様のご批判を仰ぎたいと思う。

1) 薬剤による akinetoplastic form (Ak 型) 誘発機序の解析

1910年、Werbitzki は *T. brucei* (家畜のナガナ病原原体) に感染した動物に acriflavine (以下 Ac), pararosaniline (以下 Pr) など、特定の有機色素を注射すれば、K小体を欠除した変異型、いわゆる Ak 型が出現することを初めて発見した。この報告は、当時一般から信じられていたK小体と *Trypanosoma* の運動との関係を否定するデータとして注目を浴びた。その後、同様な観察が *Trypanosoma* の種を変え、色素を変えて行われたが、いずれも感染動物に色素を注射し、末梢血に出現する Ak 型を観察しているのみで、果して Ak 型もとのK型 (K小体をもった正常型) から色素によって誘発されたのか、それとも最初から血中に混在していた自然発生の Ak 型が色素によって淘汰され現われたに過ぎないかという遺伝学的な疑問に対してはなにも答えていなかった。

猪木 (1956) は早くからこの点に注目し、遺伝学的な観点から色素による Ak 型誘発現象の解析を企て、まず新しく考案したいわゆる単個原虫接種法を利用してマウスに Tg のクローンを分離し、それについて Ak 型誘発の実験を行った。まず対照として、無処置のクローンについて Ak 型の自然発生の率を調べたところ、1%以下であることを知った。そこで、種々の量の Ac を注射して Ak 型の出現状況を観察したところ、Ak 型誘発には一定の有効量の範囲が存在し、それよりも多くても少くても誘発が起らないことが明らかになった。他方、この Ak 型誘発の経過を形態学的に追跡したところ、誘発に有効な量はK小体の分裂を阻害し、核分裂および細胞分裂を阻害しない範囲の量であることが確認された。更に、その有効量の範囲は使用する *Trypanosoma* および薬剤の種類によって相異なることも明らかになった。従って、

薬剤の Ak 型誘発力の判定は、よほど慎重に行なわなければ正しい結果が得られないことになる。この実験中、もう一つの重要は現象を発見した。すなわち、Ak 型誘発が起こる場合は、分裂型（2核の細胞）内の2個のK小体（分裂した2個のK小体）間の距離（普通は2.0 μ 内外）が時間の経過と共に、漸次小さくなって現われる事実である。本現象は後述する *T. evansi*（家畜ズウラ病病原体）（以下 *Te*）の Ak 型誘発機序の解析に有効に利用された。

以上の観察から、Ac 注射後にマウス体内で増加する Ak 型は、色素の直接作用による Tg の不同分裂（irregular division）の結果であり、もとのK型細胞からその分裂時につくり出されるものであるとの結論に到達した。その後、Tg の Ak 型が単核であること、しかも Ak クローンが得られないことなどが明かにされ、ここに色素による淘汰説を完全に否定することができるようになった。

Te の Ak 型は Tg とちがってマウス体内で増殖が可能である。従って、その Ak 型クローンを得ることは容易であるが、この性質は色素の Ak 型誘発性を検討する場合、淘汰の問題が介在し解析が困難となる。Inoki et al. (1960) は Tg と同じ方法でマウスに *Te* の K 型クローンを分離し、それについて Ak 型の自然発生率を調べたところ、その値がほぼ5%に維持されていることを知った（継代に多量の *Te* を使用する必要がある）。そこで、Ac による Ak 型誘発試験を行ったところ、本種の Ak 型誘発には Tg に要した量の10倍の Ac が必要なこと、また有効量に一定の範囲が存在することなどが明かになった。次いで、Ak 型の出現機序を解析するため、分裂型内の2個のK小体の距離を測定したところ、Tg とちがってその距離の縮小が全くみられなかった。従って、この場合の Ak 型の増加は Tg の場合のように核とK小体の不同分裂の結果としては解説できなかった。そこで、*Te* の Ak 型が増殖性であることから淘汰説に着目し、それぞれ分離したK型および Ak 型クローンについて、Ac の分裂阻害度を比較したところ、前者に対する阻害が後者に対するよりも一層強く現われたことから、*Te* では Ac による淘汰が Ak 型の増加に重要な役割を演じていることがわかった。同様な実験を Pr でも行なったが、この場合は Tg と完全に一致し、分裂型の2つのK小体間の距離の短縮が認められ、Ak 型が色素の直接作用によりK型からつくり出されることが明かになった。

この成績から、たとえ同じ色素を使用しても、Try-

panosoma の種類が異なれば Ak 型の出現機序に大きな差異が生ずることが理解される。従って、色素の Ak 誘発性を決定するには、必ず上記の解析法に準拠し、Tg のような非増殖性の Ak 型をもつ *Trypanosoma* を使用することが望ましいとの結論に到達した。

いま、Tg、Te を併用し上記の新しい解析法に準拠して、種々の薬剤の Ak 型誘発機序を検討してみると、次の4つのグループに分類することができる。

- I グループ Tg、Te のいずれにおいても、直接作用により Ak 型が誘発されるもの—*parosaniline*, *rosaniline*, *ethidium bromide*
- II グループ Tg では、直接作用により Ak 型が誘発され、Te では淘汰作用により Ak 型が出現するもの—*acriflavine*
- III グループ Tg では Ak 型が誘発されず、Te では淘汰作用により Ak 型が出現するもの—*actinomycin*, *sarkomycin*
- IV グループ Tg、Te いずれにおいても、Ak 型が誘発されず、またその増加も起こらないもの—*pyronine*, *penicillin*

2) Tg の Pr 耐性株の分離

Tg の Ak 型は Te の Ak 型とちがって分裂能を欠き、従ってマウスに Ak 型クローンを分離することは不可能である。しかしながら、K小体の生理的役割を明らかにするためには、なんらかの方法で Tg の Ak 型クローンを得る必要がある。そこで、Pr に耐性化すればあるいはマウス体内で増殖可能な Tg の Ak 型クローンが得られるのではなからうかとの考えから、いわゆる short mouse passage method を利用して、感染株 (WS) をマウスの体内で継代毎に薄い濃度から漸次高濃度の Pr に接触させ、最高 85 mg/kg の濃度に耐えられる耐性株 (WR) を分離することに成功したが、結局 Tg では増殖性の Ak 型クローンを分離することができなかった。この WR 株における Ak 型の自然発生率は原株の WS と同様、1%以下であった。

3) Ak 型誘発試験を用いた新 Pr 耐性測定法

前項で述べた通り、Tg の Ak 型クローンを分離する実験は失敗に終わったが、Pr 耐性株 WR では、Ak 型誘発に充分な量 (10mg/kg) の Pr を注射しても、Ak 型の誘発は起こらないという実に興味ある現象を発見する結果となった。この現象は直ちに形態学的な解析に移されたが、WR ではK小体の分裂が 10mg/kg の Pr によって阻害されなくなっているため、Ak 型がつくられないことが判然とした。その後、本現象を基にしていわゆ

6 特別講演

る Ak 型誘発試験 (Ak induction test) が考案され、これを Pr 耐性の測定法として使用した。本法は感染マウスに 10mg/kg の Pr を注射し、注射 4 時間後に末梢血液に出現する Ak 型を数えて Tg の耐性を測定する極めてユニークな検定法であり、しかも従来使用された耐性測定法よりも鋭敏にして、4 時間という短時間内にマウス体内の Tg の耐性をマウスを殺さず測定できる長所がある。

4) Pr 耐性の形質転換

猪木ら (1958, 1960, 1961) はこの新しい耐性測定法を利用して Tg に Pr 耐性の形質転換が起こることを確認し、続いてこれが Tg と Te の異種間にも観察できることまた酵素 (DNase, RNase, Proteinase) を用いてその転換因子 (transforming factor) が DNA であることなどを明かにした。これらの実験では、WS 株の生きた Tg を WR の lysate に 15 分間、*in vitro* で接触させた後マウスに接種し、末梢血に中等度 Tg が出現する時期をみて Ak 型誘発試験を行い、形質転換が起ったか否かを判定した。形質転換 (genetic transformation) は Avery et al. (1944) が肺炎双球菌を用いて初めて見出した重要な遺伝現象であり、その後数種の細菌についても観察されているが、原生動物では猪木らの報告が最初である。更に、この形質転換に対する抗腫瘍性物質および抗菌性物質の効果を調べ、抗腫瘍性が認められる 10 種類の物質中、azane, colchicine, demecolcine を除く総ての物質が形質転換阻害作用を有し、単なる抗菌性物質にはこのような作用が認められないことを明かにした。次に、抗腫瘍性物質と発癌性物質との関連性から、発癌性物質として DAB, MAB およびそれらの発癌性誘導体 9 種類と非発癌性誘導体 5 種類を用い、形質転換に及ぼす効果を調べた。その結果、誘導体の示す発癌性の有無と形質転換阻害作用の有無との間に完全な一致が認められた。この成績は抗腫瘍性物質および発癌性物質の作用と *Trypanosoma* の遺伝現象との間に或る関係が成立していることを示唆するものであり、また、この方法が抗腫瘍性物質および発癌性物質のスクリーニング法として使用される可能性があるのではないかと思っている。

上記の Pr 耐性の形質転換における転換因子 (transforming agent) は DNA であることは DNase, RNase, Proteinase を使った実験からも明かであったが、この点を更に確認するため、Donor の Pr 耐性 Tg から Kirby のフェノール法 (1957) を用いて DNA を純粋に分離し、これによって形質転換が起こることを証明した。更

に CsCl 密度勾配遠心分離法により K-DNA, N-DNA を分離し、両者共転換能を有することを明かにした。以上の結果から、*Trypanosoma* に認められた形質転換は DNA-mediated であるということが出来る。

5) K 小体に対する Pr の効果

Tg および Te 感染マウスに Ak 型誘発に十分な濃度の Pr を注射し、両種に対する色素の効果を電顕により観察した。その結果、色素注射 4 時間後 (この時期には 25% 以上、Ak 型が出現する) に採取したのものには、核および細胞質の変化がみられず、K 小体のみ著明な変化が認められ、K 核の 1 端に無構造の dense な小塊が常に出現しているのが観察された。更に、K 膜の消失であるが、これが Tg に起こり、Te に起こらなかったことは、実に興味ある所見である。この両種における相異は、Pr で誘発された Tg の Ak 型が増殖性を欠き、Te の Ak 型が増殖性を示すという既述の成績と、なんらかの関連性があるように思われる。このように、K 膜は K 小体、ひいては *Trypanosoma* の分裂増殖に重要な役割を演じていることが明らかになった。

なお、Te の場合には K 小体内に K 核、核がみられず、dense は小塊だけをもつ変異型 (おそらく Ak 型と思われる) がみられ、また Ak 型クローンの Te は総てこれと同じ構造のいわゆる ghost kinetoplast であった。従って、色素で Ak 型が誘発されるときは、小塊だけをもって分裂した方の娘細胞が Ak 型となるものと考えられた。

6) K 小体の構成物質

K 小体の構造の基盤をなす物質の局在性についての研究はあまり行われていなかった。そこで、この点を究明するため、酵素処理 (DNase, RNase, Proteinase) と電顕 autoradiography を用いて観察した。実験には感染マウスからの Tg、培養した Tg (Cheik 株) および *T. cruzi* (以下 Tc) が用いられたが、その結果、*Trypanosoma* の K 核には DNA のみならず、RNA および蛋白も構成成分として含まれていることが明らかになった。

なお、酵素処理の実験で Tg に反し、Tc の kinetoplast RNA (以下 K-RNA) が pancreatic RNase で消化されなかったことは、J. Bonner ら (1967) のいう chromosomal RNA に酷似し興味がある。また、Pr の作用で K 小体内に出現する dense な小塊には、蛋白と RNA が含まれるが DNA は認められなかった。従って、この小塊は既存の K 核がこわれて生じたものでなく、処理後に合成された K 核になるべき物質が、DNA を含む正常な K 小体にならなかったものと思われる。

7) kinetoplast DNA (以下 K-DNA)

in vitro で ^3H -thymidine を incorporation させた *Tg*, *Tc*, *Te* からそれぞれ DNA を抽出し CsCl 密度勾配遠心分離法によりそれぞれの buoyant density を求めた。その結果、常に main band の外に satellite band が現われることを知った。そこで別に分離した核および K 小体から抽出した DNA と比較したところ、この main band は N-DNA で、satellite band は K-DNA であることが明かになった。小野ら (1971) の成績によれば、各 *Trypanosoma* の N-DNA および K-DNA の buoyant density の値は次の通りである。すなわち、*Tg* では N-DNA は 1.703, K-DNA は 1.688; *Tc* では N-DNA は 1.709, K-DNA は 1.699; *Te* (K clone) では N-DNA は 1.704, K-DNA は 1.692; *Te* (Ak 型 clone) では N-DNA は 1.704, Satellite DNA は 1.693 となっている。

この研究で、とくに重要な点は *Te* の Ak 型クローンから Satellite DNA が分離されたことであり、しかもその buoyant density は K 小体をもった K 型クローン (正常株) の Satellite DNA の buoyant density と一致していた。従って、先にも述べたように、K 膜と Sa-

tellite DNA との関係を究明することが、今後の重要な問題となると思う。更に、K 小体から抽出した K-DNA を電顕で観察したところ、使用した *Trypanosoma* の種類に関係なく、常に長い linear なものが主として現われ、mini-circular の DNA は極めて僅かしか認められなかった。この成績は K-DNA を mini-circular であると主張する Riou and Delain (1969) や Wolstenholme (1970) の報告と大きく相異していたので、この点を再検討するため、Kleinschmidt et al. (1962) の方法に従い、分離した K 小体から DNA を release させ観察したが、やはり linear の DNA 分子が主であることが確認された。また、*Te* の ghost kinetoplast (現在 dyskinetoplast とよばれる) からは linear な DNA のみが観察され、mini-circular の DNA は全く認められなかったことから考えても、K-DNA は linear な形態をしているものと理解する方が正しいのではないかと思っている。

以上の外、*Tc* の K 核の形態と増殖および宿主細胞侵入性との関係、K-DNA の *in situ* microspectrofluorometry の研究についても報告したが、紙面の関係で割愛した。

 一 般 講 演

1. 渦鞭毛虫類, *Ceratium trichoceros*, の中体と角状突起の形態について (予報)

森 田 順 一

神奈川県立清水ヶ丘高等学校

黒沢 修治, 齋藤 実

横浜国立大学教育学部生物学教室

*On the skeletal morphology of the midbody and horns of
Ceratium trichoceros (preliminary report)**Jun'ichi Morita**Shimizugaoka High School, Yokohama**Shûji Kurosawa, Minoru Saitô**Biological Institute, Faculty of Education, Yokohama National University, Yokohama*

暖海に広く分布する渦鞭毛虫類 *Ceratium trichoceros* は, Euceratium 亜属, Macroceros section, Flagellifera subsection に属し, 薄い被膜に包まれた小形の中体(midbody)と, 左右に大きく広がり, 反転して平行に伸びた角状突起によって特徴づけられている。本種は中体の大きさとやや細長の形, 腹域(ventral area)の形, 後角彎曲の様相等によって近縁種 *C. contrarium* と区別されている。筆者等は Euceratium 亜属のいくつかの種について, 外殻の形態を検討しているが, *C. trichoceros* について予察的に行なった観察と計測の結果をここに報告する。

材料は神奈川県真鶴沖より1963年, 1971年及び1975年に, また葉山沖より1975年と1978年にネット採集で得られた標本を用い, それぞれを1つの個体群として扱った。標本は5%ホルマリンで固定し, Karsten (1906), Kofoid (1908) 及び Jörgensen (1911, 1920) を参照して種の同定をおこない, それぞれの個体群の20~30個体について, 腹面観による観察と計測をおこなった。計測の対象とした角状突起の形態には, 帯板面に対する前角の突出方向(1要素), 及び後角が中体から突出する方向, 後方への彎曲の深さ, 及び側方への広がり(7要素)を選んだ。また中体の形態としては, 上殻の高さと上殻頂の左偏する巾(2要素), 下殻の高さ, 連鎖体受容溝の長さ, 及び下殻後縁の傾斜(3要素), 帯板面における中体巾(1要素), 及び腹域の巾と上殻への突出の度合い

(2要素)を選んだ。

これらの形態要素のうち, 細胞の大きさを示す1つの基準とされている中体巾は 39.4~55 μ m (平均値は 45.3 μ m)で, 従来の記載とほぼ一致した値を示している。次に上記の各形態要素の計測値について, 5個体群の平均値を比較すると, 前角の角度, 腹域巾, 上殻の高さ及び上殻頂の左偏巾は, それぞれの平均値が互いに近接している。これらはいずれも中体の基本形態に関連した要素とみなされるが, とくにわずかに左傾した前角の突出角は, それぞれの個体群の平均値が 88.1~90.0°であり, また腹域巾の平均値も 23.8~24.5 μ m と近接の度が著しい。

これらの形態要素の計測値は中体の基本形態の安定性を強く示唆するので, 予察的に要素間の相関を検討した。その結果, 中体巾と上殻の高さ, 中体巾と下殻の高さ, 中体巾と上殻頂の左偏する巾, 上殻の高さと下殻の高さの間に有意水準5%で相関関係が認められ, 更に左右の後角の側方への広がりについても同様な関係が認められた。これらの結果により, 従来本種を同定する基準とされていた形態のうち, 中体の基本形に関する主要要素と, 後角の彎曲に関する一部の要素に, 全個体群を通じて安定性が認められると判断されるが, 種の特徴の評価については, 近縁種を含めた詳細な検討が必要と考えられる。

質問 丸山 正 (都立大・理・生物)

1. Von Stosch らによって Small cell の出現する可能

性が示されているが、そのような cell の存在についてどう考えるか。

2. autotomy の存在は観察されたか。

回答 斎藤 実 (横浜国大・教育・生物)

1. *Ceratium* については、わずかな培養の経験があるだけなので、小形 swarmer の出現については、文献の照合の域を出ず、残念ながら的確なお答えをする根拠を

持っておりません。今回扱った種は、培養に成功していませんので、自然に生息する個体だけを対象にしました。そのため、仮に小形の細胞があったとしても、除外してしまうことは避けられないと思います。

2. 1971年9月に真鶴沖で採集された標本の中に、autotomy を起こした細胞が特に多く観察されました。

2. *Crypthecodinium cohnii* (渦鞭毛虫類) における Peduncle について

丸 山 正

東京都立大学理学部生物学教室

Some Observations on the Peduncle in Crypthecodinium cohnii (Dinoflagellida)

Tadashi Maruyama

Department of Biology, Tokyo Metropolitan University, Tokyo

Crypthecodinium cohnii は培養が簡単である事から渦鞭毛虫類では比較的研究材料としてよく用いられている。Swarmer と Cyst の二相がある。Swarmer は鞭毛を有し運動性があり、接合を行うが分裂はしない。他方 Cyst は鞭毛をもたず接合は行わないが、分裂 (meiosis, mitosis) を行う。Swarmer, Cyst 共にほぼ球形に近く径 10~30 μ m である。

Kubai ら (1969) はこの Swarmer 中に微小管と小胞とから成る構造体を見出し Microtubular basket と呼んだ。今回その構造を調べてみたところ、この構造体の一部は細胞外に突出しており他の渦鞭毛虫で見出される Peduncle との類似性から、*C. cohnii* でも Peduncle と呼んだ方がよいと考えるに至った。

使用した *C. cohnii* Ro 株と WH 株は Brooklyn College of the City University of New York の Dr. Himes と Dr. Beam より分譲を受けたものを Gold の培地で無菌的に培養したものである。両株間では接合がおこらないが、形態的には Thecal Plate の厚みがいくらか異なる以外に今まで差が見出されていない。細胞は 2% NaCl を含む 5% グルタルアルデヒド (pH 7.4) で前固定した後、1% OsO₄ (pH 7.4) で後固定し、定法により脱水、包埋、切片作製した後電子顕微鏡で観察した。

この構造は径が約 1 μ m で細長く、どこから始まるかは明らかでないが、細胞の中央部、核に近い所から始まっていると思われる。そこから上殻の背面に向かって走り、表層に近い所で上殻の頂部に向い、頂部の表層を通過して腹面にぬけ、縦溝部で両鞭毛の基部に近い所から細胞外に突出している事が観察された。

細胞内の断面では、5~10数本の径約 22nm の微小管が列を成し、その列がさらに 10 数個渦巻状に集っており、その中心部に数個から 10 数個の径約 25~100nm 程度のほぼ円形の小胞断面が見出された。この小胞には電子密度の高いものと、低いものが見られた。これらの小胞は細長く少くとも 0.5 μ m ほどあり、径は 100nm 程度のものが多いようである。これらの小胞は細胞外の突出部では観察されず、細胞内で終わっていると思われる。細胞外に出る所には、電子密度の高いリング状の構造が観察され、カラーのように微小管部をとりまいていていると思われる。

突出部では、微小管の延長部とその隣 (片側) に、約 15nm の電子密度の高い層が 2 層、さらにその外側に、いくらか電子密度の高い部分があるというサンドウィッチ様構造が観察された。このように、この構造体が細胞外に突出する部分がある事から Lee が 1977 年に同様の構造を Gyrodinium で Peduncle と名付けたのがより適

切であると考えた。

この突出部は細胞によって観察されない場合もあり、突出部が伸長したり収縮する可能性もあると思われる。

Peduncle の機能については、今の所推測以外何も無いが、Cyst には観察されない事から何か Swarmer 特有な機能に関与していると思われる。Swarmer では、接合の他に一種の摂食行動のある事が最近示された (Drs Himes and Beam 私信) が、これらに関与する可能性は大きいと思われる。特に, Protoodinium に見られる類似の構造が食物摂取時の吸管として働く事 (Cachon and Cachon 1971) は、摂食行動との関連を強く暗示する。

C. cohnii における Peduncle と同様の構造は、他のいくつかの渦鞭毛虫類でも報告され、特に, Gyrodinium や Katodinium のものはほとんど同じ構造を有していると思われる。又 Prorocentrum や Ceratium で報告されているものは、微小管が一列で円周状をなして中心の小胞部を囲んでおり *C. cohnii* と少し異なった type に属すると思われる。Protoodinium や Haplozoon のものも

C. cohnii に似るがかなり特殊化しているようである。Noctiluca の teutacle も微小管構成部があり、何か関係があるかもしれない。今後、他の渦鞭毛虫類においてもこの構造の存否が調べられ同源性やそれぞれの機能が明らかになる事が望まれる。

質問 小山 力 (国立予研)

この構造は電顕像でははじめて検出されたものでしょうか。従来光顕レベルの研究でみつかっていなかったものでしょうか。

回答 丸山 正 (都立大・理・生物)

その通りで、光学顕微鏡では観察の報告がありません。小さな構造ではないので、何らかの手段を用いれば観察可能であると考えておりますが、今のところまだ観察に成功しておりません。何かアドバイスがあるとありがたいと思っております。ただ最近、Dr. Himes (Brooklyn College of the City University of New York) は走査電子顕微鏡によってこの突出部を観察したと聞いております。

3. 海浜性殻アメーバ類の分類体系について

鈴木 實

日本大学法学部一般教育生物研究室

Tentative key to Marine Interstitial Testacea from Japan

Minoru Sudzuki

Biological Laboratory, Nihon Daigaku-University, Omiya-shi, Saitama-ken

1. Filiform Pseudopodia (PP) : +
- " " " : -

2. Granulo-reticulose Pseudopodia : +
- " " " : -

3. Pseudostome (PS) number=1
- " " " >1

4. 1 side attachment of test to substratum : +
- " " " " : -

2.

3 1. Class Lobosa Leidy, 1879

Ord. Testacealobosa De Saedeleer, 1934

3. Class Granuloreticulosa De Saedeleer, 1934
Ord. Thalamia Haeckel, 1862

5. Class Filosa Leidy, 1879
Ord. Testaceafilosa De Saedeleer, 1934

4.

(Fam. Polystomidae Awerintzew, 1906)

(Fam. Microgromiidae De Saedeleer, 1934)

Fam. Allogromiidae Wailes, 1910

Lieberkuehnia Claparède & Lachmann Volutella

5. Snailed test : +
-. " " : -
6. Oral stylet : +, granulated Pseudopodia : +
-. " " : -, " " " " : -
7. Pseudostome number > 1
-. " " " = 1
8. Terminal aperture : +
-. " " " : -
9. Foreign particled (FP) test : +
-. " " " : ±
10. Quartz grained test : +, PS elongation : -
-. " " " : -, " " : +
11. Globular test : +, Big scales : +
-. " " : +, " " : -
12. Big regular scales : +
-. " " " : -
13. Pseudostome elongation : -
-. " " " : +
14. Funnel-shaped pseudostome elongation : +
-. " " " " : -
15. Regular scales : -
-. " " : +
16. Test foreign particules : +
-. " " " : -
17. Centropyxis-liked foreign particules : +
-. " " " " : -
18. Pseudostome elongation : ±
-. " " " : +
19. Lateral & caudal test projection : +
-. " " " " : -
20. PS elongation / Test > 1/3, PS ventral : +
-. " " " < 1/3, " " : -
21. Big, round & overlapped scales : -
-. " " " " : +
22. Pseudostome elongation : -
-. " " " : +
23. Pseudostome elongation / Test > 1/3
-. " " " < 1/3
24. Cylindrical test : +
-. " " : -
25. Caudal test elongation : -
-. " " " : +
26. Neck : +, Round Fundus : -
-. " : -, " " " : +
27. Pseudostome elongation : -

- Chardez 1972
6. *Lagenidiopsiidae* fam. nov.
 7. (Fam. Amphistomidae Awerintzew, 1906)
 - 8.
 - 9.
 - 15.
 10. (Fam. Gromiidae Claparède & Lachmann, 1861)
 12. Pseudodiffugia Schlumberger
 11. Amphorellopsis Golemansky, 1973
Micramphora cf. 13~15
 - 13.
 14. *Micramphoridae* fam. nov.
Fam. Euglyphidae Wailes, 1919
—Not yet found—
Micramphora Valkanov, 1971
Micramphoraopsis gen. nov. Sudzuki
 16. Fam. Psammonobiotidae Golemansky, 1974
 - 21.
 17. —Not yet found—
Centropyxiella Valkanov, 1971
 18. Rhumbleriella Golemansky, 1976
 19. (Alepiella Golemansky, 1974)
 20. Psammonobiotus Golemansky, 1968
Micropsammella Golemansky, 1976
 22. Fam. Cyphodelidae Deflandre, 1953
 27. Cyphoderia Schlumberger
 23. Corythionella Golemansky, 1968
 24. *Pseudocyphoderia* gen. nov.
 - 25.
 26. (Chardezia Golemansky 1976)
(Campascus Leidy)
Pseudowaillesella gen. nov.
Trinema Dujardin

12 一般講演

- , " " " : +
28. Round pseudostome elongation : —
—, " " " " : +
29. Pseudostome elongation / Test < 1/3
—, " " " " < 1/3
30. Spindle-shaped test : +
—, " " " : — "
31. Pointed Lobopodia : —, Anastomosis : —
—, " " " : +, " " : ±
32. Circular pseudostome : —
—, " " " : +
33. Plagiostome pseudostome : +
—, " " " : —
34. Test foreign particles : —, Alveolar ornamentation : +
—, " " " : +, " " "
" : —
35. Terminal & uninvginated PS : —, PS / Test < 1/2
—, " " " : +, " " > 1/2
36. Test foreign particles : + (Pseudoquarz)
—, " " " : — (Idiosome never overlapped)
37. Test foreign particles : +
—, " " " : —

質問 丸山 正 (都立大・理・生物)

1. 海浜にどの程度 (量的) に存在するのか.
2. 食性はどうか.

回答 鈴木 実 (日大・法・一般・生物)

1. 海浜間隙水性べん毛虫類や繊毛虫類に比べればかな

28. *Corythionelloides* gen. nov.
29. Pseudocorythion (Wailes) Valkanov 1971
30. *Micropsammeloides* gen. nov.
Messemvriella Golemansky 1976
32. Subord. Eulobosa Deflandre, 1953
37. Subord. Reticulo-lobosa Deflandre, 1953
- 33.
34. Fam. Plagiopyxidae Bonnet 1959
?
Fam. Arcellidae Ehrenberg 1930
Arcella Ehrenberg
35. Fam. Centropyxidae Deflandre, 1953
Cyclopyxis Deflandre
36. Fam. Diffugiidae Awerintzew, 1906
Diffugia Leclerc
Fam. Nebelidae Taranek, 1882
Hyalosphenia Stein
Fam. Phryganellidae Jung, 1942
Phryganella
38. Fam. Cryptodiffugiidae Rhumbler, 1923

り少なく, わかり易い表現をすれば, スライドグラス 3 ~ 5 枚検鏡して数個体という密度です.

2. おもに細菌類とケイソウ類です.

4. *Hoplorhynchus polyhamatus* の成長と成熟

阿部 弘 和

山口大学教育学部生物教室

Growth and Maturation of a Eugregarine, Hoplorhynchus polyhamatus

Abe Hirokazu

Biological Institute, Faculty of Education, Yamaguchi University

Hoplorhynchus polyhamatus は epimerite に特徴をもつ巨大な胞子虫でカワトンボ (*M. strigita*) の中腸に棲息し、胞子・cephalin・sporadin・cyst のサイクルをくり返している。宿主であるカワトンボは5月上旬に羽化をはじめ、7月上旬まで見られる溪流性のトンボである。

我々は犬鳴川(山口市)で77年と78年にカワトンボを採集し、胞子虫を観察した。この間、10日毎に20~30匹のカワトンボを集め、合計269匹(♂168匹 ♀103匹)を調べた。そのうち194匹(72%)で胞子虫の感染が認められた。胞子虫の数は sporadin が4223, cyst (spore cyst) が105であった。sporadin が接続した szygy は2個のみであった。宿主あたりの胞子虫数はおよそ23個体になる。sporadin の体長の最小は0.15mm 最大のそれは2.5mm で、さまざまな大きさを持っていた。平均の大きさは1.04mm であった。これにくらべ cyst の直径は0.65mm 前後でどれも同じくらいの大きさを持っていた。

しかし、これらの値は時間(採集時期)の経過に伴って変化していく。すなわち、5月上旬には胞子虫がみられたトンボは約20%(感染率)で、その後この割合は急速に上昇し6月になるとほとんどすべてのトンボで感染が認められた。そして、トンボが減少してくる7月初めには感染率は低下していた。この変化に伴って胞子虫の数にも変化があった。宿主あたりの胞子虫の数は、はじめ数個であるが、やがて増加し6月には30個となりその後やや減少し20個程度に変化した。同時に、sporadin の体長も変化していく。はじめは約0.3mm で、これはしだいに増加する。6月には1.1mm に達し、その後は余り変わらなかった。しかし、この値は平均値で、実際にはどの時期にも、また、どの宿主においてもいろんな大きさの胞子虫が混在している。最後に cyst は、感染率、

胞子虫の数、大きさが最高になる6月中旬にのみ出現した。cyst の総数は105でこれは sporadin の5%に相当する。おそらく cyst の形成がきわめて短時間に進行し、かつ直ちに宿主の体外へ排泄されるためと思われる。これは szygy が2個しかなかったことから予想できる。あるいは in vivo ではすべての sporadin が cyst になることなく、ある程度抑制されているためとも考えられる。

これらの結果に関して宿主の雌雄による差はなかった。また、変化の様子は77年も78年も同じであった。

以上の結果から、この胞子虫のライフサイクルは次のように予想できる。まず、胞子の宿主への感染は宿主の幼虫の時期に行われる。それにつづく胞子虫の成長と成熟はトンボが羽化すると直ちに開始され、急速に完遂される。従って、この胞子虫のサイクルは宿主と同じ年1回であり、宿主のライフサイクルへの依存が高い胞子虫といえる。しかし、この研究ではトンボの幼虫については観察してないので今後幼虫についても調べる必要がある。

つぎに興味ある点は cyst がほぼ同じ大きさをもっていることである。これは sporadin がある一定の大きさになると何らかの機構によって、cyst 形成が開始される、つまり成熟の度合と sporadin の体長が不可分であることを示している(ゴキブリの胞子虫では szygy と cyst の大きさは制限されておらず、これとは対照的である)。もし、このような機構があるとすれば、少なくともその一部は胞子虫の中にも含まれていなければならない。この問題については胞子虫を in vitro で連続して観察し、あわせて生化学的な研究を行うことが必要であろう。

質問 小山 力(国立予研)

トンボ幼虫への感染法や、トンボ幼虫内での発育につ

いては明らかにされているのでしょうか。

回答 阿部 弘和(山口大・教育・生物)

トンボ幼虫については調べておりません。したがって、成虫の中での成長と成熟が幼虫の中でもくり返され

ているかもしれませんが、しかし、トンボ幼虫の中には極めて小さな孢子虫しかみられないという報告もありますので、孢子がトンボ幼虫に感染してもトンボが成虫になるまでは成長が抑制されていると考えられます。

5. グレガリナ類のシスト及び孢子の構造について

星 出 一 巳

山口大学教育学部生物学教室

Studies on the structure of the cyst and spore of gregarines

Kazumi Hoshide

Biological Institute, Faculty of Education, Yamaguchi University

グレガリナ類は孢子虫綱に属し複雑な生活史を持っている。その生活史は大まかに次の6つの段階に別けることが出来る。即ち、1. セファリン期、2. スポラジン期、3. シジギイ期(連接期)、4. シスト期、5. 孢子期、6. スポロゾイト期(種虫期)である。この生活史の中で1と2セファリン期とスポラジン期は比較的良好に研究されているが、その他の時期3~6の時期の研究は非常に遅れている。その理由は2つあり、1つは寄生虫が宿主を離れ他の宿主に移動する時期であり、ほとんど宿主体内より検出されない。又もう1つの理由は特に5及び6の時期は虫体が非常に小さく観察されにくいためである。現在日本からは151種のセファリナグレガリナ(宿主別に見ると環形動物多毛類より8種、ユムシ類より1種、節足動物唇脚類より8種、倍脚類より15種、昆虫類より88種、甲殻類より30種、星口動物より1種)が報告されている。この中でスポラジン、シスト、孢子が観察されている種は73種で全体の48%である。特に宿主の住む環境によって、観察された割合が異なり、甲殻類では報告されている30種のグレガリナの中で、17種はスポラジンのみ、7種はスポラジンとシストだけである。

そこで今回はこのあまりよく知られていない孢子形成の過程(3~5)を *Gregarina blattarum* を材料として観察した。又併せて一般的に3~5の時期には、分類学的にどの様な点を観察すべきかを考察した。

I. *Gregarina blattarum* のシスト及び孢子形成の過程

成熟したスポラジンは縦に連なってシジギイを作る。シジギイを作った2個体はゆるやかな回転運動の後に、

体側もくっついて球形のシストとなる。形成直後のシストでは2個体の間に境界があり、各々の個体の中に核が認められる。シストの外側は薄い透明な膜である。回転運動をはじめて1時間以内に薄い膜のさらに外側に40~60 μ の厚いジェリー状の膜が出来る。シスト形成後数時間もすると外側から核は見えなくなる。切片標本の観察によれば、各々の核では核膜が消失し、核は細胞質内で核分裂をくり返す。細胞質も多くの裂片に別かれ、多数の配偶子(gamete)が形成される。この頃になると両者の間の境界はわからなくなる。各々の配偶子体(gamont)で形成された配偶子は接合し接合子(zygote)になる。この接合子は発達し、外側に厚い膜が出来て孢子となる。

II. シジギイ期~孢子期のグレガリナ類では分類学的にどの様な点を観察すればよいか。

3. シジギイ期

(1)連接を形成する時期…スポラジンの早い時期か、又はシスト形成の直前か。

(2)連接の型…基本的には前節後節型と前節前節型がある。前節後節型の変形としてプリミエテの後節にサテライトが斜めに接着するもの等がある。又種類によっては多数の個体が縦にたくさん連なるもの、1つのプリミエテに多数のサテライトが接着するものが見られる。

4. シスト期

(1)形 (2)大きさ

(3)孢子排出の型…基本的には2種類ある。裂開による型式と孢子管による型式。孢子管型では孢子管の出る

数, 形, 長さ等.

5. 孢子期

(1)形 (2)大きさ

(3)孢子と孢子の間の関係…孢子の形と密接な関係がある. 基本的に3つの型にわけられる. 孢子が個々ばらばらに出される(散在型), かたまりとなって出される型, 鎖状に連らなって出される型.

質問 小山 力(国立予研)

グレガリナ類のスポロゾイトの頭端構造は, 系統学的に興味があると思われていますが, これに関して最近何か報告がございますか.

回答 星出 一巳(山口大・教育・生物)

昨年御指摘を受け, その後孢子を寒天包埋し切片を作っていますが, なかなかうまくいきません. 今回指摘された孢子よりスポロゾイトを出して切片を作るということは, 非常に参考になりました.

6. ネコの小腸に寄生した *Cryptosporidium* sp. について

井関 基弘・木俣 勲・高田 季久

大阪市立大学医学部医動物学教室

Cryptosporidium sp. from cat.

Motohiro Iseki, Isamu Kimata, Suehisa Takada

Department of Medical Zoology, Osaka City University Medical School.

genus *Cryptosporidium* は *Toxoplasma* や *Isospora* と同様, 孢子虫綱の *Coccidia* に属する寄生性原虫である. Tyzzer (1907) によって実験用マウスの gastric gland から初めて発見され, その後, マウス, モルモット, ニワトリ, シチメンチョウの小腸からそれぞれ独立種が記載されており, 近年, ウシおよびアカゲザルからも報告されている.

今回, ネコの小腸にこの原虫の寄生を認め, その各発育過程の形態を光学顕微鏡ならびに電子顕微鏡によって観察するとともに, 感染実験によって感染経路および他種動物への感染性についても検討した.

本種はネコ小腸粘膜上皮細胞の microvilli 内に寄生して, その中で schizogony, gametogony を行い oocyst を形成して, sporogony も microvilli 内で行う.

経口的に摂取された oocyst から遊りした sporozoite, $5 \times 1 \mu\text{m}$ は microvillum に侵入し, microvillum 内に形成された parasitophorous vacuole の中で上皮細胞の細胞質に接した部分にヒダ状の attachment organ を形成する. trophozoite は3回核分裂して8コのパナナ状の merozoite, $5 \times 1 \mu\text{m}$ が形成される. mature schizont から遊りした各 merozoite は新たな microvillum に侵入し, あるものは schizogony を繰り返し, あるものは gametogony を行う. microgametocyte からは16ケの

microgamete, $1 \times 0.3 \mu\text{m}$ が形成されるが, 鞭毛はみあたらなかった. macrogametocyte は refractile body に富み, この顆粒は iodophilic である. 受精した macrogamete (zygote) は microvilli 内で oocyst wall を形成し, sporogony が行われて4コの sporozoite, $5 \times 1 \mu\text{m}$, が形成される.

成熟 oocyst は糞便中に排出されるが, あるものは腸管内で sporozoite が遊りして自家感染も繰り返される.

以上の各発育期を通じて, 虫体には mitochondria および subpericellular fibrils は電顕的に観察されなかった.

糞便中に排出された oocyst は, $4.5 \times 5 \mu\text{m}$ の楕円形で, oocyst wall は薄く, 無色, 平滑であり, その中に径約 $1 \mu\text{m}$ のはっきりとした residual body と, それをとり囲むようにC型に曲った4コの sporozoite が存在する. oocyst は硫酸亜鉛遠心沈澱浮遊法により集めることができ, これによって集められた oocyst は経口的にネコには容易に感染する. 5×10^6 コの oocyst を coccidia free の成熟ネコ3頭に経口投与したところ, 6~7日後から全例 oocyst を排出し始め, 排出は約1週間続いた. しかし, その後も毎日ではないが極少数の oocyst 排出が続き, 投与3週間後に剖検したものでも小腸に merozoite が認められた.

自然感染したネコでは, 多い時には1日に数百万コ

oocyst が排出され、極少数の oocyst 排出はその後数ヶ月も続いた。

5×10⁴コの oocyst を ICR 系 7 週令のマウス 3 頭および Hartley 系 180 g のモルモット 3 頭にそれぞれ経口投与し、毎日糞便検査を行ったが、oocyst の排出はみられず、1, 2, 3 週後の剖検においても、胃、小腸、盲腸、大腸のいずれにも感染は認められなかった。

この原虫に感染したネコは下痢することもなく、何ら病的症状は認められなかったが、濃厚感染した場合、小腸上皮細胞の microvilli の破壊が著しいので、栄養の吸収障害があるのではないかと思われる。

7. 実験小動物の寄生原虫について

小山 力, 熊田 三由, 児玉 邦子, 川端 真人, 斉藤 玲子, 志賀 正男

国立予防衛生研究所寄生虫部

石井 俊雄

日本獣医畜産大学寄生虫学教室

Parasitic protozoa of laboratory animals

Tsutomu Koyama, Mitsuyoshi Kumada, Kuniko Kodama, Masato Kawabata, Reiko Saito and Masao Shiga

Department of Parasitology, National Institute of Health

Toshio Ishii

Department of Parasitology, Nippon Veterinary and Zootechnical College

近年、精度の高い研究をおこなうために、微小寄生体を宿さないきれいな実験動物の作出が望まれている。そこで演者らは、初めに原虫類の寄生の実態を把握する目的で、まず余備的な段階として実験小動物内の Fauna を調べたので報告する。

方法および材料：

数種の conventional な実験小動物を解剖し、血液は生鮮状態で鏡検するとともに、塗抹後ギムザ染色をほどこし鏡検した。消化管は、胃、小腸上部、小腸下部、盲腸、大腸に区分し、その内容と管壁内面の塗抹標本を作り、シヤウジン液で固定後ハイデンハイン鉄ヘマトキシリン液で、また一部はギムザ液で染色し鏡検した。さらに、消化管内容の一部を田辺・千葉培地に投入し培養した。

成績と考察：

以上、本原虫の各発育期の形態を光顕的、電顕的に観察し、life cycle, 感染経路, 宿主特異性を明らかにするとともに、種の独立性、ネコへの病原性についても述べた。

質問 猪木 正三 (奈良医大・寄生虫)

本原虫を包む最外層の膜は宿主の腸の villi であるという確証がありますか。

回答 井関 基弘 (阪市大・医・医動物)

電顕的に隣りの正常 Microvilli と完全に連続的であり、この膜は Host の micovillus であることが確認される。

1. 検出した原虫

ハムスター (APG 系および CBN 系) からは, *Entamoeba muris*, *Monocercomonas* sp., *Hexamita muris*, *Giardia simoni* または *G. muris*, *Tritrichomonas muris*, *Chilomastix bettencourti*, 大型繊毛虫一種, 小型繊毛虫一種など, ラット (SD 系) からは, *Entamoeba muris*, *Hexamita muris*, *Giardia simoni* または *G. muris* など, モルモット (Hartley 系) からは, *Entamoeba caviae*, 鞭毛虫一種, *Balantidium caviae*, *Cyathodinium piriforme* など, 家兎からは, *Giardia duodenalis*, スナネズミからは, *Giardia* sp., *Tritrichomonas muris*? などを検出した。マウス (dd Y 系, BAL B/C—nu/+系, dd N 系など) からは, 寄生原虫を認めなかった。以上の原虫は, それぞれ栄養体か嚢子, または両者の形で検出した。なお, 血液寄生原虫およびコク

シジウムのオーシストは現在までのところ検出していない。

Entamoeba caviae は、*E. muris* のシノニムとの考えもあるが、核構造に差異のあることから、今のところ別種としておきたい。

従来、*Giardia simoni* と *G. muris* の区別は、原虫全体の体形や median body の大きさ、形態などでおこなわれてきたが、文献的には多少の混乱がみられるようである。本研究でハムスターやラットからえた *Giardia* の種名は、今後の検討により、*G. simoni* か *G. muris* かを決めたい。

スナネズミからの *Tritrichomonas* は、この宿主に特有のものではなく、*T. muris* と思われる。この *Tritrichomonas* を含めて、一般にハムスター、ラット、スナネズミなど小型げっ歯類の間でみられる原虫は、たがいに良く類似するので、cross infection が容易に起っているのではないかと推定される。

2. 検出原虫の病原性

肉眼で認めうる症状や病巣はなく、顕著な病原性を示す原虫は認められなかった。

3. *Tritrichomonas muris* の被囊現象

T. muris では、消化管内で、栄養体、被囊前期虫体、被囊虫体の各期虫体の存在を認めた。従来、*Trichomonas* 類の嚢子については記載がすくないが、Nie (1950) は、*Trichomonas caviae* で、自ら pseudocyst を検出したとし、Samuels (1941) の「このものには発育能力がなく、真の嚢子とみなしえない」とする報告を引用した。また、Wantland (1955) は、ハムスターからえた *Trichomonas* 類で観察し、このような嚢子様体を真の嚢子とみなした、これらが真の嚢子であるか否かについては議論のあるところであるが、本原虫の伝播に重要な関連をもつと思われる問題だけに、感染実験を含む詳細な検討が必要であ

ろう。

4. 胃内寄生原虫の存在

ハムスターやモルモットの胃内に、*Tritrichomonas*, *Giardia*, *Hexamita* などの被囊虫体、また時には栄養体までも検出した。このことは従来ほとんど報告のない事実であるが、最近、今井ら (1976) が、ハムスター、ハタネズミなどの前胃内に *Trichomonas* 類に属すると思われる原虫を検出した。演者らは、前胃のみならず腺胃からも認めており、原虫伝播の観点から、この部位にこうした原虫の存在する意義は極めて興味深い。

5. 腸管寄生原虫の培養

現在までのところ、実験小動物の腸管寄生原虫の培養はあまりおこなわれていないが、演者らは、田辺・千葉培地で、*Tritrichomonas muris* の培養がある程度可能であることを知った。また、最近、金子ら (1978) も、Diamond 培地や Balamuth 培地を使用して *Trichomonas* 類の良好な発育および増数をみている。実験小動物の腸管寄生原虫の性質を知る上で、培養による原虫の増殖は極めて重要と思われるので、今後この方面の十分な検討が望まれる。

質問 猪木 正三 (奈良医大・寄生虫)

T. muris に cyst 株のものを観察されたということですが、それが真の cyst であるとの決定には、組織化学、免疫、動物感染試験を行ってみる必要があると思いますが。

回答 小山 力 (国立予研)

その通りと思います。Wantland (1955) は、この cyst 様体を使って人工消化液を作用させ、静止型 cyst の中で波動膜運動の再開を観察したが、それ以上の追究はしておりません。今のところ動物感染試験は誰もやっていないようですので、ぜひ検討してみたいと思っています。

8. ディディニウムのゾウリムシに対する摂食率

堀上 英紀・石井 圭一

法政大学教養部生物学研究室

Feeding Rate of Didinium on Paramecium

Hideki Horikami and Keiichi Ishii

Laboratory of Biology, Hosei University

繊毛虫ディディニウム (D) は主にゾウリムシを餌とし、口部より発射した銛で餌をとらえ口部を大きく開いて呑み込む摂食行動でよく知られている。すでに報告したようにゾウリムシに対するDの食性を調べるため、*P. aurelia* (Pa) と *P. caudatum* (Pc) を同数混合して摂食させると、Pa のみあるいは Pc のみで培養されたDのどちらも、Pc と比較して Pa の摂食率 (FR) が常に低かった。このことは同種の餌のみで培養しシストを数回経させたDでも、また培養液のみで脱殻させ脱殻後摂食したことの無いDでも同様であって Pa と Pc に対するFR はほぼ一定 (1:3) であった。さらに低 FR の Pa の数を3倍に増やすとFR はほぼ等しくなった。一方最近 (1977) Dがシストから脱殻したときに最初に摂食したゾウリムシが何であるかによって、その後の摂食がかわる、いわゆる“刷り込み”現象が報告されたが、前述の我々の結果はむしろ Pa と Pc に対するDの摂食はシスト前後に食べたゾウリムシの種に関係なく確率的に摂食している可能性を示唆するものであった。そこで今回はいろいろなゾウリムシを用いて確率的摂食があてはまるかどうかを調べた。大きさが最大である *P. multimicronucleatum* (Pm) と Pa で同様な実験を試みると、そのFR は圧倒的に Pm の方が高く、ゾウリムシの断面積が大きいとFR が高くなることがわかった。また Pc の行動突然変異株で、遊泳速度が速い株 (Pcf) と遅い株 (Pcs) とで調べてみるとFR は速度が速いと高いこともわかった。一方、両株を区別するために用いた中性赤による染色は Pc でも Pm でも無染色の対照群に対してFR を高めることがわかった。これらの結果は、ゾウリムシの大きさと遊泳速度がFR に影響を及ぼしていることを示しているもので、実験液中でのゾウリムシの最大断面積と遊泳速度を写真を用いて調べた。断面積については Pa に対して Pc, Pm はともにほぼ3倍大きく、遊泳速度については Pa に対して Pc は約2.5倍、Pm

および染色した Pc, Pm はいずれもさらに速かった (約4倍)。また Pc の行動突然変異株では断面積は Pcs の方が大きくて Pcf の約1.8倍であり、遊泳速度は後者の方が前者の約1.6倍速かった。

以上のことからDの摂食は、単に確率では説明できない点も多々あるが、確率的な要素が強くみられることがわかった。

質問 丸山 正 (都立大・理・生物)

Paramecium の condition medium (古い培養液) 等でも cyst のふ化がおこるかどうか。また、他の ciliata によってもふ化は誘導されるか。

回答 堀上 英紀 (法政大・教養・生物)

ディディニウムにシスト形成をおこさせるような古い培養液ではエクシストはみられません。新しい培養液のみでエクシストさせることはできません。

質問 鈴木 実 (日大・法・一般)

ゾウリムシがターゲットになるといふとき、泳ぐ速さ以外にせん毛運動の大きさの違いということも考えられます。とくにゾウリムシはじっとしていることも多いので、せん毛運動による水流みたいなものが *Didinium* に感じさせるということはないでしょうか。

回答 堀上 英紀 (法政大・教養・生物)

その点については今後調べてみようと思います。

質問 北村 昭夫 (東北大・理・生物)

ゾウリムシに対する摂取率は、ゾウリムシの大きさや遊泳速度など衝突のチャンスにより決定されるようですが、他のえさとなる繊毛虫とゾウリムシ等を比較した場合、他のファクターによって摂取率が規制されることは考えられませんか。例えば好みなどないものでしょうか。

回答 堀上 英紀 (法政大・教養・生物)

ゾウリムシについても好みなどの問題が大いに予想できますので、今回は逆に確率的にどの程度まで解決が可

能かについて調べたデータです。

質問 浅井 博 (早大・理工)

体長の大きなゾウリムシをよりよく摂食することは標的が大きいのことで、容易に理解されます。ところで体長が同じでも速く動くゾウリムシの方をより選択的に摂食することは、どのように説明できるのでしょうか。

回答 堀上 英紀 (法政大・教養・生物)

速度が速い方が摂食率が高いということは、ゾウリム

シに対する好みというよりは確率的に摂食していると考えてよいのではないのでしょうか。

質問 松田 順二 (東北大・理・生物)

ディデニウムの「もり」の発射は、ゾウリムシとの接触の後であるのか。接触する代りに、その近傍に来たときに発射されるのか。どちらですか。

回答 堀上 英紀 (法政大・教養・生物)

行動が早い為現在のところ判定できていません。

9. トリトン処理ゾウリムシの Ca-ATP などによる変形・繊毛逆転

森田 勉, 友本 貴士, 福井 啓二, 浅井 博

早稲田大学理工学部

Ciliary Reversal and Shape Change of Triton X-100 Treated Paramecium caudatum by Ca-ATP analogs

Tutomu Morita, Takasi Tomomoto, Keizi Fukui and Hiroshi Asai

Department of Physics, Waseda University

トリトンまたはグリセリン処理したゾウリムシの繊毛は、Ca-ATP の添加によって、その方向を逆転することが知られている。我々は Ca-buffer として EGTA を使用することによって、種々の自由 Ca イオン濃度下におけるトリトン処理ゾウリムシの繊毛逆転を調べた。また種々の ATP analogs による繊毛逆転の効果を調べた。さらに ATP 有無におけるトリトン処理ゾウリムシの Ca イオンによる形状変化も調べた。

Naitoh は種々の Ca イオン濃度下におけるトリトンモデルの Mg-ATP 添加による運動性を調べ、自由 Ca イオン濃度が 10^{-6} M 以上で backward swimming することを見出した。一方、同じ著者は、グリセリンモデルの繊毛逆転が 1mM Ca 及び 1mM ATP の添加で最大となることを見出した。そこで我々は、一定量の ATP 存在下におけるトリトン処理モデルの繊毛の方向逆転を種々の Ca イオン濃度下で測定した。その結果、やはり自由 Ca イオン濃度が 10^{-5} M 程度で、繊毛の方向逆転が最大であることがわかった。

一方、Ca-ITP, Ca-GTP, Ca-ε-ATP などの ATP analogs によっては、トリトンモデルの繊毛の方向逆転を見出すことができなかった。我々は以前、ε-ATP の存在が、Mg-ATP の添加によるトリトン処理モデルの

運動性の再活性化を阻害することを見出したが、今回の研究において ε-ATP の存在が、Ca-ATP による繊毛方向逆転を阻害しないことを見出した。これらの結果は、ゾウリムシの運動機構と繊毛逆転における ATP (及び ε-ATP) の役割が異なったものであること、を示唆する。

抽出されたダイニン ATP ase は、pH が約 8.5 で最大活性を示すが、トリトンモデルの運動性の再活性化は、pH 7.0 で最大となることが知られている。そこで、繊毛の方向逆転についても pH を変えて調べた。その結果、pH 8.0 付近で、繊毛の方向逆転が最大となった。このことから、ゾウリムシの繊毛運動機構と繊毛の方向制御の機構は、非常に複雑であることが示唆される。

トリトンモデルの Ca イオンによる形状変化については、Naitoh によって簡単に報告されているが、詳しくは調べられていない。そこでこの形状変化についても、定量的に調べた。自由 Ca イオン濃度が増すにつれ、ATP 有無にかかわらずモデルの縦横比が減少していくことがわかった。この形状変化が、繊毛の方向逆転に関連するものか、あるいは、どのような収縮性物質によって生じているのかという問題は、今後、詳しく調べていく予定である。

質問 渡辺 良雄 (筑波大)

1. 繊毛逆転は Ca-ATP として有効に働くのか、それとも Ca と ATP が独立的に働くことによっておこるのか、おうかがいします。

2. 繊毛逆転は infraciliature でおこるのか或は cilia のみでおこるのか、何か試みられていらっしゃいますか。

回答 森田 勉 (早大・理工)

1) これまでの実験では Ca^{2+} , ATP のみでは全く繊毛逆転が生じない。従って、現在のところ、 Ca^{2+} 存在下

で活性化されるような ATP ase があって、それが逆転のエネルギーを発生させているとしか判らない。また ϵ -ATP や pH 依存性などから考えて、dynein ATP ase とは別な機構であると考えて実験を進めている。

2) 繊毛逆転がどこで生じているのかについては具体的には調べていない。しかし、逆転した繊毛の形態や詳しい電顕、光学顕微鏡による観察を考えている。

10. 摂食行動時におけるディディニウムの膜電位変化

原 律雄, 浅井 博

早稲田大学理工学部

Membrane Potential Changes of Didinium nasutum during its Prey-Capture and Ciliary Reversal

Ritsuo Hara and Hiroshi Asai

Department of Physics, Waseda University

肉食繊毛虫ディディニウムは繊毛虫ゾウリムシを好んで捕食する。また空腹状態のディディニウムは自発的繊毛逆転を起して、いわゆる網張り運動を行なう。

1. 捕食時における膜電位変化

ゾウリムシがディディニウムのプロボシスと呼ばれる突起状の口の部分に接触するとディディニウムはトキシストと呼ばれるヤリ状の物をゾウリムシに刺して捕え、トキシストを収縮させながらゾウリムシをプロボシスまで引き込みプロボシスを開き飲み込んでしまう。ゾウリムシが接触してからトキシストが完全に伸びる間(約0.1秒)に、我々は膜電位が初めは過分極側に続いて脱分極側に鋭く変化することを見出した。そして2~3秒でもとの静止電位レベル付近にもどることがわかった。電位変化の大きさは一定していないが、1mM CaCl_2 , 1mM KCl, pH 7.0 の溶液中では過分極側 8mV, 脱分極側 12mV ぐらいであった。なお静止電位レベルは -25mV ~ -40mV であった。また自由 Ca^{2+} 濃度を 10^{-4} M, 5×10^{-5} M と減少させると捕食時の電位変化も減少した。

2. 繊毛逆転に対応する膜電位変化

空腹なディディニウムは種々の自発的繊毛逆転を起し、いわゆる網張り運動を行なう。微小ガラス管で固定

したディディニウムにおいてもディディニウムは自発的繊毛逆転をしばしば起こし、それぞれの逆転に対応した膜電位変化が測定された。膜電位は逆転と同時に脱分極側に変化し、終了間際に過分極側に少しずれてもとの静止電位レベルに戻った。また自由 Ca^{2+} 濃度を減少させて行くと、これらのパルスの大きさも減少するのでゾウリムシと同様にディディニウムも Ca^{2+} の流入によって繊毛逆転を起していると思われる。

質問 丸山 正 (都立大・理・生物)

トキシストが *Paramecium* にささってから *Paramecium* が引込まれるとの事であるが、そのときはトキシストによって引込まれるのか。

Cilia の逆転反応は、medium に *Paramecium* がいる場合といない場合とでその頻度が異なるかどうか。

トキシストの放出と急激な過分極、脱分極との時間的な関係についてはどうなのか。

回答 原 律雄 (早大・理工)

1. トキシストによって引込まれる。

2. 頻度は異ならない。

3. ゾウリムシが接触してからトキシストが完全に伸びるまで0.1秒ぐらいかかる。この間に膜電位が初めは過分極、後に脱分極方向に変化する。

質問 兼田 正男 (広大・総科)

1. ディディニウムにパラメシウムが衝突したときの膜電位の変化と、ディディニウムの繊毛逆転時の膜電位の変化のちがいは、前者では初めに過分極方向に脱分極がおこるが、後者ではそれがないということですか。

回答 原 律雄 (早大・理工)

前者では初めに過分極方向にずれ、後に脱分極方向に変化する。後者では脱分極方向に変化し、逆転終了間際に過分極方向に少し変化する。

11. アメーバの糸状仮足の回転運動 III

菅野 文和, 石井 圭一

法政大学第1教養部生物研究室

Spinning of filopod in small amoeba III

Fumikazu Kanno and Keiichi Ishii

Laboratory of Biology, Hosei University

培養液内で基質に接して前進している扁平なアメーバ *Flabellula* に、ピペットで烈しく水流をかけるなどの繰返し機械的刺激を与えると基質より離れて液中に浮く。*Flabellula* は、このとき例外なく本体は球形となり細い糸状仮足を放射状に数本出す。このような形態変化は、蒸留水、 10^{-5} M EGTA 液に入れても起きるが (前学会で報告)、 10^{-4} M Colchicine 液内できわめて顕著で、しかも放射形の持続時間が長くなるのが解った。この糸状仮足表層に付着した粒子の動きを映画におさめ定量的に解析してきた。長軸を中心として糸状仮足の基部の太い部域では表層のみが、仮足の細い部域では仮足自身が回転運動をおこしている (前学会で報告)。

この糸状仮足の回転運動の起動力は、仮足のある部位に局在するのか、あるいは仮足全体にわたって存在するのかを実験的に調べてみた。微小ガラス棒を回転している仮足の各部位にあてて抑えつけてその直後の仮足の動きを追った。その結果から回転を起している力は基部にあると推定された (昭. 53年. 動物学会で報告)。

この回転している仮足の構造はどこから由来するものかは重要な問題と思われる。そこで正常形から放射形への形態変化の経過を、1匹の *Flabellula* で追ってみた。培養液をすべて 10^{-4} M Colchicine 液に置換して観察した。扁平な細胞は必ず一旦球形になる。球形の表面から太い曲がった仮足が数ヶ所より伸長し、最終的には糸状仮足に変形した。この現象は *A. proteus* の場合と全く同じである。等量の 10^{-4} M CaCl_2 を加えると直ちに基

質面に接着し始め正常形にもどる。その移行時には、正常形に細い糸状仮足2, 3本がしばらく付いたままの形がみられた。放射形から正常形にもどるとき、球形になる経過は全くみられず、つまり上記の逆向きの変化はなかった。

放射形から正常形にもどす CaCl_2 の濃度閾値を調べたところ、 10^{-5} M CaCl_2 では放射形で浮いている *Flabellula* の45%が正常形にもどり、 2×10^{-5} M CaCl_2 では65%が正常形にもどった。このことから閾値はこの両者の値の間にあると考えられる。

糸状仮足のとき、ほとんどの仮足は基部から先端に至るまで直線状である。ところが、ときどき仮足がらせん形に巻いているときがみられる。このらせん形の巻き方向は、この仮足の回転方向と必ず一致している。仮足のらせん形でかつ巻き数を増しながら伸長して行く場合を映画にとり解析結果はすでに発表した (昭. 52. 動物学会)。このらせん形を人工的に誘導できぬかどうか、種々の薬品、条件を変えて行った結果、高率 (約80%) にこのらせん形仮足の誘導に成功した。伸長している仮足を、前に述べた放射形から正常形に移させる CaCl_2 の閾値付近の液内に入れた直後にらせん形ができることをみつけた。自然状態では仮足の数本のうち、あってもせいぜい1本のらせん形しか見当らなかったが、この方法では1個体で3本以上持つものもあり、今後仮足回転、らせん形の巻き方向の問題を解く有力な方法であると考えている。この方法で誘導された仮足基部からのらせん形

仮足は前回で見られたと同様、らせんの巻き方向と同じ向きで、しかも基部から回転していることが解明された。

追加 重中 義信 (広島大・総科・情報)

今回使用された Colchicine の濃度では、細胞質微小管に直接的に作用したと考えるより、膜タンパクをコントロールする微小管タンパクに効き、膜の流動性を変化させたと考えます。Ca²⁺の問題については、この濃度では *in vitro* における実験のように微小管に作用したと考えるより、糖タンパクへの作用を考える方がよく、それが細胞の基質への接着に効いているのだと考えます。

質問 鈴木 保博 (筑波大・生物科学)

コルヒチンは微小管系に作用していると思われませんが、*in vitro* の実験系で Ca イオンもコルヒチン同様に、微小管を脱重合することが知られています。仮足の出現・消失・spiral 形成において、コルヒチンと Ca²⁺ は逆の作用をしているようですが Ca²⁺ は微小管の脱重合に作用するというよりは、別のところに関与しているのですか。

回答 菅野 文和 (法政大・教養・生物)

むしろ表層にきいていると思います。

12. 太陽虫における微小管の動的変化について

重中 義信・豊原 明・洲崎 敏伸

広島大学総合科学部情報行動科学教室

On the dynamic changes of microtubules in heliozoan cells.

Yoshinobu Shigenaka, Akira Toyohara and Toshinobu Suzuki

Department of Information and Behavior Science, Faculty of Integrated Arts and Sciences, Hiroshima University, Hiroshima 730

太陽虫は、その球形の細胞体表面より放射状に多数の軸足突起を射出しているグループである。この軸足の内部には、正の複屈折性を示す軸糸が存在し、その軸糸は規則的な配列をもつ微小管で構成されている。また、軸糸が軸足内部で細胞骨格としての役割を果たしていることは、多くの微小管破壊要因(静水圧、低温、重金属イオン、軽金属イオン、尿素、コルヒチンなど)によって実験的に証明されている。他方、このような軸足は、常時、短縮と伸長を繰り返すことによって、細胞認識、細胞接着、細胞融合、細胞運動、細胞分裂、食物摂取など諸種の細胞機能に直接的に関与していることも判明した。

われわれは、太陽虫における微小管の形成消滅機構の解析を行なっているが、微小管自体の動的な変化については、今迄に、断片的な超微形態学的所見から類推するしか方法がなかった。そこで、今回は、太陽虫 *Echinophaerium nucleofilum* (米国ノース・カロライナ州産)を材料とし、生細胞内での微小管の動態を直接観察するために高性能偏光顕微鏡(レクチファイヤ)を導入し、電子顕微鏡の所見も加えて研究を行なった。実験的に

は、微小管の形成消滅を誘導するために、典型的な微小管破壊要因として知られる低温(2°C)ならびにコルヒチン(20 mM)を使用した。

低温処理の場合、3時間で70%前後の軸足短縮が誘導されるが、コルヒチン処理では、20 mM で30分後、また、10 mM で60分後に100%の軸足短縮が誘導された。そして、いずれの場合も、その軸足短縮の過程で軸糸基部の核膜からの遊離と崩壊が起こり、短縮しつつある軸糸射出の規則性が失なわれることが判明した。これらの現象は、その要因を解除することにより、極めて容易に回復に向かい、その再現性も確認された。そこで、更に詳細に微小管の動態を追跡するため、軸糸の複屈折性をレクチファイヤで観察し写真記録した後に、直ちに同一個体を固定包埋し、電子顕微鏡で観察した。その結果、微小管の複屈折性の変化が極めてよく電子顕微鏡の所見に一致することがわかった。さらに、微小管の崩壊や再形成の過程において、マクロチューブル(平均 36.7 nm φ)、微小管(平均 24.5 nm φ)および小管状繊維(平均 14.3 nm φ)の3種類の繊維構造が出現し、それぞれの間体や形態的に直接的な連続性を示す像も数多く観察さ

れた。また、これらの構造はコルヒチン感受性に富み、すべてコルヒチン処理によって崩壊することも確認された。さらに、微小管再構成の過程では、チューブリン・ダイマーからマクロチューブルを経て、最終的な微小管へと形態変化するが、その動的な変化を直接的に証拠づける推移の様子が、それぞれの新生軸足内で基部から先端部へと辿ることにより観察された。

以上の結果から、(1)微小管は最終的な崩壊産物であるチューブリン・ダイマーとの間に、マクロチューブルや小管状繊維の中間体として存在し、それらが微小管の形成消滅の過程で出現すること、(2)微小管の脱重合は、その初期段階で軸糸先端部から進行するが、後に、軸糸基部からも起こり両方向からの脱重合が進行すること、(3)微小管の再構成は、常に、軸糸基部で起こり、それが軸糸先端部の伸長につながっていること、(4)微小管の脱重合や重合の現象は、生細胞内でも常に起こっていることであり、これが太陽虫のもつ諸種の細胞機能に積極的に関与していることが判明した。

質問 菅野 文和 (法政大・教養・生物)

仮足が短くなるときは基部のマクロチューブルが崩れ、それが短縮の原因となるのでしょうか。

回答 重中 義信 (広島大・総科・情報)

低温やコルヒチン処理の場合は、まず、軸糸先端部からの崩壊が起こり、次いで軸糸基部の核膜表面からの分離とそれに続く微小管崩壊へと進みます。もちろん、マクロチューブルは不安定で崩れやすいようです。

質問 北村 昭夫 (東北大・理・生物)

軸足微小管の degradation の過程や機構は *in vivo* と *in vitro* で異なる場合があると思われませんが、*in vitro* でも *in vivo* で認められた macrotubule の形態は観察されるのでしょうか。

回答 重中 義信 (広島大・総科・情報)

軸足の isolation は最近やっと成功した所で、*in vitro* の状態で同様な形態変化が起こるか否かは今後、追究してみたいと考えます。

13. *Paramecium* における有性生殖後の口部形成と小核の機能

見上一幸

宮城教育大学理科教育研究施設

Role of micronucleus in the stomatogenesis during sexual reproduction of Paramecium.

Kazuyuki Mikami

Research Institute for Science Education, Miyagi College of Education, Sendai.

接合過程で小核は、減数分裂、受精核形成、新大核および新小核分化を行い、いわゆる生殖核としての機能を持つ。*Paramecium caudatum* において、接合中の小核異常を誘導する実験条件は、多くの場合、接合完了細胞に致死的に働き、子孫を得られない。この小核異常と接合完了細胞の致死との関係を知るために、無小核細胞の接合がどのような経過をたどるか、*P. caudatum* と *P. tetraurelia* の人為的に得られた無小核株を用いて解析を試みた。

P. caudatum の多くの無小核株は、顕微操作で小核をぬき取ることによって得られた。また、受精核の第1分裂時に Colchicine (15mM) を作用させることによって

も、数クローンが得られた。*P. tetraurelia* のすべての無小核株は、Colchicine (7.5mM) で *P. caudatum* の場合と同様、受精核の第1分裂時に処理して得られた。これら無小核株の特徴は、いずれも食胞形成速度が遅く、さらに平均分裂速度も *P. caudatum* で 0.2~1.8 fissions/day (有小核株では 2.4~3.2)、*P. tetraurelia* では 1.6~2.8 fissions/day (有小核株では 4.6~4.9) と低い。しかし、これら無小核株では、有小核株と同様に有性生殖(接合と自家生殖)が誘導できた。*P. caudatum* の無小核株の接合では接合対形成は正常であり、接合対の分離も有小核の場合に比べ、多少の遅れはあるがほぼ正常に行われた。また、受精核の第3核分裂時にみられ

る細胞の一時的球化現象も正常に行われた。しかし、これら“接合完了細胞”は増殖することなく小型化し、数日後には消失した。*P. tetraurelia* の無小核株でも、自家生殖を誘導すると旧大核の断片化など正常に行われるが、その後増殖しない。

無小核株の接合完了細胞の食胞形成能を調べたところ、ほぼすべての細胞において、食胞形成が開始されているはずの時期（接合開始後30～40時間）に食胞形成は見られなかった。したがって接合完了細胞の致死は、食胞形成が行われないためと考えられる。無小核細胞と有小核細胞を接合させた場合、無小核であった接合完了細胞にも食胞形成がみられた。また、接合対を Trypsin 処理することで接合対を分離して自家生殖を誘導できるため、有小核細胞と無小核細胞との接合対を Trypsin 処理して自家生殖を誘導したところ、接合対であった一方の細胞では食胞形成が行われたが、他方では起こらなかった。これらの事実から、受精核形成から第3核分裂までの小核が、食胞形成能の発現に関与していることが示唆された。

それでは食胞形成を行えない原因は何であろうか。走査電顕により口部形態を観察したところ、無小核接合完了細胞は口溝が浅く、そのために多くの細胞では口内繊毛が体表より外に露出して見えた。また、位相差顕微鏡による観察および鍍銀法によっても、口溝の浅いことが確認された。走査電顕による観察では、この他、口部下域に繊毛を欠く部分が認められた。これは口内部の繊毛を欠く壁が、体表部に露出したものとも解釈される。しかし、この繊毛を欠く部分は、必ずしも無小核接合完了細胞に特有のものではなく、栄養期（無性増殖期）の細胞にも観察された。すでに述べた無小核細胞の食胞形成能が低いこととの関連が示唆される。*P. caudatum* で小核は、栄養期の細胞分裂時の口部形成に関与しており、小核が除かれたことにより口部が浅くなり、その結果、口部内の繊毛を欠く壁部が体表に露出し、食胞形成能の低下が起こることが考えられる。さらに、これらの細胞が接合を行うと異常はより著しいものとなり、ほと

んど食胞形成能を失うという一連の解釈ができる。*P. tetraurelia* についても同様のことが考えられるが、走査電顕による観察では、栄養期の細胞は *P. caudatum* ほど顕著でなく、全く異常を示さないものも多く、目下、観察を進めている。

以上、述べたように、小核の異常による致死の原因は、一つには食胞形成異常（口部形成異常）であると考えられる。ただ、つけ加えるべき点は、極めて少数例ではあるが、無小核株の接合完了細胞は食胞形成を行い、その後、大核再生を行って増殖した。このことは、無小核株の接合完了細胞も、食胞形成（口部形成）が正常に行われさえすれば、その後、増殖が可能であると考えられる。小核が口部形成においていかなる機能を持つのか、その詳細はまだ明らかでなく、今後さらに食胞膜や fibril systems についても合せて調べる必要が残されている。

質問 兼田 正男（広大・総科）

1. 食胞形成ができないということは、binary fission の場合にはおこらないで、conjugation の場合だけおこるのですか。

2. binary fission の場合、protor と opisthe で違いはありますか。

回答 見上 一幸（宮教大・理教研）

1. 二分裂時では、食胞形成能の低下はみられますが、全く起こらないわけではありません。接合完了後の場合では、ほとんどの細胞で食胞形成は全く起こりません。

2. 有性生殖後の口部形成に注目したこともあって、調べておりません。

質問 渡辺 良雄（筑波大）

無小核の二分裂時の口部形成と接合の時の口部形成はどこがどのようにちがうのでしょうか。

回答 見上 一幸（宮教大・理教研）

走査電顕で見た限り、二分裂増殖期の口は、口部下域に繊毛を欠く部分が認められる。接合完了時の口は、口部下域の繊毛を欠く部分の出現に加えて、内部繊毛が体表外に出て口溝が著しく浅い像が得られている。

14. ゾウリムシの生殖核の機能の発現—核移植法を用いた解析

春本 晃江, 樋渡 宏一
東北大学理学部生物学教室

Expression of the function of germ nucleus in Paramecium caudatum—Analysis with nuclear transplantation

Terue Harumoto and Koichi Hiwatashi
Biological Institute, Tohoku University, Sendai

ゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) は1個の細胞に大核と小核という2種類の核を持ち、細胞が接合すると、大核は退化するが、小核は減数分裂を行って前核の形成を行うので生殖核としての機能を持っている。形態的機能的に異なるこれら2種類の核は、元は1個の synkaryon (受精核) から生じたものである。すなわち synkaryon が分裂して生じた8個の核から、4個の大核原基と3個の退化核が生じ、残りの1個が小核になる。その後細胞が2回分裂して、1個の細胞内に大核と小核が各1個になる。さらに細胞は一定回数の分裂後、成熟期に達し接合可能となり、接合すると小核は減数分裂を行うので、成熟期以後の細胞の小核は生殖核として機能できることがわかる。しかし細胞が成熟期に達するまでは、その細胞内の小核が生殖核として機能できるかどうかを直接証明した例はない。

本研究では synkaryon から、大核と小核が生じ細胞が成熟期に達するまでの過程のどの時期に、核が生殖核の機能を持つようになるかを明らかにすることを目的としている。生殖核の機能として本質的な減数分裂を指標として、核が生殖核としての機能を持つかどうかを検定しようとしている。そのための方法として核移植を用いることにした。

P. caudatum の減数分裂について、藤島はすでに成熟期の細胞の減数分裂前S期の小核およびG1期の小核を、減数分裂前期あるいは減数分裂前S期の細胞にそれぞれ移植して、減数分裂を誘導することに成功している。

本研究ではこの核移植の方法を用い、調べたい核を移植して、その核に減数分裂が誘導されるかどうかを光顕レベルで観察した。

まず最初に synkaryon に減数分裂が誘導できるかどうかを調べるために、synkaryon を傷つけずに移植操作

ができるかどうか、他の環境に移してもこわされずに保持されるかどうかを検討した。synkaryon は顕微分光測光法により4CのDNA量を持つことが判明した。大きさは小核に比べて著しく大きく、長さ19 μ m幅12 μ mのフットボール型をしている。これはこれまでに移植に成功した最も大きな核である。synkaryon を①あらかじめ小核を抜き取っておいた無小核の細胞に移植後、細胞をbufferに移し6時間後に固定・染色すると、synkaryon はこわされずにそのままの形で保持されていた。②18個の無小核の細胞に移植後、細胞を培養液に移して分裂させると、小核を持ったクローンが5クローン得られた。この5クローンは、クローンを構成するすべての細胞が小核を持っていた。このことは、移植された synkaryon が宿主細胞の分裂に伴って mitosis を行なったことを示しており、移植された synkaryon は殆んど無傷であったことを示している。③次にこのようにして得たクローンを無小核のクローンと接合させると、synkaryon 由来の小核が減数分裂を行なうことが、この5クローンすべてにおいて観察された。このことは移植された synkaryon が mitosis だけでなく、複雑な形態変化を伴う減数分裂をも正常に行なったことを示している。

これらのことから、synkaryon を mitosis も減数分裂もできる無傷な状態で移植できることがわかったので、次に synkaryon に一度も mitosis を経過させずに、直接減数分裂を誘導できるかどうかを調べた。移植する recipient として、減数分裂前S期や減数分裂前期の色々な時期の細胞を用いて、現在までに約50細胞に移植操作を行ったが、減数分裂は誘導されなかった。例数が少ないので synkaryon が減数分裂を行えないかどうかはさらに検討を必要とする。さらに synkaryon が1回分裂して生じた核、2回分裂して生じた核、あるいはより発生の進んだ核に減数分裂が誘導できるかどうかを今後

調べることによって、生殖核としての機能を持つ核がいつ生じるのかということを知りたい。そして減数分裂を行うことのできる核と行うことのできな核の違いは何によるものであるかということをはっきりとしたいと考えている。

質問 兼田 正男 (広大・総科)

1. synkaryon を大核をもつ cell へ入れたとき、大核は変化なく、synkaryon も大核・小核に分化しないのですか。

回答 春本 晃江 (東北大・理・生物)

大核に変化はありません。無小核の細胞に移植後6時間たっても、synkaryon は分裂せずにそのまま保たれています。細胞を分裂させると移植された synkaryon は通常の小核と同じように大核に近接して位置し、接合時

には減数分裂を行なうので、小核としてのみ機能すると考えています。

質問 扇元 敬司 (東北大・農・家畜衛生)

核移植の技法は、常に一定の精度でおこなわれていると確信されておりますか。

回答 春本 晃江 (東北大・理・生物)

核移植は現在常に70%以上の成功率で行うことができますので、技術としては確立していると思っています。

質問 菅野 文和 (法大・教養・生物)

核移植するとき、いくらかの細胞質も一緒に入りますが、その影響 (例えば cytolis) はありませんか。

回答 春本 晃江 (東北大・理・生物)

移植操作を行った細胞の40~60%は生存することから、それほど悪い影響を与えているとは思われません。

15. ゴウリムシの性的凝集活性の発現と細胞周期

松田 順二, 樋渡 宏一
東北大学理学部生物学教室

Expression of mating reactivity and cell cycle in Paramecium caudatum

Junji Matsuda and Koichi Hiwatashi
Biological Institute, Tohoku University, Sendai

性的成熟期にあるゴウリムシの相補的な接合型をまぜると凝集反応がおこる。これを交配反応と云うが、性的に成熟した細胞でも対数増殖期にある間は、交配反応性は発現せず、定常期に入ってから交配反応性が発現するようになる。この研究の目的は、性的に成熟な細胞が対数期から定常期に入るときに、交配反応性が出現するメカニズムがどのようなものかを知ることである。

これまでの研究で定常期の細胞はG1期にあることがわかっているが、活性の出現と細胞周期との関係は殆んどわかっていない。細胞周期との関係を調べるためには周期を同調させる必要があるが、*Tetrahymena* のような同調法が不可能なので、分裂中の細胞を集めることによりG1初期の細胞を集めた。分裂中の細胞を比較的高率に得るため、遠心操作を行った。

G1初期の細胞を buffer に移し、移してから種々の時間で交配反応性をテストした結果、交配反応性が発現

するのは、incubation time が12時間以降であることがわかった。更に buffer に isolate した細胞のうち、一部は buffer 中で一度分裂して2細胞となっていた。ここで興味ある事象が見出された。それは、交配反応性を示した細胞の多くは、buffer 中で分裂した細胞であった、ということである。そこで細胞が交配反応性を示すためには、buffer 中で一度分裂することが必要であるかどうかを検討するために incubation time 20時間で調べてみた。数回の試行の結果、統計的に信頼度99%以上で、交配反応性の発現したものは分裂したものに圧倒的に多い、ということが判明した。

同じ buffer に移して starve させた細胞の中で、分裂したものと分裂しないものでは、細胞周期中の時期が違う可能性が考えられる。そこで、buffer 中で分裂した細胞と分裂しない細胞の大核について、MSP で Feulgen 染色による DNA 量の相対量を比較してみたところ、

平均値の95%信頼限界で平均値の差の検定を行うと、分裂した細胞で 48 ± 6.08 、分裂しない細胞で 76 ± 5.64 となり、後者は前者の約2倍の DNA 量をもっていることがわかった。即ち、分裂した細胞はG1期にあり、分裂しなかったものはS期またはG2期にあることが示唆された。このことは、交配反応性は大核のG1期にのみ発現して、たとえ細胞が飢餓状態にあっても大核がG1期以外の細胞周期にあれば、交配反応性は発現しない可能性を示唆している。

ところで、本実験で使用した株は、普通の mass culture では90%以上の交配反応性を示すのが通常である。またこのようにして mass で培養して交配反応性の90%以上現われたものを、前と同じ buffer に分離しても反応性は失なわれない。ところが、対数増殖期の single cell を isolate して buffer 中で starve させると、低い交配反応性しか示さない。このことは、交配反応性の維持には細胞が集団で存在する必要はないが、交配反応性の発現には細胞が集団で存在することが必要であるかも知れないことを暗示する。そこで、single cell に isolate して buffer に移す代わりに、mass (650~1300 cells/ml) で buffer に入れると交配反応性の出現率が高まるかどうかを検討した。その結果、集団で buffer に移したものは、明らかに細胞1個ずつ移したものに比べ、有意に反応性をもつものの割合が多いという結果を

得た。

以上の結果は、細胞が集団で存在する時には、細胞間の何らかの作用によって、G1 arrest がかかり、細胞集団中にG1期で止るものが多くなり、その結果交配反応性を示すものが多くなるのではないかと、という可能性を暗示する。この可能性の検討は、今後の研究をまたなければならぬ。

質問 渡辺 良雄 (筑波大)

対数期のものからとったG1期のものと stationary phase から分裂したもの (starvation によって) と同じG1期のように思えないのですが如何ですか。

回答 樋渡 宏一 (東北大・理・生)

交配反応性の発現の有無について明らかに異なります。つまり対数増殖期のG1期の細胞は、交配反応性を示さずに細胞周期の過程を進みますが、定常期のG1期の細胞は細胞周期よりはずれ、交配反応性を発現します。

質問 兼田 正男 (広大・総科)

使用された虫のS期は cell cycle 全体のどれくらいの位置にありますか。

回答 松田 順二 (東北大・理・生物)

cell cycle 8時間の細胞で6時間がS期であると云う報告があります。本実験では未だ決定していません。

16. ゴウリムシの未熟物質の性質とその分離・精製

芳賀 信幸, 樋渡 宏一
東北大学理学部生物学教室

Purification of the immaturity substance.

Nobuyuki Haga and Koichi Hiwatashi
Biological Institute, Tohoku University, Sendai

未熟期のゴウリムシ (*Paramecium caudatum*) から、未熟物質 (Immaturity substance) を分離・精製した。

ゴウリムシは、Clone として見ると、高等生物と同様、接合 (受精) → 性的に未熟な時期 → 成熟期 → 老衰期という生活環をくり返す。有性生殖能 (ここでは、性的凝集反応性を意味する。) は、未熟期では完全にその発現が抑制されているが、成熟期になると、非常に安定した

形質としてあらわれ、老衰期では、不安定になる。

未熟期の長さは遺伝的にプログラムされており、分裂回数に依存することが知られている。未熟期の細胞の細胞質を成熟期の細胞に、Microinjection によって移植すると、注射された成熟期の細胞は、その後、10数回分裂の間は性的に未熟になってしまう。(1975) そこで、演者らは、未熟期の細胞に存在し、有性生殖能力、すなわ

ち接合型遺伝子の発現を抑制するこの物質を、未熟物質と名付け、分離・精製を試みてきた。

Paramecium caudatum では、接合後50~60回分裂の間が未熟期であるが、少なくとも10回分裂から約30回分裂の間の細胞には未熟物質が存在することが明らかになった。この時期の細胞を $10^8 \sim 10^7$ 個体集めて、その可溶性分画を注射しても、細胞質とはほぼ同程度の効果があった。そこで次に、Diaflo membrane filter によって、分子量一万以下の分画を検討した結果、この分画にも効果があった。この分画は、熱に不安定であり、トリプシン処理で失活する。従って、未熟物質は蛋白質である可能性が高いので、次に可溶性分画を Sephadex G-50 により fractionation を行なった。その結果、分子量約一万の分画に強い活性を持つ単一のピークとして溶出されることが明らかになった。この分画には、蛋白質が、10数種類含まれている(電気泳動による検定結果)ので、さらに、DEAE Sephadex A-25 で、fractionation を行なった。活性は 0.4 M NaCl (0~5 M NaCl linear gradient) 付近に、単一のピークとして溶出された。この分画の蛋白量当りの精製度は、可溶性分画に対して 555.5 倍という高い値を示した。

一方、未熟物質は、老衰期の細胞に対してはどのような作用を示すかという問題を明らかにするために、未熟期の細胞の可溶性分画と、Sephadex G-50 の分画を、

それぞれ老衰期の細胞に注射してその効果を検討した。老衰期の細胞は、性的凝集反応性が不安定になるばかりではなく、分裂速度や定常期に於る細胞密度も低下する。また、子孫の生存率も著しく低下する。注射された老衰期の細胞のクローンが示した Character は、

(1)分裂速度・定常期に於る細胞密度に関しては、注射をしない細胞由来のクローンと有意の差がなかった。

(2)子孫の生存率の上昇もみられなかった。

しかし、(3)性的凝集反応性は著しく上昇し、注射後10数回分裂まで安定であった。

老衰期の細胞に対する。このような効果が、本当に未熟物質の作用によっているのか、という問題点は今後の研究を待たなければならないが、有性生殖能力という形質に関してのみ、若返えるという効果は、非常に興味のある現象である。

質問 今井 壮一(日獣大・寄生虫)

未熟物質は *Paramecium* 体内のどこかの部位に局在しているのでしょうか、あるいは細胞質内に均一に分布しているのでしょうか。

回答 芳賀 信幸(東北大・理・生物)

細胞質の前半部、後半部それぞれ移植して効果の強さを比較をしてみた所、有意の差はみられなかったもので、ある程度均一に分布していると考えている。

17. テトラヒメナの細胞質分裂における微細構造変化

保田 友義

国立予防衛生研究所

渡辺 良雄

筑波大学生物科学系

Ultrastructural changes involved in cytokinesis of Tetrahymena pyriformis.

Tomoyoshi Yasuda

Department of Technology, National Institute of Health, Tokyo

Yoshio Watanabe

Institute of Biological Sciences, University of Tsukuba, Ibaraki

Schroeder は、電子顕微鏡を用いクラゲ卵の卵割溝直下に 40 Å の微小繊維からなる環状構造を観察し、

Marsland と Landau が提唱した収縮環 (CR, contractile ring) の実在を示した。その後 CR を構成する主たる微

小繊維がアクチン繊維であるという報告が数多く出され、CR においても筋肉同様アクトミオン繊維の滑りによる収縮力の発生が推測されている。しかし、CR の収縮機構については未だ不明の点が多い。また、織毛虫ではアクチンやミオンが分離精製されたという報告はなく、それにも拘らず、くびれを生ずる細胞質分裂が一般的に行われている。

我々は織毛虫も含めた動物細胞の細胞質分裂の機構を形態の面から調べるために、同調培養の容易な織毛虫テトラヒメナを用い、超薄切片法による検索を試みた。

1. 材料と方法

無小核系の *Tetrahymena pyriformis* W 株をイースト抽出物を含むプロテオースペプトン培地で、26°C で振盪培養した。同調分裂は、26°C 30分と34°C 30分の温度処理 8 回で誘導し、分裂細胞の電頭標本を作製した。表層の微細構造をみやすくさせるため、時には細胞のグリセリン処理も行った。すなわち、細胞を50%グリセリンで処理した後50mM KCl を含むリン酸緩衝液で洗い固定・包埋した。

2. 観察結果

(1) 分裂間期の表層構造

分裂間期の表層には、basal body (kinetosome) とその附属物 (縦走および横走微小管束と kinetodesmal fiber) が規則正しく配列した構造が観察された。これらの微小管系高次構造は、細胞質最表層部に分布する電子密度の高い層 (EL, epiplasmic layer) の部分で表層に固定され、強固な表層骨格を形成していると考えられる。グリセリン処理すると、EL は密度が疎になり、その中に網状に走る沢山の微小繊維が観察された。

(2) 分裂溝の表層構造

分裂中の細胞では、分裂溝付近で特有に失われてゆく構造と、分裂溝に特有に現われる構造とが観察された。

i) 分裂溝付近から特有に失われる構造

分裂溝を中心にした巾約 4 μ の帯状の表層部分では、織毛は脱落し、basal body とその附属物も細胞体深部へと陥入しながら退行消失していき、その帯状部分では織毛列線がとぎれている像が観察された。また EL に似た不定形の塊りが、分裂溝下の細胞質に観察された。この帯状部分では表層骨格と EL の一部が消失し分裂溝形成を容易にするものと思われる。

ii) 分裂溝に特有に現われる構造

深くくびれの中央部に CR が観察され、その中に分裂溝に沿って走る太さ約 20 \AA ~100 \AA の微小繊維が認められた。これは約 20 \AA の細い繊維がいろいろな程度に束ねられているために太さの多様性が生ずると考えられ

る。また、分裂溝に平行な繊維の他にこれと直交する 2~3 種の短かい繊維状構造物も観察された。時には 800 \AA の周期をもった横縞もみえ、kinetodesmal fiber にみられるものと酷似していた。

表層と CR の間には若干の間隙があり、CR の細胞深部側の方がきれいな ring 状に繊維が配向しており、CR の表層側は ring から派生した繊維が表層のうねの先端方向にまで伸びているものもあるため繊維の方向はやや不規則にみえる。この様な繊維の配列パターンからすると、表層と CR とは常に連結を保ちながら CR 中では繊維間の相互作用により収縮が生じ、くびれが進行すると考えられる。表層には分裂間期と同様 EL が観察されるが、しばしば肥厚している。この EL の疎な部分を観察すると、グリセリン処理した時と同様な繊維が観察された。EL と CR 内に含まれる繊維は配列パターンこそ異なるが主として共通の微小繊維からなっているように思われる。

浅いくびれの横断面には完全な CR は認められず、表層に肥厚し且つ密度の低下した EL が観察された。分裂溝が深まると、これらの肥厚した EL がつながって CR が形成されてくるものと思われる。

3. 考察

テトラヒメナの CR および EL 中に見られた微小繊維や繊維束は太さおよび存在様式から典型的なアクチン繊維や繊維束とは形態学的にみて異なるものであることが示された。また、*Stentor* の収縮中の myoneme にみられるようなスパイラル状の繊維が、テトラヒメナの分裂溝のくびれの進行に伴って CR 繊維中にみられないことから、くびれの進行には恐らく微小繊維間のスライディングが寄与するものと考えられる。

質問 兼田 正男 (広大・総科)

1. contractile ring の収縮機構を教えてください。

2. contractile ring の中に m. t. が存在しますか。

回答 保田 友義 (国立予研)

1. 一般には actin 繊維による sliding 機構が考えられておりますが、*Tetrahymena* の contractile ring を構成する fiber は、actin ではなく、actin より細い基本繊維が基になって出来ているように思われます。しかしながら、spiral な繊維は見られず、straight な繊維が平行に走っていますので、actomyosin 系同様、sliding による収縮が起こるものと想像しております。

2. contractile ring の中には 150 \AA を越える繊維は見つかりませんでした。分裂面に対し垂直方向に走る microtubules (CR の内側、ほぼ中心部に) が数本認められますが、これらの m. t. は大核中のあるいは大核の

周囲の m. t. です。Nassula では細胞質分裂後期に m. t. が CR の補充的役割を役すようですが、Tetrahymena ではそのような構造は観察されませんでした。

18. テトラヒメナのアクチン様蛋白質の性状

沼田 治
筑波大学生物科学系
保田 友義
国立予防衛生研究所技術部
大西和夫・渡辺良雄
筑波大学生物科学系

Properties of Tetrahymena actin-like protein

Osamu Numata, Kazuo Oonishi and Yoshio Watanabe

Institute of Biological Sciences, Tsukuba University

Tomoyoshi Yasuda

Department of Technology, National Institute of Health, Tokyo

動物細胞の細胞分裂時に見られる分裂溝の形成は、長い間、多くの研究者の注目の的であった。Schroeder, (Exp. Cell Res. 53, 272, 1968) がクラゲの卵割時に分裂溝直下に直径 40 Å の微小繊維からなる束の存在を見つけて以来、多くの動物細胞でこの構造が観察された。この微小繊維に H-メロミオンが矢羽根状結合を起すことから、細胞性 F-アクチンが収縮環の主体であると考えられる。また、この収縮環中にミオン様の繊維の存在が明らかになったことから、分裂溝の進行がアクチンとミオシンの相互作用によるものであらうと考えられている。

しかし、このアクチンとミオンから成ると思われる収縮環の構造は骨格筋の様に安定したものではなく、細胞周期に応じて形成、消失が繰り返される。従って、構造の形成・消失機構を知る事が重要であり、収縮に関する調節機構も骨格筋とは違ったものであらうと考えられる。しかし、これらの問題に関して、ほとんど明らかにされていない。

我々は、真核生物に於ける細胞分裂の機構を分子レベルで解明するための最良の材料として繊毛虫テトラヒメナを用いた。その理由は、(1)無菌的に完全合成培地で大量同調培養が可能である事。(2)分裂溝直下に立派な収縮環が存在する事。(3)細胞周期に伴う物質の量的変動が明

らかである事。(4)突然変異株を用いた遺伝学的アプローチが可能である事などである。しかし、テトラヒメナを含めた繊毛虫に、アクチンとミオンが存在するという報告はない。そこで、我々は、アクチンがミオンと結合能を持つという一般的性質を利用して、テトラヒメナからアクチン様蛋白質の分離精製を試みた。

その結果、テトラヒメナのアセトンパウダーの 1M KCl 抽出物中にウサギ骨格筋ミオンと結合能のあるアクチン様蛋白質が存在することがわかった。さらに、この抽出物を硫酸で分画すると、アクチン様蛋白質は 40~70% の分画に含まれる。これを RNase (50 µg/ml) で処理し RNA を消化した後、セファデックス G-100 カラムクロマトグラフィーにかけ、0.1M KCl, 10mM トリス-塩酸 pH 7.6 で溶出すると、溶出パターンには 2つのピークがあり、先に溶出するピークにアクチン様蛋白質が存在した。この分画を SDS-トリス・グリシンの系の電気泳動で解析したところ、単一バンドにまで精製されている事がわかった。この蛋白質の自然状態での大きさを調べた所、0.1M KCl の下で、分子量 38,000 の単量体が約 10S の多量体を形成していると考えられ、この分画をネガティブ染色で観察した結果、均一な、一辺 90~100 Å の立方体状の構造物が見られた。これは約 10S の多量体に相当するものと思われる。

10S 分画を 50mM KCl, 0.6mM ATP, 1.2mM CaCl₂, 5mM MES, pH 6.6 の条件で 37°C, 20分間処理した結果, 濁度の上昇が見られ, これを電顕でネガティブ染色して観察したところ, 繊維状構造が形成されている事がわかった. この構造を見ると, 直径 20~25 Å の微小繊維が最小単位であり, それらはしばしば互いに集合して, より太い繊維束を作る性質があることがわかった. 繊維形成の条件を調べた結果, K⁺ のイオン強度の最適条件は 50mM であり, Ca²⁺ は 0.1mM~1.2mM で繊維形成を促進し, Mg²⁺ は 0.3mM で Ca²⁺ の促進効果を阻害した. また, ATP が必要であり, 蛋白量 0.1mg/ml 以上で繊維形成が観察された. さらに, この過程は, 温度依存性が大きいものと思われる.

以上の結果より, テトラヒメナのアクチン様蛋白質はアセトン処理に抵抗性を示し, ミオシンとの結合能を持つ事は従来のアクチンに類似している. しかし, 分子量がアクチン (42,000) より小さく 38,000 である事, 形成する繊維の太さがアクチン繊維 (50 Å) より細く 20~25 Å である事, 0.1M KCl の条件下で繊維を形成せず, 一边が 90~100 Å の立方体を形成する事, アクチンと同じ条件下でミオシンの Mg²⁺-ATPase 活性を促進しない事などから, 従来のアクチンとは異なる新しい繊維状蛋白質であろうと思われる.

この蛋白質の繊維形成は Ca²⁺ 依存性が強い事が明らか

かになったが, 10S の多量体から 20~25 Å の繊維を形成する移行過程は, まだ不明な点が多く, さらに検討を要するものと思われる.

テトラヒメナの分裂溝直下には, 立派な収縮環が存在する事を保田と渡辺 (本大会) が報告している. 収縮環を形成する繊維は, 太さと繊維束の形成状態からみて, アクチン様蛋白質が *in vitro* で形成する繊維と非常に良く似ている事が注目される.

質問 樋渡 宏一 (東北大・理・生物)

テトラヒメナのアクチン様蛋白質は骨格筋アクチンと免疫学的に cross-react しますか.

回答 沼田 治 (筑波大・生物科学)

テトラヒメナ・アクチン様蛋白質に対する抗体は骨格筋アクチンとは全く cross-react しません.

質問 北村 昭夫 (東北大・理・生物)

アクチン様タンパク質と microfilament との間の解離一集合は, どのような条件で可逆的でしょうか.

回答 沼田 治 (筑波大・生物科学)

予備的な実験の段階であります, 微小繊維を形成した分画を 1M KCl, 5mM EGTA, 5mM MES pH 6.6 に透析した後 10W, 30分遠心して上清を得ます. これを重合条件に移し, incubate した後, これをネガティブ染色し, 電顕で観察すると繊維形成が認められた. しかし, 脱重合の最適な条件に関しては検討中である.

19. テトラヒメナの Ca²⁺ 結合蛋白質について

鈴木 保博, 平林 民雄, 渡辺 良雄
筑波大学生物科学系

Ca²⁺-binding protein of *Tetrahymena*

Yasuhiro Suzuki, Tamio Hirabayashi and Yoshio Watanabe
Institute of Biological Sciences, University of Tsukuba, Ibaraki

カルシウムイオン (Ca²⁺) は筋収縮・細胞運動・神経系などの制御に重要な役割を演じており, これらの Ca²⁺ に依存する生理現象に対応して Ca²⁺-binding protein (CaBP) がさまざまな細胞・組織から単離され詳しい性状が調べられている. (例, 骨格筋トロポニン C, Ca²⁺-dependent modulator protein, バルブアルブミンなど)

原生動物・繊毛虫においては *Stentor* や *Spirostomum*

などの収縮性繊維 (myoneme) の収縮やゾウリムシの繊毛逆転反応などに Ca²⁺ や CaBP が重要な役割を演じるであろうことが強く示唆されている. しかしながら繊毛虫において CaBP を分離精製し, その性状が検討されている例はツリガネムシの spasmin のみである. (Ref. 1)

われわれは繊毛虫の Ca²⁺ による分子レベルでの調節

機構を調べる目的で、生化学的研究に種々の有利な面をもつテトラヒメナを用いて CaBP の分離精製とその性質の検討を試みた。

〔方法〕 Tris-glycine (pH 8.3), 尿素系ポリアクリルアミドゲル電気泳動(平板法)において Ca^{2+} 存在下(+Ca) と EGTA 存在下(-Ca) とで移動度の異なる蛋白質を CaBP として追跡した。(Ref. 2 のトロポニンCに関する報告より)

〔結果〕

1. テトラヒメナ細胞のホモジェネートの沈殿を 8M 尿素で抽出した分画またはその 60~100%飽和硫酸で沈殿する分画中、あるいはテトラヒメナアセトンパウダーの 1M KCl 抽出液中に、トロポニンCと同様に +Ca の方が -Ca より移動度が大きくなる蛋白質があり、便宜上 *Tetrahymena* CaBP (TCaBP) と名付けた。この蛋白質は熱(95°C 5分)に安定で、テトラヒメナの endogenous なプロテアーゼに弱い性質がある。

2. TCaBP を尿素非存在下の条件(アルカリグリセロールゲル)で泳動すると泳動パターンが逆転し -Ca の方が +Ca よりかなり移動度が大きくなるのがわかり、その点ではやはり +Ca の方が移動度の大きいトロポニンCとは違った性質がある。

3. 調製用電気泳動によって精製した TCaBP は SDS-電気泳動で1本のバンドとなり分子量約 14,000, isoelectric focusing により等電点 pH 4.0 をもつ低分子量の酸性蛋白質である。

4. TCaBP はアルカリゲル上で $^{45}\text{Ca}^{2+}$ と結合した。

5. TCaBP の 2価イオンによってひきおこされる電気泳動の移動度の差は、 Ca^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Sr^{2+} , Mn^{2+} の順に小さくなり、 Ba^{2+} , Ni^{2+} , Mg^{2+} では移動度の差はほとんどみとめられなかった。したがって TCaBP は Ca^{2+} や Cd^{2+} などに特異的な結合性をもっていると思われる。

6. TCaBP はアルカリゲルにおいて Ca^{2+} 存在下の条件でウサギ骨格筋トロポニンCと同様にトロポニンIと結合して複合体を形成した。また lysozyme(pI 11.0)のような塩基性蛋白質とも Ca^{2+} 存在下の条件で結合できる。

7. Native に単離した TCaBP に対する抗血清をウサギで得た。この抗血清はテトラヒメナのさまざまな抽

出液(尿素抽出液, KCl 抽出液, 細胞のホモジェネート, SDS 処理試料など)と寒天内二重拡散法において反応し沈降線は1本であった。単離した繊毛とも反応した。またゾウリムシ *Paramecium caudatum* の凍結融解試料とも沈降線を形成し、テトラヒメナの尿素抽出液との沈降線と fuse した。

8. テトラヒメナの粗分画をアルカリグリセロールゲルにおいて Ca^{2+} 存在下で泳動すると、TCaBP 単独のバンドの消失が起こる(単離した TCaBP では起こらないので polymer 形成ではない)ことから粗分画中に TCaBP と Ca^{2+} 依存性の複合体を形成する相手物質が存在する可能性がある。この複合体形成は熱処理(95°C 5分)でこわれるので相手物質は熱に弱い物質であろう。また Ca^{2+} 存在下で泳動した粗分画と抗 TCaBP 血清とで免疫反応をおこなったところ複合体形成の位置がわかった。

以上のような TCaBP の性質は高等生物の筋肉・脳などにおける Ca^{2+} -dependent modulator protein とよく似ている。

TCaBP のテトラヒメナにおける生物学的機能を明らかにするため TCaBP の細胞内の存在部位、TCaBP の Ca^{2+} 調節作用に必要な相手となる物質の追求などを現在検討中である。

〔文献〕

1. L. M. Routledge, J. Cell Biol. **77**, 358 (1978)
2. J. R. Head and S. V. Perry, Biochem. J. **137**, 145 (1974)

質問 野沢 義則(岐大・医・生化)

1. Ca binding protein の細胞内局在に関して、膜結合性のものがかなりあるとお考えですか。Soluble 画分にも存在しますか。

2. 量的にはどの程度含まれていますか。

回答 鈴木 保博(筑波大・生物科学)

正確な測定はしていませんが、抽出方法からみると、Soluble 分画(cytosol)にかなりの量が含まれていると思います。また Soluble 分画をのぞいた残渣からも尿素や Triton などで抽出できますし、蛍光抗体法の局在のデータからみても膜分画にも存在するのではないかと思います。

20. テトラヒメナの DNA ポリメラーゼの性状について

酒井 明・渡辺 良雄
筑波大学生物科学系

Characterization of Tetrahymena DNA Polymerases

Akira Sakai and Yoshio Watanabe

Institute of Biological Sciences, University of Tsukuba, Ibaraki.

テトラヒメナは完全合成培地からアミノ酸を除いた培地(アミノ酸欠除培地)に移すと DNA 合成が急速に停止するという現象が知られている(1)。我々はこの現象を解析し、テトラヒメナにおける DNA 合成の調節機構を調べるではじめとして、まず DNA ポリメラーゼの精製とその性状について調べてみた。

一般に細菌類では I, II, III の(2), 哺乳類では α , β , γ の(3), 3種類の DNA ポリメラーゼが存在しており、IIIと α は複製に、Iと β は修復に関係していると考えられており、 γ はミトコンドリアのものであると考えられている。テトラヒメナでは、Crerar と Pearlman (4)によると、ミトコンドリア以外では1種類の DNA ポリメラーゼしか存在しておらず、哺乳類の β に相当するものはないと言われている。

今回、我々はテトラヒメナより2種類の、DNA ポリメラーゼを分離し、それらの性質を調べたところ、一方は Crerar と Pearlman が報告したものとよく似ており、他方は、ミトコンドリア由来と報告されたものとは異なった性質をもち、両者とも核に存在しているという結果を得た。

実験方法と結果

テトラヒメナを対数増殖期で集め、Triton X-100 で可溶化した。このとき内在性 Protease 活性を抑えるために阻害剤である TLCK を 10^{-4} M 加えた。遠心の沈殿を NaCl で抽出し、遠心の上清と Triton の上清を混ぜ、粗分画とした。粗分画を Phosphocellulose カラムにかけ、0.02~0.5M リン酸カリウムの濃度勾配で溶出し、活性のある分画を DEAE-Sephadex カラムにかけ、0.02~0.5M リン酸カリウムの濃度勾配で溶出した。活性のある分画は50%グリセロール存在下で -20°C で保存した。Phosphocellulose カラムでは2つの活性のピークがみられた。この2つのピークの溶出されるリン酸カリウム濃度はそれぞれ0.18M, 0.33Mであった。

0.18M で溶出されるポリメラーゼをポリメラーゼA (pol. A と略)、0.33M で溶出されるポリメラーゼをポリメラーゼB (pol. B と略)と仮に名づけた。

pol. A と pol. B の性質

1. pol. A と pol. B の至適 Mg^{2+} 濃度はともに15mMであった。
2. 至適 K^{+} 濃度は pol. A が20mM, pol. B が80mMであった。
3. 至適 pH は pol. A が pH 7.4, pol. B が pH 8.4 であった。pol. A の至適活性条件で pol. B は62%の活性を示したが、pol. B の至適活性条件で pol. A は1.6%の活性しか示さなかった。
4. SH 阻害剤である N-エチル-マレイミド (NEM) に対する感受性を調べてみると、50%阻害を示す NEM の濃度は pol. A が $180\mu\text{M}$, pol. B が $33\mu\text{M}$ であった。一般に β の特徴の1つである NEM 抵抗性とは10mM NEM で90%以上の活性を示すということであり、この点から言えば pol. A, pol. B ともに NEM 感受性である。
5. pol. A, pol. B の沈降係数を ρ 糖密度勾配遠心法で求めたところ、20mM リン酸カリウム緩衝液中では両者とも7Sを示した。 β のもう1つの特徴に約3.5Sの沈降係数をもつという点があるが、粗分画を ρ 糖密度勾配遠心法で分画し、DNA ポリメラーゼの活性を調べたところ、pol. A, pol. B 以外のS値を示す DNA ポリメラーゼはみつからなかった。
6. pol. A, pol. B の DEAE-Sephadex からの溶出パターンは pol. A は0.1M リン酸カリウムで溶出される単一のピークを示し、pol. B は0.09M, 0.13M, 0.16M リン酸カリウムで溶出される3つのピークを示した。
7. Gorovsky (5)の方法により n-オクタノールで核を取り、DNA ポリメラーゼ活性を調べてみると、pol. A, pol. B 共に活性があり、両者とも核に存在していると考

えられる。

以上のようにテトラヒメナから2つの DNA ポリメラーゼを分画した。これらを従来のポリメラーゼと比較すると, pol. A は哺乳類の α とその性質がよく似ており, pol. B は沈降係数 NEM 感受性, 至適 K^+ 濃度は α に, 至適 pH, Phosphocellulose と DEAE-Sephadex からの溶出塩濃度は β と似ている。pol. B のような性質をもったポリメラーゼは他の生物からはまだみつかっていない。また, テトラヒメナの核に2種類のポリメラーゼが存在するらしいという可能性をはじめて示すことが

できた。

[文献]

1. Watanabe, Y. *Exptl. Cell Res.* **81**, 8 (1973)
2. Kornberg, A. *DNA Synthesis* (W.H. Freeman and Company) 127 (1974)
3. Weissbach, A. *Cell* **5**, 101 (1975)
4. Crerar, M. and Pearlman, R.E. *J. Biol. Chem.* **249**, 3123 (1974)
5. Gorovsky, M.H. *J. Cell Biol.* **47**, 619 (1970)

21. テトラヒメナ膜脂質の環境適応

葛西 令子・関谷 孝・福島 弘文・野沢 義則
岐阜大学医学部生化学教室

Environmental Adaptation of Membrane Lipids in Tetrahymena

Reiko Kasai, Takashi Sekiya, Hirobumi Fukushima, Yoshinori Nozawa
Department of Biochemistry, Gifu University School of Medicine, Gifu

生育温度の変化に対応して, テトラヒメナ細胞の膜脂質構成が著しく変化することは他の微生物細胞の場合と類似している。温度適応の分子機構を明らかにする目的のために耐高温株である *Tetrahymena pyriformis* NT-I 株を用いて一連の実験を行ってきた。この細胞は生育可能温度領域が広く, 温度適応の実験には好都合である。すなわち, 高温 (39.5°C) 下で培養した細胞を 15°C に温度降下した時の膜脂質の変動と膜状態を経時的に観察し, その適応機構の解明を試みた。テトラヒメナ細胞は, その生育温度の変化 (39.5→15°C) により“やわらかい”膜状態から“かたい”膜状態に変化することをフリーズ・フラクチャー電顕像で観察した。高温 (39.5°C 培養) 細胞の外側 alveole 膜の PF 面において膜粒子が均一に分布しているのに対して温度降下を施した直後の細胞では膜粒子の凝集が誘起される。この現象は膜に相分離が起こっていることを示し, 膜の大部分が“かたい (lessfluid)”状態に変わったことを示唆している。しかしながら, この膜状態の変化は温度降下後徐々に解消され, シフト後約10時間ではほぼ均一な膜粒子の分布状態に復元することが観察され, 膜流動性の修正が

なされたことを示す。ところで, この膜粒子の分布変動を定量的に表わす1つの方法として, 我々は Particle Density Index (PDI) 法を用いたが, これは次の式より求められる。

$$PDI (\%) = (x-a)/(b-a) \times 100$$

x は測定温度において観察される alveole 膜の粒子密度を示し, a は正常均一分布状態における粒子密度, b は最大粒子密度である。

つぎに, 温度降下を施した時の膜脂質の変化を経時的にしらべたところ, リン脂質構成は温度シフト (39.5→15°C) 後10時間までは著しい変化は見られないが, 膜状態がシフト前のものにまで回復して, 再び細胞分裂が始まる10時間以後において著しい変動を示す。それに対して膜リン脂質のアシル鎖においてはシフト後直ちに適応傾向が見られた。すなわち, 初期適応を司るパルミチン酸 (C 16:0) 不飽和化反応の促進によるパルミトオレイン酸 (C 16:1) の増加である。この反応の調節が, 如何なるメカニズムによってなされているかを知るために, ^{14}C -パルミチン酸ラベルを用いて不飽和化反応を測定した。 ^{14}C 16:0→ ^{14}C 16:1 の活性は温度降下直後

高温細胞の2倍以上になっておりシフト後2時間で最高値に達する。一方、この不飽和化反応を司る酵素のパルミトイル CoA 不飽和化酵素はミクロゾームに局在していることをすでに明らかにしているので、シフト後にミクロゾームを分離して *in vitro* 系でのパルミトイル CoA 不飽和化酵素の活性測定を行なったところ、*in vivo* と同様にシフト直後で約3倍の活性上昇がみられ、さらに2時間で最高値を示した。

かつて、演者らはこの活性上昇には、膜の動的構造(流動性)の変動が重要な因子として作用するという作業仮説を提案してきた。つまり温度降下に伴って起こる膜の流動性の低下が、膜結合酵素である脂肪酸不飽和化酵素の活性に影響を及ぼすと考えたのである。しかしながら、もし膜の状態が直接的にこの酵素活性に影響をもたらすとすれば、最も膜流動性が低下している時、すなわち温度降下直後において最大不飽和化活性を示すはずである。ところが、実際にはシフト後2時間で最大活性を示す。そこで、タンパク合成阻害剤であるシクロヘキシミドを添加した後に、温度降下を行なうと、対照細胞でみられたようなパルミトイル CoA 不飽和化酵素の活性上昇は認められなかった。つまり、このことは温度降下を施した時に生じる不飽和化酵素の活性上昇が酵素の質的変動ではなく、量的な増加を示唆するものである。また膜脂質を種々の方法で修飾し、異なった膜流動

性を有する細胞に温度降下を施すとこれらに対応した不飽和化反応の活性変化が認められた。これらのことから、テトラヒメナ細胞の初期適応を司るパルミトイル CoA 不飽和化酵素の活性上昇は、膜流動性の低下が直接に作用しているのではなく、何らかの機構によってこの酵素の合成促進を惹起されることによるものと考えられる。つまり、質的調節というよりむしろ量的調節が作用していることが推察される。

質問 北村 昭夫(東北大・理・生物)

温度のソフトダウンに対する後期適応で phospholipid の増加が膜をやわらかい状態にさせていると考えてよろしいのでしょうか。

回答 野沢 義則(岐阜大・医・生化)

確定的な証拠はまだ得ていませんが、アシル鎖の変動に加えて極性基も関与していると思っております。目下人工膜で検討中です。

質問 保田 友義(国立予研)

フリーズフラクチャーでお示しになった膜顆粒は、alveolar membrane の顆粒であるという御説明がありました。alveolar membrane のどちら側の膜でしょうか。

回答 野沢 義則(岐阜大・医・生化)

Outer alveolar 膜です。

22. 赤血球の分化と *Toxoplasma gondii* の侵入性との相関

田辺 和裕・木俣 勲・高田 季久

大阪市立大学医学部医動物学教室

古沢 満

大阪市立大学理学部発生生物学教室

Penetration of Toxoplasma gondii into Erythroid Differentiating Cells in vitro

Kazuyuki Tanabe, Isao Kimata and Suehisa Takada

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

Mitsuru Furusawa

Department of Biology, Osaka City University

細胞内寄生原虫 *Toxoplasma gondii* は多種類の細胞に侵入、増殖して *Toxoplasma* 症を引き起こすが、その宿主細胞侵入機構は明らかでない。しかし、唯一の例

外として哺乳類の赤血球には侵入しないことが知られている。この事実は、*Toxoplasma* の宿主細胞侵入機構を知る上で重要であるように思える。つまり、赤血球膜上

に *Toxoplasma* の侵入を阻止する物質が存在するのか、または多くの細胞膜上には存在して赤血球膜にはない *Toxoplasma* の受容体があるのか、という問題を提起しているのではないかと思える。そこで、本研究では、*Toxoplasma* が赤血球への分化の途中のどの段階の赤血球系細胞（前・後赤芽球、網状赤血球）にまで侵入できるかを見て、*Toxoplasma* の赤血球非侵入性に関する上述の物質の基礎を推測してみる。

当然のことながら、*Toxoplasma* は細胞侵入に際して宿主細胞膜と close interactions を持つと予想される。赤血球はその膜表面あるいは膜中に特異的蛋白としてスペクトリンやグリコフォリンを保持しているので、まずはじめに、これらの赤血球膜特異的蛋白の存在が、*Toxoplasma* の赤血球非侵入性と相関するかどうかを調べてみた。そのために私達は、フレンド白血病細胞を用いた。培養フレンド細胞は、ジメチルスルフォキシドやブチル酸の存在下で、赤血球系に分化を誘導させることができ、培養3~4日目には赤血球膜特異的蛋白やヘモグロビンを合成するようになる。1.5mM ブチル酸存在、非存在下で培養されたフレンド細胞 (10^6 個)に、感染マウス腹水のセルロースパウダー濾過より得られた遊離 *Toxoplasma* tachyzoites (2×10^7 個)を加え、37°C、5% CO₂ in air で4時間インキュベートした。その後細胞のギムザ染色により、*Toxoplasma* のフレンド細胞への侵入率を見た。その結果、スペクトリンやヘモグロビンを合成して分化したフレンド細胞に原虫は侵入でき、しかも、ブチル酸処理細胞群と無処理細胞群間では、侵入率にほとんど差が認められなかった。このことは、赤血球膜特異的蛋白の細胞膜における存在は、*Toxoplasma* の赤血球への非侵入性と関係しないことを示唆しているように思える。

分化したフレンド細胞は、赤血球分化の系では後赤芽球に相当すると云われているので、次に後赤芽球以降の分化の各段階の赤血球系細胞について *Toxoplasma* の侵入性を調べてみた。そのために殆んどが造血組織、細胞で占められているマウス胎児（13~14日令）の肝より、赤血球細胞を得、*in vitro* において、*Toxoplasma* を加えたところ、多染性赤芽球、正染性赤芽球、脱核時の赤芽球、脱核後の網状赤血球のいずれにも侵入しているのが見られ、その程度も、分化に相関して低下していくのが認められた。肝内網状赤血球にも原虫が侵入してきたので、さらに成熟の進んだ網状赤血球及び赤血球を発

育各段階の胎児の末梢血から取り、*Toxoplasma* の侵入性を見たところ、14~15日令の胎児からの赤血球では高い侵入性が認められ、以後では徐々に低下していくのが認められた。しかし、出生直前の胎児（20日令）血の赤血球にも若干侵入が見られたので、さらに新生児マウスの赤血球について調べてみると、生後約10日頃までの赤血球なら程度は非常に低い侵入しているのが見られた。また、胎児・新生児マウスの末梢血赤血球のうち、*Toxoplasma* の侵入できた赤血球は多くが多染性赤血球であることもわかった。以上の結果は、*Toxoplasma* は胎児・新生児マウスの末梢赤血球にも侵入することができるが、未熟な赤血球（多染性赤血球）ほど侵入しやすく、赤血球の成熟にともない侵入でき難くなることを示している。

すでに殆んどの赤血球特異的膜蛋白は、未熟な網状赤血球の段階で合成されているので、これまでの結果は、先にフレンド細胞を使用して得られた示唆をさらに支持するとともに、未熟な赤血球の成熟にともなう、膜組成・機能の変化が *Toxoplasma* の成熟赤血球非侵入性と大きく関係していることを示していると思われる。

質問 菅野 文和（法政大・教養・生物）

Toxoplasma は赤血球に向かって積極的に動いて行くのでしょうか。

回答 田辺 和裕（阪市大・医・医動物）

今のところ evidence はありませんが、何らかの chemotaxis を示すことは十分考えられます。

質問 扇元 敬司（東北大・家畜衛生）

Toxoplasma の赤血球侵入の機作はどの様になっているとお考えでしょうか。

回答 田辺 和裕（阪市大・医・医動物）

どちらかと云えば active penetration だと考えております。赤血球には、マクロファージなどの貧食の際に働く microtubule がありませんので。

質問 中林 敏夫（阪大・微研）

赤血球中に侵入し、染色性の変った原虫は生きたものですか。

回答 田辺 和裕（阪市大・医・医動物）

侵入後、長時間たつと変形し、染色性も変るようです。この点は *Toxoplasma* の代謝機構を知る上で非常に重要な現象であるように思われます。マウスへの sub-inoculation test などをして、赤血球に侵入した原虫の生存性の検討をしてみたいと考えます。

23. *Trichomonas foetus* 初感染に対するマウス年令別抵抗性の分析

林 弘三

徳島大学教育学部保健科学教室

石川富士郎, 富吉富貴代, 岡 好万

徳島大学養護教諭養成所

尾崎 文雄

徳島大学医学部寄生虫学教室

Analysis of resistance by age groups against Trichomonas foetus primary infections in mice

Hiromi Hayashi

Department of Health Science, Faculty of Education, the University of Tokushima, Tokushima

Fujiro Ishikawa, Fukiyo Tomiyoshi and Yoshikazu Oka

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

Humio Osaki

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

Trichomonas foetus 腹腔内感染に対するマウスの免疫第一次反応が、宿主の加齢により大いに左右されることを度々経験した。ddY マウスのリンパ系組織（特に脾及び腸間膜リンパ節）の体重に対する割合が一定状態に達するのは生後25日前後であることから、免疫応答能力を有する若令マウスを実験に用いる場合、原虫に対する抵抗性の年令的差異の由来を分析しておく必要がある。このため、次の二つの要因を想定して、30~50日令マウスでの初感染に対する抵抗性を測定した。すなわち、1) 非特異的の抵抗性を含めて、抵抗能が感染防御機能の成熟度に関連するか、2) 感染防御に関与する細胞等の供給能力（体重で表示）に関連しているか。

（材料と方法）体重のそろった ddY (strain cross) 雌マウスを使用した。すなわち、それぞれ 19.2 ± 0.5 , 21.9 ± 0.5 及び 23.9 ± 0.4 g の 30, 40 及び 50 日令マウスをそれぞれ 5 群に分けた。対数増殖中期の *T. foetus* Inui 株を遠心集虫し、 $8.0 \times 10^6 \sim 2.5 \times 10^7$ cells/mouse の範囲で各令ごと 5 段階の量を腹腔内に投与し、30日間生体の経過を観察した。

（成績）30日令では、 8.0×10^6 , 1.0×10^7 , 1.3×10^7 , 1.6×10^7 及び 2.0×10^7 /mouse の *T. foetus* 攻撃に対してそれぞれ 72.5, 40.0, 10.0, 0 及び 10.0% 生存し、30日令の LD₅₀ は約 9.3×10^6 /mouse であった。40日令で

は、 9.0×10^6 , 1.15×10^7 , 1.50×10^7 , 1.84×10^7 及び 2.3×10^7 /mouse の攻撃に対してそれぞれ 80.0, 40.0, 9.1, 0 及び 10.0% 生存し、LD₅₀ は約 1.09×10^7 /mouse となった。 1.00×10^7 , 1.25×10^7 , 1.63×10^7 , 2.00×10^7 及び 2.50×10^7 /mouse の攻撃を施した50日令での生存率はそれぞれ 70, 50, 0, 0 及び 0%, LD₅₀ は約 1.25×10^7 /mouse であった。

以上のマウスにおける *T. foetus* 腹腔内初感染に対する抵抗性は、見掛け上加齢とともに増強している。しかし、攻撃原虫数をマウスの体重当たりに換算してそれぞれの年令の生存率を比較すると、いずれも全く同じ pattern を示し、LD₅₀ も約 $(5.0 \pm 0.2) \times 10^6$ /body weight(g) の範囲に収まった。若い成熟マウスにおけるこれらの結果は、体重の増加に比例して原虫排除能力が増すことを示しており、nude マウス等に見られる macrophage の機能増強よりも、むしろ原虫除去担当細胞等の量的供給能力が増大することを示唆している。更に、32日令以後の腹腔内細胞数が加齢とともに増加の傾向にあること、及び一定量以上の感染原虫の非特異的の排除には macrophage を不可欠とする実験結果と併せ考察し、30~50日令の若い成熟マウスでは、特に腹腔内に動員し得る macrophage 数の増加が抵抗性増強につながっており、しかも macrophage 量は体重に比例して増大して

いることが推測された。また、各群の死亡マウスの平均生存日数は、15群中1群を除き年令、攻撃量にたいして関係なく5～8日であった。このことは、マウス腹腔内で主に macrophage 量による原虫除去能力を越えた感染の場合は、もはや一時的な原虫増殖を阻止し得ず、マウス体力の消耗とともに死を来すことを想像させる。

(結論) 既に免疫応答能の備わった30, 40及び50日令の若い成熟マウスで *T. foetus* 初感染に対する抵抗能を比較した。その結果、この年令域では、体重に比例して抵抗性が増強し、LD₅₀ は $(5.0 \pm 0.2) \times 10^5$ /body weight(g) であった。macrophage が非特異的抵抗性による原虫排除の主役を演じる既報の結果と併せ考え、今回の結果は、感染局所(腹腔)への macrophage の動員能力が加令による体重増加に比例して増大することを示唆している。

質問 田辺 将信(慶応大・医・寄生虫)

体重の違いによる *Trichomonas foetus* に対する抵抗

性の差をマクロファージの数あるいは機能によってのみ説明するのは困難ではないでしょうか。

虫体接種後30日目に生死を判定していらっしゃいますが、その間に宿主の免疫反応の関与は無視できるのか。

回答 林 弘三(徳島大・教育・保健科学)

腹腔滲出細胞数が加令につれて増加する傾向にあること及び原虫排除の主要な部分をマクロファージが持っている以前の観察から見て、第一義的にはマクロファージの動員数に関係があると思われまふ。今回の実験ではマクロファージの貧食能に変化が起ったとは思われませぬ。

宿主の感染死は感染後4～8日で生じることが多いが、マウスの生死は感染後1日以内にほぼ決まっていると考えられるので免疫反応の関与はあまり考えないでよいと思う。なぜなら、*T. foetus* の病原性の低いことと関連して、感染直後の原虫数が短期間にあるレベル以上にならなければ宿主を死に導けない。

24. *Trypanosoma gambiense filopodia* の抗原性及びその特性

古谷 正人, 岡 三希生, 伊藤 義博, 岡 好万, 尾崎 文雄
徳島大学医学部寄生虫学教室

Immunogenicity and property of filopodia prepared from Trypanosoma gambiense-infected mouse blood

Masato Furuya, Mikio Oka, Yoshihiro Ito, Yoshikazu Oka and Humio Osaki
Department of Parasitology, School of Medicine, the University of Tokushima

Trypanosoma brucei 感染ラット血清中に可溶性抗原物質(exoantigen)の存在が報告(Weitz, 1960)されて以来、多数の研究者によって各種トリパノソーマ原虫に感染した動物の血清又は血漿中に同様の抗原物質の存在が確認されている。しかしながら、その産生機序及び特性に関してはまだ意見の一致を見ていない。今回は *Trypanosoma gambiense* 感染マウス血漿中に存在する抗原物質の抗原性及び特性について検討し、exoantigenとした。IMP 抗原でマウスに付与された防御能は、分画抗原のうち IMP-1 単独又は FCA 存在下免疫法でマウスに再現できたが、IMP-2 及び IMP-3 抗原は全く無力で、延命効果すら認められなかった。また IMP-1 抗原を分画して得た IMP-1s と IMP-1p のうち後者に

IMP-1 同様の抗原活性が存在することが判明した。

マウスから作製した抗 IMP 血清と IMP 及び IMP 分画抗原との間でゲル内沈降反応を行った結果、抗 IMP 血清と IMP 及び IMP-3 抗原並びに原虫細胞ホモジネートから分画した 144,000×g 上清画分との間に完全に融合する1本の沈降線が形成された。一方、IMP-1 又は IMP-2 抗原との間には沈降線は形成されなかった。なお、IMP-1 抗原で抗 IMP 血清を吸収した血清を用いると、IMP, IMP-3 共に沈降線を形成しなかった。以上から、感染マウス血漿中に存在する IMP 抗原には、宿主に防御能を付与し得る不溶性成分(IMP-1)と、防御能は付与し得ないが前者と同一の抗原物質を含む可溶性成分(IMP-3)とが含まれているこの関係も追求し

た。

T. gambiense (Wellcome 株) 感染 ddY 系マウスの血液を、血中の原虫数が最高に達した時点でヘパリン加 0.01 M phosphate buffered saline-glucose (pH 8.0) 中に集めた。DEAE-Sephadex A-25 カラムで血球成分を除去した後、1,500×g 10分間の遠心で原虫を除き、その上清を 16,000×g 20分間遠心して得た血漿成分を粗抗原 (IMP) とした。これを Sephadex G-200 カラムで 3 画分 (IMP-1, IMP-2, 及び IMP-3) に分け、144,000×g 90分間の遠心で IMP-1 を更に沈渣 (IMP-1p) と上清 (IMP-1s) に分けた。

これらの抗原を単独又は Freund's complete (FCA) あるいは incomplete adjuvant (FIA) と共にマウスの腹腔に接種し、一定期間後に原虫攻撃を行い抗原性を検討した。その結果、FCA 加 IMP 抗原で免疫したマウスは免疫後14日目までの原虫攻撃 (3×10^3 個) に対して著しい抵抗性を示した。この抵抗性は免疫後21日目と30日目の攻撃に対してはやや低下するが、死亡マウスの平均生存日数は未処置マウスの場合の約 2 倍に延びていた

ことが示唆された。

また、感染マウス血液中から DEAE-Sephadex A-25 カラムで分離した原虫並びに IMP-1 及び IMP-1p を電子顕微鏡レベルで詳細に検討した結果、分離直後の原虫体表からは filopodia が長く延びており、この原虫を生理的培地中で長時間放置すると培地中に filopodia 由来の断片が多数含まれるようになることが判明した。更にネガティブ染色標本で IMP-1 に多数の膜様構造物質を、また IMP-1p の切片標本で filopodia 由来と考えられる構造物質をそれぞれ確認した。

以上の結果を総合すると、*T. gambiense* 感染マウス血漿中に存在する抗原物質には原虫の filopodia に由来する不溶性の断片と、何らかの条件でこれらが可溶化した成分とが存在し、後者が Weitz らによる exoantigen に相当するものと考えられる。この可溶性物質の理化学特性は、沈降定数 4.7S, 等電点 5.8 であり、Allsopp や Cross らの報告している surface coat 抗原物質の特性に類似していた。

25. *Trypanosoma gambiense* の microtubules 形成におよぼす vinblastine, colchicine および concanavalin A の効果に関する電子顕微鏡的観察

小野 忠相, 中林 敏夫

大阪大学微生物病研究所原虫学部門

Electron microscopic observations on the effect of vinblastine, colchicine and concanavalin A on microtubules of Trypanosoma gambiense

Tadasuke Ono and Toshio Nakabayashi

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

1. 目的: microtubules (微小管) は直径が18~36nmの管状構造物であるが、その動きは細胞の分裂、運動、形態の維持、刺激の伝達および物質の移動など多方面にわたっており、また最近では細胞の DNA 合成開始機構にも重要な役割を演じていることが確かめられている。先に我々はトリパノソーマ原虫に抗腫瘍性物質 neocarzinostatin を作用させるとこの薬剤はトリパノソーマ原虫にみられる microtubules, すなわち Pellicular micro-

tubules (P-mt), axonemal microtubules (A-mt), spindle microtubules のいずれに対しても配列異常及び形態的变化をおこすこと、また無核原虫を誘発すること、などを見出した。この場合、無核原虫はこの薬剤の微小管に対する作用の結果として誘発されている可能性が考えられる。そこでこの実験では各種の動物細胞で微小管に作用することが知られている vinblastine, colchicine および concanavalin A を用いて、トリパノソーマの微小

管に対して変化をおこすかどうか、無核原虫が誘発されるかどうか、などを調べた。

2. 材料と方法：用いた原虫は *Trypanosoma gambiense* wellcome 株であり、マウスを用いて継代が続けられてきた原虫であるが、本実験では12.5% calf serum MEM 液を用いて37°Cで培養し、*in vitro*で薬剤を作用させ、その後、種々な時間に原虫を固定し、薬剤の効果を光学顕微鏡および電子顕微鏡で観察した。なお、一部の実験では *in vitro*で薬剤を作用させた後、これをマウスに接種し、一定時間後、マウスから原虫をとり、電顕標本としたものもある。用いた薬剤の濃度は vinblastine 10~20 μ g/ml, colchicine 100 μ g/ml, concanavalin A 10~20 μ g/ml である。

3. 結果：vinblastine を作用させた後、原虫の細胞質内、遊離鞭毛の先端部などで Paracrystals が形成され、また axoneme が虫体内部で多くみられるようになった。この場合、axoneme は Paraxial rod を伴ったもの、伴わないもの、の両者がみられたが、Paraxial rod のみの形成もみられた。Paraxial rod は microtubules と同様、Protofilaments からなると言われているが、この organella は薬剤を作用させない原虫では遊離鞭毛にのみ観察されるものである。Paracrystals の形成と共に、これらの所見は vinblastine を作用させた原虫では tubulin が増加することを示している。colchicine を作用させた原虫では細胞質膜が部分的に伸長し、そのため出芽のように原虫の一部が突出し、これには核や P-mt が含まれず、ribosome のみがみられた。また遊離鞭毛内では Paraxial rod に由来すると思われる大量の am-

orphous な物質の出現のために、鞭毛が通常の3~4倍も太くなっている像がみられた。また P-mt が障害を受け、部分的に消失した原虫がみられた。concanavalin A を作用させた原虫では P-mt の増加がみられ、これは surface membrane の下に多層になって見出された。また遊離鞭毛では A-mt の排列異常がみられ、このような変化は vinblastine を作用させた原虫においても認められた。なお上記の3種類の薬剤のいずれを用いた場合でも、光学顕微鏡によって観察すると核分裂の異常により無核原虫が誘発されることがわかった。

質問 丸山 正(都立大・理・生物)

鞭毛構造にかなりの変化が見られますが、その運動はどのように変化しましたか。

回答 小野 忠相(阪大・微研・原虫)

全ての原虫の鞭毛構造に変化がみられたわけではありませんので、鞭毛構造に変化のみられた原虫における運動の変化についてはよくわかりません。

質問 重中 義信(広島大・総科・情報)

大変に興味ある幾つかの問題を提起されましたが、その中で con A についてお尋ねします。この場合、培養細胞でみられているような cap formation あるいは patching が観察されますか。また、形質膜の突起は局所的にできますか。

回答 小野 忠相(阪大・微研・原虫)

con A を作用させた後、cap formation あるいは patching については観察しておりません。colchicine を作用させた原虫では形質膜が部分的に伸長し、そのため原虫の一部が突出します。

26. ニワトリマラリア, *Plasmodium gallinaceum*, 赤外型の組織培養の試み

中林 敏夫, 井元 孝章, 石嶺 毅
大阪大学微生物病研究所原虫学部門

Attempt of tissue culture of exoerythrocytic forms in Plasmodium gallinaceum

Toshio Nakabayashi, Takaakira Inomoto and Tsuyoshi Ishimine

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

鳥類マラリアの赤外型は、哺乳動物マラリア赤外型と違って、諸臓器中の網状内皮系の細胞内に侵入し増殖す

る。しかも、赤血球型から赤外型への移行があることから、感染動物から赤外型を検出することは比較的容易で

ある。現在まで、哺乳動物マラリア赤外型の *in vitro* culture については報告に接しない。しかし、鳥マラリアである *P. lophurae*, *P. fallax* の赤外型についての組織培養はすでに Huff, Beaudoin 等によって試みられている。この研究は、*P. gallinaceum* に感染した鶏胎児肝臓中の赤外型の組織培養を試みたものである。

材料とした赤外型を多数に含有する感染鶏胎児肝臓は次のようにして準備した。*Aedes aegypti* によりスポロゾイト感染を受けた幼若鶏を10~15日後に屠殺、その肝臓を摘出し、その一部をスタンプ標本として赤外型の検査に当てる。赤外型を含む肝臓の小細片を、あらかじめ用意した7~10日発育鶏卵に漿尿膜上接種を行った。接種後10日前後に解卵し、肝臓中の赤外型の多少を検査し、可及的赤外型の多い肝臓を組織培養に当てる。

鋭利な刃物で細切した肝片をさらに25ゲージの注射針を数回通し分散細胞を得、これを培地液中に浮遊させ、カバーグラスを入れた小型シャーレ中に分注し、5% CO₂~95% Air, 37~38°C に培養した。培地は、イーグル MEM, TC-199, またはこの両者の等量混合液 (pH 7.4) に、コウシ血清 (10%) を加えたものである。液交換は培養翌日、以後は原則として隔日に行った。細胞および赤外型増殖の有無を知るために、培養後毎日、カバーグラスを取り出し、ギムザ染色標本として検鏡した。

増殖が認められる培養細胞は、第5日目頃までは、細長く伸びた比較的細胞質の明るい線維芽細胞様の細胞とともに、多角状を呈し互に接着し合った上皮性細胞様のものが認められたが、その後は主として線維芽細胞様の細胞によって占められた。赤外型は、これら両細胞内に検出された。

培養第3日目までは、比較的小さい赤外型が多かったが、これは増殖初期のものと思われた、第5日には多数

のメロゾイトを含有する大型の赤外型が検出されるが、それらの中にメロゾイトが赤外型外縁に接して配列したものと幾つかの環状に配列したと思われる像が見出された。同様のメロゾイト配列は Huff らによっても認められ、メロゾイトが遊離する直前の像と解している。また、古く James および Tate が cytomeres と呼称したものに相当すると思われる。この像がメロゾイトの遊離直前のものとするならば、この培養環境下における赤外型は約5日間で発育環を繰返すものと理解される。第8日には比較的幼若赤外型が多く、以後最長20日目までにわたって赤外型が検出された。この時期の宿主細胞はほとんどが線維芽細胞様の細胞で、変性あるいは異常な像を示すものが多かった。

以上の成績を総合すると、*P. gallinaceum* 赤外型感染鶏胎児肝臓の初代培養において、赤外型は最長20日間にわたり宿主細胞内で発育増殖することを認めた。また、培養5日目には成熟赤外型と思われる像を見ることから、この組織培養下では約5日間の発育環を持つものと推定された。宿主細胞としては主として線維芽細胞様の細胞が認められたが、その同定については明らかでない。継代培養は不成功に終始したが今後さらに検討したい。

質問 扇元 敬司 (東北大・家畜衛生)

培養した宿主細胞の変化は如何でしょうか、とくに侵入部位の変化について御教示下さい。

回答 中林 敏夫 (阪大・微研)

原虫感染のいかんにかかわらず、宿主細胞には培養日数とともに変性過程が見られます。原虫感染を受けた細胞では、一般に染色性が悪くなり、細胞質内に顆粒出現や空胞形成、細胞輪郭の不鮮明など、変性、崩壊の変化が認められます。したがって、宿主細胞の増殖を維持することに、まだ検討すべき点が多いと考えています。

第1回大会以来の開催地及び大会長

	開催地	開催年度	大会長			
第1回	小平市	昭和42年	藤田壽吉	第7回	奈良市	昭和48年 稲葉文枝
第2回	吹田市	昭和43年	猪木正三	第8回	東京都	昭和49年 石井圭一
第3回	広島市	昭和44年	尾崎佳正	第9回	大阪市	昭和50年 高田季久
第4回	東京都	昭和45年	松林久吉	第10回	東京都	昭和51年 盛下 勇
第5回	徳島市	昭和46年	尾崎文雄	第11回	岐阜市	昭和52年 野沢義則
第6回	仙台市	昭和47年	樋渡宏一	第12回	横浜市	昭和53年 斎藤 実

ニ ュ ー ス

原生動物学国際委員会の報告

猪 木 正 三

1978年8月27, 28日の両日, ポーランドの首都ワルシャワ市において原生動物学国際委員会 (International Commission of Protozoology) が開催され, 私が日本の学会を代表し出席しましたので, ここにその概要を報告させていただきます。

今回の委員会は同じワルシャワ市で開催された第4回国際寄生虫学会に引続いて行われましたので, 私にとっては好都合でした。委員会の初日は Nencki Institute of Experimental Biology において, 2日目は Palace of Tabtonna (昔の宮殿) に会場を移し, 1981年の第6回国際原生動物学会に関する諸般の問題が真剣に検討されました。

同委員会への出席者, 欠席者は下記の通りであった。

出席者:

1. J. Jadin (ベルギー)
2. J. R. Nilsson (デンマーク)
3. T. Crippa Franceschi (イタリー)
4. S. Dryl (ポーランド)
5. J. Lom (チェコスロバキア)
6. P. C. C. Garnham (英国)
7. B. M. Honigberg (米国)
8. S. Inoki (日本)
9. S. L. Kazubski (ポーランド)
10. L. Kuznicki (ポーランド)

11. J. J. Lee (米国)

12. Dan T. Spira (イスラエル)

初日だけ出席し, 2日目は2名の代理 (H. Weissberger と J. Golemzer) が出席した。

欠席者:

1. P. Grasse (フランス)
2. K. G. Grell (西独)
3. B. A. Newton (英国)
4. G. Poljansky (ソ連)
5. P. de Puyterac (フランス)
6. I. B. Raikov (ソ連)
7. B. H. Seshachar (インド)
8. Juri H. Teras (ソ連)
9. W. Trager (米国)
10. Emile Vivier (フランス)

委員会では, まず Dr. Dryl (第6回国際原生動物学会会長予定者) と Secretary の J. J. Lee (原生動物誌, 第11巻, 48頁, 1978年参照) が歓迎の挨拶を述べ, 直ちに議事に入りました。審議, 報告事項は次の通りであります。

1) 最初, 原生動物命名委員会 (委員長 R. S. Melville) からの答申書が配布されました (命名委員会については原生動物誌, 第11巻, 48頁, 1978年を参照のこと)。こ

の答申書をご覧になりたい方は事務所まで連絡下さい。

2) 第6回国際原生動物学会(1981年7月, ポーランドのワルシャワ市で開催予定)の組織委員名簿が Dr. Dryl から次のように発表されました。

President : Dr. S. Dryl

Nencki Institute/Warsaw/

Vice President and Chairman of

Scientific Session :

Dr. L. Kuźnicki

Nencki Institute/Warsaw/

Vice-President :

Dr. A. Czapiak

Jagiellonian University/Cracow/

Dr. A. Grebecki

Nencki Institute/Warsaw/

Dr. M. Jerka-Dziadosz

Nencki Institute/Warsaw/

Dr. W. Kasprzak

Medical Academy/Poznań/

Secretary General :

Dr. S. L. Kazubski

Research Center of

Parasitology/Warsaw/

Assistant Secretary General :

Dr. H. Rebandel

Medical Academy/Warsaw/

Dr. E. Wyroba

Nencki Institute/Warsaw/

Treasurer : Dr. B. Skoczylas

Nencki Institute/Warsaw/

Assistant Treasurer :

Dr. I. Wita

Research Center of

Parasitology/Warsaw/

Editors of Proceedings :

Dr. S. Dryl

Dr. S. L. Kazubski.

Mrs. Julitta Ptoszaj

Nencki Institute/Warsaw/

3) 会場の設備に関する検討

第4回国際寄生虫学会が本委員会の始まる前日まで、ワルシャワ市の Palace of Culture and Science において開催されていたが、種々の点で準備がわるく非常に不評でした。学会の登録、ホテルの手続がスムーズにゆかず長時間を要し、また会場では暗幕の設備がなくスライド

の映写ができず、更に非公式に行う集会の設備もされていなかったなど、開会当日は大変な混雑でした。従って、同じ場所で開催される第6回国際原生動物学会には、同じ失敗を繰り返さないように十分な注意を払ってほしいと委員会から主催側に強い申し入れをしました。Dr. Drylはその重要性を認め、次期学会には手落ちのないよう準備に万全を期すと答え、この問題は一応解決しました。

4) First Circular の試案検討

Dryl 会長は第6回国際原生動物学会の First circular の試案を示し、少しの修正を加えて承認されました (First circular は次の頁に掲載)。

5) 学会プログラムの検討

組織委員会を代表して Kazubski は次の国際原生動物学会のプログラムの試案を示し検討を求めたところ、Garnham (英国) が立って新しいものを検討する前に過去の学会のプログラムを再検討しようではないかと提案し、その案が採択されました。まず、過去2回の本学会をみると、そこで行われた Workshop は期待したほどうまくいっていないというのが一致した委員の意見でした。すなわち、Workshop では若い者の発表がむずかしい。また大多数の出席者の名がプログラムに掲載されないため、政府、大学、研究所といった公的機関からの旅費の獲得が困難になるという欠点が指摘された。

以上のように、プログラムについては数時間にわたる活発な討議が行われ、結局下記のような結論に到達しました。

a) 他の学会でよく行われているような Round table や Workshop はやめ、少数のシンポジウムと招待講演に止める。

b) 一般講演は Contributed paper session と Poster session の2つに分け、参加者はこの両 session のいずれか1つに1題の出題発表が許されるようにする。

c) 学会の抄録には新しい分類を使用してはいけない。

d) Poster session では、指定された時間内は自分の Poster の展示場所に居なければならないが、それ以外の時間は自由とし、他の Poster を見に行けるようにする。

e) 各招待講演は30分間とし、それぞれの主題について過去4年間のハイライトと最近の進歩が報告されることになる。申すまでもなく、これらの講演要旨は本学会の Proceedings に掲載される。発表者はむりにむずかしい英語で話す必要がなく自分が最も流暢に話せる言葉を使用すればよい。招待講演は8題としその内1題は「ポーランドの原生動物学史」と題する講演に当てる。他の7題の招待講演の内5題は学会初日に行い、同日これに

引続いて Poster session を行う。なお残りの 2 題の招待講演は後日、1 日 1 題の割で消化する。

f) 各 Session の座長、副座長は語学の能力や地理的分布 (WHO 方式) を考慮した委員の意見を入れて選択決定する。

g) 会期は 7 日間とし、学会中間の 1 日を公式発表のない日とし、社交活動 (例えばパーティー、学術集会など) に当てる。

h) 組織委員会の活動日程が下記のように発表された。

- 27~28 August, 1978—Meeting of the International Commission of Protozoology (ここに報告した会議)
- End of September, 1978—Sending a short Announcement about Congress to International journals
- End of 1978—Printing of the 1st Announcement
- January, 1979—Distribution of printed 1st Announcement to protozoological societies and to some other institutions all over the world
- March, 1979—Initial suggestions about the chairmen of C. P. S. by the International Committee members
- May, 1979—List of chairmen of S. P. S. to be sent to Commission members must return comments by October 1, 1979
- October, 1979—Invitations to chairmen and invited speakers
- 1 March, 1980—Dead line for preliminary registration
- March, 1980—Distribution of the 2nd Announcement with all basic data about program and organization of the Congress
- 1 December, 1980—Dead line of sending abstracts
- January, 1981—Meeting of Program Committee
- February, 1981—Printing of pre-Congress volume and of detailed programme to those who paid fee

i) 学会費について

Dr. Dryl は registration fee は US \$ 120 (ニューヨークにおける第 5 回国際原生動物学会の 2 倍) にしなければならないと述べたが、あまり高いので反対者が多かった。その理由は学生や若い科学者に対する影響についての心配である。われわれ委員からは、学生や若い科

学者に対して registration fee を安くする特別な処置を考えるべきだとの意見が出された。そこで、学生はともかく「若い科学者」の定義が必要となり検討の結果、「前回の国際学会から今回の学会までの約 5 年間に Ph. D. またはそれに相応する学位を取得したもの」と定義することに意見が一致した。更に必要ならば、すべての招待参加者や本学会の委員も学会の全額を支払うべきだという意見もでた。Dr. Dryl は宿泊費を安くするため、約 200 名を収容できる学生寮を若い者に開放することが可能だと述べた。いずれにしても高い registration fee は不評だった。

以上がワルシャワ市において行われた国際原生動物学委員会の概要である。

最近、第 6 回国際原生動物学会の First circular が届いたのでここに掲載することにした。

PRELIMINARY PROGRAMME SYMPOSIA

- A. Evolution of Protozoa
- B. Scheme of classification of Protozoa
- C. Intraspecific variations and species concept in Protozoa
- D. In vitro cultivation of parasitic Protozoa
- E. Cellular membranes: structure and function
- F. Cytoplasmic organelles (e. g., mitochondria, kinetoplast, hydrogenosome, glycosome)
- G. Ultrastructural and molecular background of motility
- H. Mutualistic (symbiotic) relationships

CONTRIBUTED PAPER AND POSTER SESSIONS Section I

SYSTEMATICS AND PHYLOGENY OF PROTOZOA

1. Mastigophora
2. Sarcodina
3. Apicomplexa
4. Microspora, Haplospora, Myxospora
5. Ciliophora

Section II

GENETICS AND MORPHOGENESIS

1. Organization of chromatin and genes
2. Expression of genetic information

3. Cell interaction and sexual phenomena
4. Regulation of phenotypic changes
5. Protozoan development, control of morphogenesis

Section III

DEVELOPMENT AND LIFE CYCLES

1. Mastigophora
2. Sarcodina
3. Apicomplexa
4. Microspora, Haplospora, Myxospora
5. Ciliophora
6. Immunological effects on life cycles
7. Free-living Protozoa with a pathogenic potential

Section IV

PHYSIOLOGY, BIOCHEMISTRY AND IMMUNOLOGY

1. Respiration and bioenergetics
2. Nutrition
3. Metabolism and its regulation
4. Cellular membranes : structure and function
5. Antigenic analysis and immunogenicity
6. Mechanism of action of external agents and drugs

Section V

MOTILITY AND BEHAVIOUR

1. Membraneous mechanisms for the perception of stimuli

2. Amoeboid movement and cytoplasmic contractility
3. Cilia, flagella, other motory organelles and mitotic apparatus
4. Locomotion : taxes and behaviour

Section VI

ECOLOGY OF FREE-LIVING AND PARASITIC PROTOZOA

1. Stressed ecosystems
2. Ecology of free-living Protozoa
 - a. Fresh water
 - b. Marine
3. Host-parasite interactions with environment
 - a. General host-parasite relationships
 - b. Zoonoses
 - c. Mutualistic (symbiotic) relationships

出席希望者または学会情報を得たい方は Request for second circular の用紙に必要事項を書き込み、下記の処へ早急に送って下さい。切は1980年3月1日です。

送り先 : Dr. Stanitaw L. Kazubski Secretary
General
VI International Congress of
Protozoology
Nencki Institute of Experimental
Biology
3, Pasteur Str., 02-093 Warsaw
POLAND

トリコモナス研究会記事

昭和53年度トリコモナス研究会は、大阪市立母子センター山田文夫博士のお世話で、次のような会合がもたれた。

日時：昭和53年11月25日（土）14：00～18：00

場所：大阪市，国鉄大阪駅前第一生命ビル12階好文クラブ

演題：

- | | | |
|---|-----------------|------------|
| 1. 家庭用ビデオで自家療法を長く行われていたトリコモナス膣炎 | 大阪市立母子センター | 山田文夫 |
| 2. 夫にトリコモナス連続陽性で妻に検出陰性の意味 | 社会保険神戸中央病院 産婦人科 | 青河寛次 |
| 3. 男性器への膣トリコモナス感染実験 | 東海大学医学部 泌尿器科 | 河村信夫 |
| 4. <i>T. vaginalis</i> に関する2, 3の興味ある所見とその考察 | 奈良医大 寄生虫 | 猪木正三 |
| 5. 実験トリコモナス症におけるマクロファージ及び
好中球の役割と細胞傷害性リンパ球 (Killer cell) の存在 | 徳島大学 教育学部 | 林弘三
岡好万 |
| 6. トリコモナス培地の現状 | 日水製薬 | 加藤良一 |

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3,000円を前納するものとし、会の主催する各種の会合に参加し、幹事を互選し、会誌に投稿し、会誌の無料配布をうけることができる。賛助会員は本会の主旨に賛同し、会の維持発展のため1口10,000円以上を納入するものとし、会誌の無料配布をうけることができる。名誉会員は幹事会の推薦により総会において決定する。

第5条 本会運営のため、会長1名、幹事及び監事それぞれ若干名をおく。幹事は会員の互選により、監事は幹事会の議を経て幹事以外の会員から会長が依嘱し、会長は幹事の選挙によって決定する。

会長、幹事及び監事の任期は3年とし、会長及び幹事は重任を妨げない。

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。監事は会計を監査する。

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12巻、第1号が完了しました。本号も例年通り第12回大会記事特集の収録のみになりました。諸物価高騰のため雑誌発行も次第に難しくなってきましたが、関係者、とくに直接その涉に当られる小野忠相委員のご努力によって、本号をお届けできることになりました。その労を深く感謝致したいと存じます。

本号にはニュースとして、昭和53年8月27、28の両日、ワルンワで開催された原生動物学会国際委員会の報告が猪木正三博士により詳報され、また、昭和53年度トリコモナス研究会（大阪市立母子センター、11月25日）の演題内容が紹介されました。なお、来年10月28、29、30日に国立京都国際会館において、第3回日独原虫病シンポジウムが開催される予定であり、会員の皆様方によるご協力、ご参加を希望致します。

今後も本会事務局の運営にご協力いただくと同時に新入会員の勧誘にも御尽力下さるようお願いいたします。
(中林)

原生動物学雑誌 第12巻 第1号

The Japanese Journal of Protozoology Vol.12 No.1

昭和54年10月15日 印刷

昭和54年11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 所：前 田 印 刷 所

京都市左京区山端川岸町40 電話 (075) 711-5623

Office of the Editorial Board

c/o Department of Protozoology, Research Institute for

Microbial Diseases, Osaka University

Suita, Osaka, 565 Japan