昭和55年 9 月
September 1980

# 原生動物学雑誌

第13巻　第 1 号

# the Japanese Journal of Protozoology

Vol. 13 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13巻第1号

## 目　次

第13回日本原生動物学会大会概況
講演目次
特別講演「ゾウリムシの性と遺伝」……………………………樋渡宏一
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　尾崎文雄　小山力　角田清　高田季久
中林敏夫　樋渡宏一　藤田潯吉　盛下勇

**Commitee of the Japan Society of Protozoology**

Shozo Inoki (President)
Keizo Asami, Humio Osaki, Tsutomu Koyama, Suehisa Takada, Kiyoshi Tsunoda, Toshio Nakabayas
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)

# 日本原生動物学会大会概況

**大会長**　中林敏夫博士

**会　場**　大阪大学微生物病研究所
吹田市山田上

**会　期**　昭和54年11月21日（水），11月22日（木）

**日　程**

——第1日　11月21日（水）——

| | | |
|---|---|---|
| 14：50 | 開会 | |
| 15：00〜17：00 | 一般講演 | （1〜8） |
| 17：15 | 懇親会 | |

——第2日　11月22日（木）——

| | | |
|---|---|---|
| 9：00〜11：30 | 一般講演 | （9〜18） |
| 13：00〜13：30 | 総会 | |
| | 幹事報告 | |
| 13：30〜14：30 | 特別講演 | |
| 14：30〜17：00 | 一般講演 | （19〜28） |
| 17：05 | 閉会 | |

# 講　演　目　次

## 特　別　講　演


ゾウリムシの性と遺伝……………………………………………樋　渡　宏　一（東北大・理・生物）


## 一　般　講　演


1. シガテラ（魚類中毒）病の原因種である *Gambierdiscus toxicus* の形態的特徴
……………………………………………………………………………安　達　六　郎（三重大・水産）

2. 日本における貝毒原因の *Ganyaulax* 属出現種とその分布………安　達　六　郎（三重大・水産）

3. 太陽虫における軸足の構造と機能
…………………………重中　義信，洲崎　敏伸，豊原　　明，渡辺　定博（広島大・総科・情報）

4. 原生動物体表面にみられるフィラメント様構造
…………………………渡辺　定博，洲崎　敏伸，山岡　輝昭，重中　義信（広島大・総科・情報）

5. *Trachelomonas planktonica* var. *oblonga* Drezepolski の増殖について
……………………………………………………………………………小　国　昭　信（神戸常盤短大）

6. 海浜性殻アメーバ類の系統と分類〔そのII〕……………………鈴　木　　實（日大・法・生物）

7. 数種のシカ科動物におけるルーメン内繊毛虫の分布………今井　壮一[1]，藤田　潯吉[1]，山根　健介[1]，
田澤　義明[1]，扇元　敬司[2]（1）日獣大・寄生虫，2）東北大・農）

8. 実験小動物における寄生原虫類の感染状況調査……………小山　　力[1]，影井　　昇[1]，熊田　三由[1]，
•児玉　邦子[1]，露木　佳子[1]，深沢真由美[1]，志賀　正男[2]，黒木　俊郎[3]（1）国立予研・寄生虫，
2）青山学院高等部，3）農工大・獣医）

9. 日本産甲殻類に寄生するグレガリナについて………………星　出　一　己（山口大・教育・生物）

10. 胞子虫類（*Gregarina blattarum*）RNA の分子サイズ
……………………………………………………………阿部　弘和，吉本　弘之（山口大・教育・生物）

11. ディディニウムの選択的食性と走化性……………掘上　英紀，石井　圭一（法政大・教養・生物）

12. ゾウリムシにおける大核と小核の分化（II）……………………見　上　一　幸（宮教大・理教研）

13. テトラヒメナの分裂の分子機構について………………………渡　辺　良　雄（筑波大・生物科学）

14. テトラヒメナ細胞発育と *b* 型チトクローム…………………飯田　久也[1]，木村　德次[2]，工藤　修三[1]，
野沢　義則[1]（1）岐阜大・医・生化，2）Wayne State University）

15. テトラヒメナ膜脂質の低温適応：Non-growing 系における不飽和化酵素の誘導
……………………………葛西　令子，亀山　泰永，福島　弘文，野沢　義則（岐阜大・医・生化）

16. テトラヒメナ細胞におけるアデニル酸，グアニル酸シクラーゼおよびサイクリックヌクレオチド・ホスホジエステラーゼの性状……………………………………長尾　清治[1]，中沢　欽哉[2]，工藤　修三[1]，野沢　義則[1]（1）岐阜大・医・生化，2）愛知県コロニー）

17. 興奮性膜モデルとしてのテトラヒメナ細胞…………………大木　和夫[1]，野沢　義則[1]，鬼丸　洋[2]，内藤　豊[2]（1）岐阜大・医・生化，2）筑波大・生物科学）

18. *Tetrahymena thermophilia* の行動突然変異………………高　橋　三保子（筑波大・生物科学）

19. *Ceratium*（渦鞭毛虫）の縦鞭毛運動と $Ca^{++}$ イオン………丸　山　正（都立大・理・生物）

20. ツリガネムシの $Ca^{2+}$ および $Tb^{3+}$ 収縮
……………………………………………山田久留美，浅井　博，落合　勉（早大・理工・生物物理）

21. *Tritrichomonas muris* の培養について……………………金子　英治，樋山　正士，青木　忍，東郷　正治，松井　憲義，今井　壮一，石井　俊雄（日獣大・寄生虫）

22. *Trypanosoma* の K-DNA および N-DNA の in situ microspectrofluorometry（続報）
…………猪木　正三[1]，尾崎　文雄[2]，古谷　正人[2]（1）奈良医大・寄生虫，2）徳島大・医・寄生虫）

23. 走査電顕による *Trypanosoma cruzi* および *Leishmania donovani* の表面構造に関する研究
……………………………猪木　正三，高市　成子，上村　昌子，荒木　恒治（奈良医大・寄生虫）

24. *Trypanosoma gambiense* に対する bleomycin の効果に関する研究
……………………………………………………………小野　忠相，中林　敏夫（阪大・微研・原虫）

25. *Trypanosoma gambiense* filopodium の電子顕微鏡観察………………尾崎　文雄[1]，伊藤　義博[1]，古谷　正人[1]，岡　三希生[1]，岡　好万[2]，林　弘三[2]（1）徳島大・医・寄生虫，2）徳島大・教育）

26. モルモットに寄生する *Cryptosporidium* sp. について
…………………………………………井関　基弘，木俣　勲，高田　季久（阪市大・医・医動物）

27. トキソプラズマの細胞侵入における $Mg^{2+}$，単糖依存性
…………………………………………田辺　和裄，木俣　勲，高田　季久（阪市大・医・医動物）

28. ホルマリン固定 *Toxoplasma* 免疫マウスに耐性する strain 分離の試み
……………………………………………矢野　健一，中浜　肇，中林　敏夫（阪大・微研・原虫）

## 特 別 講 演

# ゾウリムシの性と遺伝

樋 渡 宏 一
東北大学理学部生物学教室

# *Sexuality and its genetics in Paramecium*

*Koichi Hiwatashi*
*Biological Institute, Tohoku University*

ゾウリムシの性はカビや酵母などと同様に接合型(mating type)とよばれるが，ゾウリムシを含めて繊毛虫一般に，分類学的種は沢山の遺伝学的な同胞種(sibling species)を含んでいる．このような同胞種は syngen とよばれる．1つの syngen は相補的な接合型を含んでおり，接合は原則として同じ syngen 内の異る接合型をまぜたときに起る．クローンのエイジとしては性的成熟期にあり，培養の時期としては定常期にあるゾウリムシの相補的な接合型をまぜると，多数の細胞から成る凝集塊が形成される．この反応は交配反応(mating reaction)とよばれ特異性の極めて高い反応であって，相補的な接合型に属する細胞の腹側（口部側）の繊毛同志による接着反応である．この反応が約1時間つづくと凝集はほどけて細胞前端で接着した細胞対が現れ，ついで接着面は後方に伸びて典型的な接合対が完全する．我々は，このような接合現象を対象にして，交配反応における性的細胞認識の物質的基礎は何か，このような物質の特異性を支配している遺伝子は何か，このような遺伝子の発現はどのように調節されているか，などの疑問に解答を得る目的で研究を行ってきた．

1) 性的細胞凝集反応の機構とその物質的基礎

性的細胞凝集反応すなわち交配反応は，凝集反応活性の高い分離繊毛を用いると，繊毛同志でもおこるので，この反応には繊毛以外の要素は関係していない．繊毛を膜とアクソネームに分けると凝集活性は膜の方にしか見られない．繊毛を高イオン強度の溶液や EDTA 溶液で処理しても凝集活性は失活しない．トリプシンなどの蛋白分解酵素で処理したり，高温で処理すると容易に失活するが，糖分解酵素処理やレクチン処理では失活しない．などの結果から，交配反応に関与する物質すなわち接合型物質（mating substance）は繊毛膜の内在性蛋白質であるという結論に達した．繊毛を尿素 EDTA またはリチウムジヨードサリチル酸ソーダで処理すると，50～100 nm ぐらいの膜粒子が得られるが，このような膜粒子は高い凝集反応活性と接合対誘導活性をもっている．低濃度のリチウムジヨードサリチル酸ソーダに可溶性の繊毛膜分画から透折によって接合誘導活性をもつ膜粒子を再構成することができるので，この方法を用いて性的細胞認識分子（接合型物質）を同定することができるであろうと考えている．

2) 接合型特異性を支配する遺伝子

ゾウリムシの接合型特異性を支配する遺伝子については，これまで *mt* という遺伝子座しか知られていなかった．これは今まで syngen 間の交雑が不稔であったことに大きな原因がある．我々は最近 *Paramecium caudatum* で syngen 間の交雑を人為的に行わせる方法を見出し，この種では syngen 間の交雑が完全な稔性をもっていることを発見した．syngen 間の交雑を利用すると遺伝的解析に使える接合型特異性の数を増加させることができるので，新しい遺伝子座の発見が可能になる．この方法によって *mt* の外に *Om*，*A*，および*B*の3遺伝子座を見出した．すなわち，*P. caudatum* においては，接合型の一方（E-type）は *mt* の対立遺伝子 *Mt* によって，他方（O-type）は *Om*，*A*，*B*，によって決定され，*Mt* は *Om*，*A*，*B*，に対して上位（epistatic）にあるので，後者3遺伝子座は *mt* のときだけ発現する．また syngen の特異性はこれら遺伝子座の復対立遺伝子によって支配されていることが明らかになった．

3) 接合型遺伝子発現の調節機構

前に述べたように，性的細胞凝集活性すなわち交配反応活性はクローンが性的成熟期にある時だけ現れる．接合後クローンは未熟期に入り，この時期には交配反応能力も接合能力も現れない．この性的未熟期の長さは細胞分裂回数によって決定されていて，環境条件によってはあまり影響を受けない．我々は未熟期の細胞質を成熟期の細胞に注射することにより後者を未熟の状態に変化させることに成功したが，この細胞質因子を明らかにするために，未熟期細胞の大量培養を行い，その可溶性分画をゲル濾過および DEAE セファデックスを利用して分画し，比活性約500倍の有効成分を分離することに成功した．この成分はトリプシンや高温で容易に失活するが，RNase では失活せず，蛋白質であると考えられる，ゲル濾過からの推定分子量は約10,000で，この蛋白を Immaturin と命名した．

Immaturin は *P. caudatum, P. aurelia* complex, *P. multimicronucleatum* では共通で，*P. bursaria* は特異性を異にすることが最近明らかになった．Immaturin がどういう機構で接合型遺伝子の発現を抑制しているのか，また成熟期にはどういう機構でこの抑制が解除されるのかは今後の興味ある研究課題である．

以上の研究は，現在私の研究室のメンバーである，また以前メンバーであった次の人達の努力による所が多い．高橋三保子，渡辺疆，三輪五十二，若原宏爾，北村昭夫，芳賀信幸，月井雄二．

**質問**　兼田　正男（広大・総科）

1. Immaturin と mating reaction をする protein は，cell cycle のいつ合成されますか．
2. Mating reaction の gene と Inmaturin の gene は別の gene で gene loci は，どれくらい別ですか．

**回答**　樋渡　宏一（東北大・理・生物）

1. Immaturin は不明です，Mating reaction に関する protein (Mating substance) は G1 で合成されると考えていますが，*P. tetraurelia* では必ずしもそうでもなさそうな結果も出ています．
2. Immaturin をコントロールしている gene はまだ同定していませんが，これまで見出された *Em*（早熟遺伝子）の中にあるかも知れません，Mating type をコントロールする遺伝子は *Em* とは独立です．

**質問**　丸山　正（都立大・理・生物）

immaturin はいつ合成されますか．

**回答**　樋渡　宏一（東北大・理・生物）

接合直後合成が始り，細胞分裂回数10回ぐらいでプラトーになり，その後減少するようです（茨城大三輪らの結果）

**質問**　福間　利英（兵庫医大・医動物）

1. Syngen, mating type の決定は段階的に決定されるものですか．
2. geno type (allel) により決定された pheno type (products) の関係（差異）はどのようなものですか．

**回答**　樋渡　宏一（東北大・理・生物）

1. Syngen の決定は mating type を決定する genes の syngen 特異性に支配されているわけですが，特異性が関与する分子のどういう違いによるのかは未だわかりません．
2. genic products (Mating substance) の分離にまだ成功していませんので，Alleles の違いが product の分子構造のどういう違いであるかは未だわかりません．

**質問**　丸山　正（都立大・理・生）

1. immaturin の種特異性は
2. 抗体を作って注射するような方法は．
3. *Tetrahymena* を使用できますか．

**回答**　樋渡　宏一（東北大・理・生物）

1. 種特異は，*P. caudatum, P. aurelia complex, P. multimicronucleatum* 間では共通で，*P. bursaria* はそれ自身の Immaturin をもっているが特異性は異ります (Miwa, J. Cell Sci. 1979)
2. まだやっていません．
3. 注射がゾウリムシ程容易ではないのでやっかいですが，外液から入れてやる方法が開発されれば，テトラヒメナは良い材料になると思います．

## 一 般 講 演

### 1. シガテラ（魚類中毒）病の原因種である *Gambierdiscus toxicus* の形態的特徴

安 達 六 郎
三重大学水産学部

*Rokuro Adachi*
*Faculty of Fisheries, University of Mie*

現在，ポリネシア海域ではシガテラ病が発生しており，食中毒死を起こしている．著者等は昨年現地で調査し，原因種をつきとめ，新属新種として発表した．本報は更に本有毒種を形態学的に検討し，体形と鎧板の配列に関して変化に範囲のある事を判明した．それは①本種の体長範囲，②体形はややレンズ状であるが丸形から板型まで変化することであり，これにより鎧板配列の特徴が明確になった．これは分類・同定上重要な知見である．

**質問**　角田　清（農水省）
この毒物の性状はわかっていますか．

**回答**　安達　六郎（三重大・水産）
本種の有毒については強い毒を持つ事が Yasumoto et al (1977) で報告されている．しかし毒の成分・性状は多量採集により分析中であるので次第に明白になって来るものと思われる．

**質問**　斎藤　実（横浜国立大・教育）
1. 体長に対して体巾の変化が大きく，鎧板の分割が径線で起っているが，その関係について，とくに apical plate が分割することについて，見解を聞きたい．
2. 鎧板の変化（分割）が分裂面と関連することはないのか．

**回答**　安達　六郎（三重大・水産）
1. この種は体形の変化範囲が大きい事実が明白になって来たが，特に丸型，レンズ型，偏平型などあり，体厚方向にも増大する．鎧板の分割が頭板，上帯板と下帯板に起るが，上帯板に著るしい．頭板でも少し起る．この頭板の分割は *Peridinium* 属 *Gonyaulax* 属などでは顕著に少ないものであるが，本種では分割が多い点に特徴がある．この分割線はしばしばみられるが基本体形より離れた形に多くみられる．
2. 鎧板の変化による板数増加は幾つかの線にわたっており，分裂面の線と必ずしも一致していない線も含まれているものであった．このため分裂の必要から生じたものと考えるのは困難と思う．

## 2. 日本における貝毒原因の *Gonyaulax* 属出現種とその分布

安 達 六 郎
三重大学水産学部

*Rokuro Adachi*
*Faculty of Fisheries, University of Mie*

最近，我国の沿岸各地で有毒 *Gonyaulax* 属の出現により貝毒化現象が起っている．それは北海道のホタテ，中国のイガイ，四国のアサリ等その地域も広い．これら原因種の種類と分布は緊急課題となっている．本回はそれ等の分布種の概要と毒化域の広域化を述べる．

**質問**　　小山　力（予研・寄生虫）

*Gonyaulax* による貝毒成分の化学構造は現在明らかにされていますか．

**回答**　　安達　六郎（三重大・水産）

*Gonyaulax* の貝毒成分と化学構造は最近この数年間に毒成分が3～5種あり，従来から毒成分が1成分とされたのが誤りである事実が明白にされている．分子量・化学構造は従来からの1毒成分については明白にされているが他の毒成分は現在生化学者によって究められつつある．なほこの毒成分のパターンと *Gonyaulax* 属種との関係は *G. catenella, G. tamarensis* について検討されており次第に明白になろう．

## 3. 太陽虫における軸足の構造と機能

重中　義信，洲崎　敏伸，豊原　明，渡辺　定博
広島大学総合科学部情報行動科学教室

# *Structure and function of the axopodia in Heliozoa*

*Yoshinobu Shigenaka, Toshinobu Suzaki, Akira Toyohara and Sadahiro Watanabe*
*Department of Information and Behavior Science, Faculty of Integrated Arts and Sciences, Hiroshima University*

太陽虫 *Echinosphaerium nucleofilum* は，球形の細胞体表面から多数の軸足を放射状に伸展している．これらの軸足は，その伸長や短縮によって，太陽虫のもつ幾つかの細胞機能と密接に関係している．例えば，細胞が基質に接着する際には，細胞下面に位置する軸足の短縮が起り，それによって細胞接着が可能となり，強度の接着力をもつに至ると考えられる．また，細胞が基質上を移動していく際には，進行方向の前方下部に位置する軸足の短縮と，後方下部に位置する軸足の伸長とが起り，それによって細胞自体は回転しながら移動する．細胞分裂の場合も，軸足の伸長や短縮がその原動力となっていると考えられる．すなわち，分裂に先行する細胞の基質への強度の接着に引き続いて，細胞分裂溝の下面に位置する軸足の伸長と，両端部に位置する軸足の短縮によって分裂は進行し，二つの新しい娘細胞が互いに反対方向に回転する形で形成される．次に，太陽虫は，通常の生

理条件下で頻繁に細胞融合を繰り返しているが，この場合にも，相対する二つの細胞の間に位置する軸足が短縮することによって細胞融合が達成される．さらに，太陽虫が餌を捕食する際にも，軸足は重要な役割を担っている．すなわち，それは餌を捕獲し細胞体表面にまで運搬する機能をもつ一種のトラップとしての役割である．太陽虫の捕食機構には，大別して二つの場合が存在する．その一つは，急速な軸足の短縮を伴なうものであり，軸足先端部に附着した餌虫は，その直後に起る軸足の収縮（1/20秒以内）により，細胞体表面近くにまで運搬される．上述の細胞融合などに伴なう軸足の短縮は，その全長にわたって軸足が崩壊するのに数十分を要することを考えると，捕食に伴なう軸足の短縮は極めて急速な収縮現象であるといえる．捕食の第二の方法は，軸足膜と軸足内原形質の細胞体に向かう流動によるものであり，餌虫が接触した際に軸足の短縮は起らず，伸展したままの軸足表面に沿って餌虫が細胞体表面にまで運搬されるものである．

ここで，軸足内部には正の複屈折性を示す軸糸が存在し，その軸糸は異型的な二重螺旋配列を示す微小管によって構成されていることはよく知られている．この軸糸微小管は，種々の細胞外環境要因（静水圧，低温，尿素，コルヒチンなど）によって容易に崩壊し，その結果として軸足の短縮化が起ることも知られている．この際の微小管の崩壊過程は，環境要因の種類によってまちまちである．他方，通常の培養条件下において，接着，融合，捕食などの際に認められる軸足の短縮化も，同様に軸糸微小管の崩壊を伴なう現象である．そこで，この微小管の崩壊過程を電顕的に観察したところ，両者にほぼ共通した過程を経て微小管の崩壊が進行することが判明した．すなわち，各微小管の崩壊に先行して，軸糸を構成する微小管パターンの崩壊が認められ，まず，軸糸が幾つかの小さな微小管束に分離していくことが判明した．また，引き続いて起る微小管自体の崩壊は，その崩壊の中間的構造体として，いわゆるC型微小管の段階を経て進行することも確認された．これら二つの現象は，太陽虫を二価陽イオン（$Ca^{2+}$，$Cu^{2+}$ など）で処理した際に認められる軸糸の崩壊過程と極めて類似していると考えられる．従って，太陽虫の幾つかの細胞機能が遂行されるために自律的に起る軸糸微小管の崩壊現象には，細胞内の二価陽イオンのレベルでの細胞内コントロールが直接的に関与していることも当然予想される．さらに，このことは細胞外から実験的に与えられた二価陽イオンが，細胞融合や細胞接着などの細胞機能を促進するという実験結果からも類推される．以上の結果から，太陽虫にみられる諸種の細胞機能には，軸足が直接的かつ重要な役割を果たし，その機能遂行のために軸足内微小管の崩壊や形成が関与していると結論される．

## 4.　原生動物体表面にみられるフィラメント様構造

渡辺　定博，洲崎　敏伸，山岡　輝昭，重中　義信
広島大学総合科学部情報行動科学教室

## *Filament-like structures on the cell surface in Protozoa*

*Sadahiro Watanabe, Toshinobu Suzaki, Teruaki Yamaoka and Yoshinobu Shigenaka*
*Department of Information and Behavior Science, Faculty of Integrated Arts and Sciences, Hiroshima University*

原生動物の細胞表層には，繊毛を主体とする幾つかの細胞小器官が存在する．本研究では，繊毛虫を中心とする数種の原生動物において，一般体表面やこれらの細胞小器官，あるいは細胞内液胞に認められる繊維状構造について，その微細構造と分布状態を調べ，接合，細胞融合，繊毛運動などの細胞活動との関連性について検討した．

この繊維状構造は，電子顕微鏡による高倍率での観察によると，単純な糸状構造をとるのではなく，繊維全長にわたって，連続的に小さなくびれが存在し，いわゆる

数珠状構造をとっている．くびれの一個の大きさは細胞の種類により多少の差は見られるが，長軸方向30〜50 nm，短軸方向20〜30 nmの形態を示し，これを長軸方向に連ねた纖維の長さは非常にまちまちであるが，数十nmの短いものから数百nmの長いものまで観察された．

今回の観察に用いた原生動物は，纖毛虫（*Tetrahymena thermophila, Stentor coeruleus, Blepharisma undulans japonicus, Paramecium bursaria*）と，太陽虫（*Echinosphaerium nucleofilum*）である．上記の纖毛虫の場合に共通して言えることは，口部膜板域において，膜板を構成する纖毛と纖毛の間に，この纖維が観察されることである．特に*Stentor*の膜板においては，かなりの纖維が纖毛と纖毛の間隙を埋めつくすように存在している．また，一般体表面においては，*Stentor*を除く三種の纖毛虫で観察された．特に*Tetrahymena*では，接合を導くのに必要な飢餓状態を経た細胞で，その細胞前端部付近に，この纖維が顕著に増加または発達していることが観察された．さらに接合対形成後も，接合部近辺にこの纖維が見られ，纖維同志，あるいは，纖維と纖毛との絡み合いが，走査型電子顕微鏡により明らかにされた．これらの観察結果から，接合過程におけるこの纖維の関与が予想されるが，現在のところ，これを直接的に示唆するデータは得られていない．一方，*Blepharisma*では，細胞体内に存在する液胞内壁にもこの纖維が認められた．この細胞内には様々な形態の液胞が存在するが，これらの中で，内側に向かって小さな膜の突出が多数存在するような液胞において，その突出部の間隙に多数の纖維が見られた．ただし，このような纖維を内蔵する液胞の数は非常に少なく，ほとんどの液胞は平滑な膜で構成され，その場合には上述の纖維はまったく認められない．さらに纖維を内蔵する液胞の周囲には，多数の小型の液胞が観察された．これらのことから，*Blepharisma*の細胞内に見られる数種の液胞が食胞の形成から消滅に至るまでの様々な段階を反映していると考えるならば，このような纖維はその特定の段階に出現するものとも考えられる．また，*Paramecium*においても，一般体表並びに口部膜板において，少数ながら纖維が認められた．太陽虫においては，細胞融合，細胞接着，捕食などの細胞現象に伴って，この纖維が観察された．特にこれらの現象では，軸足の短縮に伴って，それまで軸足を被覆していた形質膜が軸足基部に集合し，その膜からこの纖維が形成されてくるものと思われる．

以上の観察結果から，この纖維の形成並びに機能について類推してみると，纖維の観察される部域の多くが，特に形質膜の新生あるいは崩壊の盛んに行なわれていると思われる部域に相当することから，形質膜の交代過程でこの纖維が受動的に形成されてくる可能性が極めて高いと思われる．また，*Tetrahymena*の接合過程において，纖維と纖毛の絡み合いが見られたことや，膜板の纖毛の間にこの纖維が多数存在することから，この纖維が纖毛の運動，特に纖毛同志の運動の調節を維持する上で，何らかの影響を及ぼしていることが考えられる．特に，数球状の形態をとることは，絡み合いの上で，非常に有利な構造であるのかも知れない．

**質問**　　渡辺　良雄（筑波大）

じゅず状突起物内の物質間の距離は一定しておりますか．またフィラメントとおっしゃっているものは unit membrane をもっているのでしょうか．またこのものはフィラメント様とよべるものなのでしょうか．以上おうかがい致します．

**回答**　　渡辺　定博（広大・総科・情報）

数珠状構造の単位であるひとつひとつのくびれは，大きさがかなり一定しています．従って，突起内の物質間距離はほぼ一定しているものと考えられます．

フィラメントには unit membrane が観察されています．フィラメントと申し上げましたのは，全体像を低倍率で見た場合の感じがフィラメント様であったからであります．

**質問**　　浅見　敬三（慶応大・医）

演題3と4に関連して．

1. 太陽虫の cell fusion と filamentous 構造物との関係は如何．
2. fuse する部位付近に特に多くの filament が見られるか否か．

**回答**　　渡辺　定博（広大・総科・情報）

1，2．太陽虫の cell fusion の場合にも同様の filament 様構造が観察されておりまして，特にそれは融合部域付近に多く見られております．

# 5.　*Trachelomonas planktonica* var. *oblonga* DREZEPOLSKI の増殖について

小　国　昭　信
神戸常盤短期大学

# *On the multiplication of Trachelomonas planktonica var. oblonga* DREZEPOLSKI

*Akinobu Oguni*
*Kobe Tokiwa College*

*Trachelomonas* 属の増殖が二分裂によることは古くから知られているが，日本産の種についての観察報告はこれまでにない．

今回，土壌浸出液を用いて，*Trachelomonas planktonica* var. *oblonga* DREZEPOLSKI を培養したところ，増殖が観察され，若干の知見を得た．

培養液には，土壌浸出液を2倍希釈後，pH 6.2～6.4に調整したものを用いた．培養は実験室内の北側に面した窓際で行い，培養期間中の室温は 25.4～34.0°C であった．

培養に供した *T. planktonica* var. *oblonga* は，1979年7月に，兵庫県立明石公園内の内濠の1つ，桜堀の表層水 500 ml 中から分離された．採水時の pH と水温はそれぞれ pH 6.2～6.4, 26.0°C で，水はやや濁った褐色を呈していた．

分離された細胞は，楕円形～広楕円形の黄褐色の厚い殻を有し，その両端は丸く，鞭毛孔周縁には，上端部に歯状突起を有する襟状部があり，殻の表面には細点状の模様がある．本変種は殻が楕円形である点で基本種と異なる．

以下の観察結果を得た．

1.　表層水中から分離した細胞を，スライドグラス上に培養液と共に封入したところ，殻の中で既に二分裂を終え，殻内に2娘細胞を形成しているものが見られた．

2つの娘細胞には鞭毛はなく，殻の中でユーグレナ運動を繰返すが，やがて，娘細胞の一方がユーグレナ運動を行いながら，殻の襟状部を通って殻の外に出る．最初に殻の外に出るのは眼点を含む部分である．

殻から出終るまでに7～17分を要した．殻から出た直後の細胞が膜に包まれているかどうかは不明である．

また，殻から出た数分後に，殻から出た細胞および殻の中に留る細胞の両者に，鞭毛が成長して，両者は再び遊泳状態になるが，そうでない場合も観察された．

2.　表層水中から分離した160細胞を試験管内で培養したところ，25日後に無色～淡黄褐色の薄い膜に包まれた細胞を多数認めた．これらの細胞の膜を含めた大きさは，長径：17.5～27.0$\mu$, 短径：12.5～20.0$\mu$ で，一本の鞭毛によって遊泳状態にあった．

これらの細胞に混在して，膜の内部で2細胞になっているものが見られ，2娘細胞には鞭毛はなく，アメーバ運動がみられた．このような細胞においても，2娘細胞の一方が鞭毛孔と思われる部分から出るが，他方の娘細胞は膜の中に留った．

3.　上記の薄い膜に包まれた細胞を更に培養すると，数日後には，膜は褐色を帯び，厚くなり，変形しにくい楕円形の殻に成長するが襟状部はない．

この時期の細胞にも，2娘細胞を形成するものが見られた．

殻が厚くなった細胞では，その後，殻の鞭毛孔周縁に，薄く透明な筒状の襟状部が形成され，更に，襟状部は厚く褐色の度を増して，本変種の特徴ある殻に成長する．薄い膜が完成した殻に成長するまでに，約20～25日を要した．

以上の結果から，*T. planktonica* var. *oblonga* の増殖は，この属の特徴ある殻の形態とは関係なく，殻の成長段階のいずれの時期においても起こりうることが認められた．

**質問**　　斎藤　　実（横浜国立大・教育）

1.　この属は殻の形態を中心にして分類され，その変異が問題になりますが，新しい殻の形態の完成と細胞分裂環との時間的な関係をお聞きしたい．

2.　自然に出現する個体と培養個体との外殻の形態のち

がいについて説明願いたい.

回答　小国 昭信（神戸常盤短大）

培養によって得られたものの殻の厚さにおいて，わずかですがちがいが認められました.

## 6. 海浜における原生動物の動態 V．ビクトリア州の海浜砂泥帯に生息する原生動物

鈴木　実
日本大学法学部大宮校舎一般教育生物研究室

## *Protozoans in the marine beach interstices V. Psammobiont Protozoans from Victoria, South East Australia*

*Minoru Sudzuki*
*Biology Laboratory, Nihon Daigaku, University, Omiya-shi, Saitama-ken*

8 samples were collected from the site along the west coast of Port Phillip Bay towards Bellarine Peninsula (Barwon Heads) on 14 Oct. '79 with the greatest help of Prof. Dr. Bayly (Monash University).

The Testacea found are : *Amphoraeopsis elegans, Arcella* sp., genus like *Assulina, Cyphoderia littoralis, C.* sp., *Difflugiella* sp., *Euglypha* sp., *Hyalosphenia cuneata, Micramphora pontica, M.* sp. 1 (perhaps new species), *M.* sp. 2., *Micropsammella* ?, genus like *Paraquadrula, Phrygenalla* sp., *Psammonobiotus communis, P. golemanskyi, Pseudocorythion acutum, Pseudowailesella* sp., *Trinema lineare,* and genus like *Volutella.*

The densities (Individual numbers/$cm^3$) of the microbiota are as follows : Zoomastigophora : Site−1 =240, S−2=40, S−3=280, S−4=380, S−5=60, S−6=360, S−7=60, S−8=480, Amoebida : Site−1=20, S−2=8, S−4=16, S−6=248, S−7=4, S−8=4, Testacea : Site−1=(8), S−2=(64), S−3=(8), S−4=(12), S−5=(16), S−6=(76), S−7=(8), S−8=(24), Foraminifera : Site−4=(8), S−6=(32), Holotricha : Site−1=120, S−2=32, S−3=20, S−4 =232, S−6=156, S−7=44, S−8=520, Spirotricha : Site−1=20, S−2=12, S−3=88, S−4=72, S−5=56, S−6=124, S−7=16, S−8=96

# 7. 数種のシカ科動物におけるルーメン内繊毛虫の分布

今井 壮一，山根 健介，田澤 義明
日本獣医畜産大学寄生虫学教室
藤 田 潯 吉
日本獣医畜産大学寄生虫衛生研究所
扇 元 敬 司
東北大学農学部家畜衛生学教室

# *On the distribution of the rumen ciliate protozoa in some ruminants belonging to Cervidae*

*Soichi Imai, Tsuguyoshi Yamane and Yoshiaki Tazawa*
*Department of Parasitology, Nippon Veterinary and Zootechnical College, Tokyo*
*Jinkichi Fujita*
*Institute of Parasitology and Hygene, Nippon Veterinary and Zootechnical College, Tokyo*
*Keiji Ogimoto*
*Department of Animal Science, faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai*

シカ科動物におけるルーメン内繊毛虫の分布については，従来ヨーロッパ産アカシカ *Cervus elaphus*, ダマシカ *Dama dama*, トナカイ *Rangifer tarandus*, アメリカ産ヘラジカ *Alces canadensis*, オジロジカ *Odocoileus virginianus* などで報告されているが，本邦を含む，アジア産シカについてはこれまでほとんど報告がない．

演者らは，本州産ニホンシカ *Cervus nippon*, 台湾産キョン *Muntiacus reevesi*, およびヨーロッパ産ノロシカ *Capreolus capreolus* のルーメン内容を入手する機会を得たので，それらについて検索し，その結果と従来報告されている繊毛虫相との比較をおこなった．

材料はいずれも採取後 MFS 液（0.1%メチルグリーンおよび0.8%食塩加10%フォルマリン水溶液）で固定，核染色，保存したものを鏡検した．

その結果認められた繊毛虫は以下に示す通りである．

1. 本州産ニホンシカ

25検体中から以下に示す *Entodinium* 属繊毛虫8種が同定された．

*E. exiguum, E. nanellum, E. parvum, E. minimum, E. ovinum, E. simplex, E. dubardi, E. longinucleatum*

2. 台湾産キョン

10検体中から以下の *Entodinium* 属繊毛虫9種が同定された．

*E. exiguum, E. nanellum, E. parvum, E. minimum, E. ovinum, E. simplex, E. dubardi, E. longinucleatum, E. caudatum*

3. ヨーロッパ（アルプス地方）産ノロシカ

13検体中より次の9属19種が同定された．

*Isotricha prostoma, Dasytricha ruminantium, Entodinium exiguum, E. nanellum, E. ovinum, E. simplex, E. dubardi, E. longinucleatum, E. dilobum, E. furca, E. lobosospinosum, E. ekendrae, E. bimastus, Diplodinium* sp., *Eudiplodinium maggii, Eremoplastron bovis, Elytroplastron bubali, Enoploplastron triloricatum, Epidinium ecaudatum*

今回調査したシカ類のうち，キョンは台湾および中国南部の一部のみに棲息するもので，ホエジカ亜科 Muntiacinae に属する比較的 primitive な group の一員であり，一方，わが国特産のニホンシカはシカ亜科 Cervinae に，ヨーロッパ産ノロシカはオジロジカ亜科 Odocoileinae に属している．

以上のように，キョンとニホンシカは，亜科のレベルで異なった動物であるが，そのルーメン内繊毛虫相は極めて類似しており，ニホンシカで認められた8種の繊毛

虫は全てキョンでも認められるものであった.

これに対して，同じシカ亜科内に含まれ，かつ同じ *Cervus* 属に含まれるニホンシカと，従来報告されているヨーロッパ産アカシカ (Kubiková, 1935; Wertheim, 1935; Sládeček, 1946) では繊毛虫構成に著しい相違がみられ，ニホンシカでは *Entodinium* 属繊毛虫のみがみられたのに対し，アカシカでは *Diplodinium*, *Eudiplodinium*, *Epidinium* など多くの属の繊毛虫も報告されている．またオジロジカ亜科においても，アメリカ産のヘラジカ (Dehority, 1974)，オジロジカ (Zielyk, 1961) では *Entodinium* 属繊毛虫のみが報告されているのに対し，今回調査したヨーロッパ産ノロシカでは，アカシカと同様，*Diplodinium*, *Eudiplodinium*, *Enoploplastron*, *Epidinium* など他の多くの属の繊毛虫が見出され，トナカイ (Dogiel, 1925; Lubinsky, 1958) でも同様の属の出現が報告されている.

以上の所見から，東アジア産シカ（キョンおよびニホンシカ）あるいはヨーロッパ産シカ（ノロシカ，アカシカ，トナカイ）の繊毛虫構成は互いに類似していることが知られ，ルーメン内繊毛虫相に地理的分布が存在することを示しているものと考えられた.

一方，キョン，ニホンシカ，ノロシカの繊毛虫密度を調べたところ，いずれもその値は$10^5$/mlのレベルにあり，多数の種の認められる反芻家畜のそれとほぼ同一の値であった．キョンやニホンシカにおいて，出現繊毛虫種数が極めて少ないにもかかわらず，繊毛虫密度が反芻家畜のそれとほぼ等しかったことは，宿主の栄養学的にみて興味深い事実であると思われる.

**質問**　　角田　　清（家畜衛試）

宿主の分類学的類似性よりも，その動物が棲んでいる地域の食物環境（Flora）のほうが，ルーメンプロトゾアの変化（数，種類），に大きな影響を与えているようにみられますが，いかがなものでしょうか.

**回答**　　今井　壮一（日獣大）

宿主の系統分類学的な遠近によるルーメン繊毛虫相の相違も存在することは確実で，Dogiel (1947) が宿主の系統とルーメン繊毛虫相について論じておりますが，ご指摘の通り宿主の棲息地域もルーメン繊毛虫相の確立には重要な factor と思われ，今回の調査でも，地理的分布の存在が示唆されたものと思います.

# 8.　実験小動物における寄生原虫類の感染状況調査

小山　力，影井　昇，熊田　三由，児玉　邦子，露木　佳子，深沢真由美
国立予防衛生研究所寄生虫部
志賀正男
青山学院高等部
黒木俊郎
東京農工大学農学部獣医学科

# *A survey of parasitic protozoa on laboratory animals*

*Tsutomu Koyama, Noboru Kagei, Mitsuyoshi Kumada, Kuniko Kodama, Yoshiko Tsuyuki and Mayumi Fukazawa*
*Department of Parasitology, National Institute of Health*
*Masao Shiga*
*Aoyama-gakuin Senior High School*
*Toshiro Kuroki*
*Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology*

実験小動物の寄生原虫の実態を明らかにする目的で，まずその Fauna を調べ，すでに1978年度の本大会で発表した．その後次の段階としての寄生の実態調査を国内における11の生産者の小動物を対象として実施し，若干の成績を得たので報告する．本調査は，同時に寄生蠕虫についてもおこない，その概要についてはすでに1979年度の日本寄生虫学会東日本大会において報告した．材料および方法に関しては昨年の本大会で発表したものにほぼ同じである．

成績：

A．寄生率

1)　マウス

a）Conventional

ddY 15(陽性頭数)/42(調査頭数)(36…寄生率(%))，C57BL/6 0/10(0)，C3H/He 0/10(0)，ddI 7/10(70)，Swiss 14/16(88)，IVCS 0/10(0)，ICR 10/10(100)，ddN 10/10(100)

b）SPF

ICR 0/22(0)，BALB/c 0/10(0)，C3H/He 0/10(0)，C57BL/6 0/10(0)，DBA/2 0/10(0)

2)　ラット

a）Conventional

Wistar 25/60(42)，L-E 10/11(91)，BUF 10/10(100)，ACI/N 10/10(100)，Donryu 10/10(100)

b）SPF

Wistar 7/30(23)，SD 7/20(35)，Fischer 0/10(0)

3)　モルモット

a）Conventional

Hartley 23/30(77)

4)　ウサギ

a）Conventional

JW 5/12(42)，NZW 4/4(100)

B．寄生原虫種

1)　マウス

*Giardia muris, Hexamita muris, Octomitus pulcher, Tritrichomonas muris,* トリコモナス2種，その他の鞭毛虫1種，*Entamoeba muris*

2)　ラット

*G. muris, H. muris, O. pulcher, T. muris,* トリコモナス2種，その他の鞭毛虫1種，*E. muris, Eimeria* sp.

3)　モルモット

*Giardia caviae, Tritrichomonas caviae,* トリコモナス1種，*Retortamonas caviae, Chilomastix wenrichi, Oikomonas termo*?，その他の鞭毛虫1種，*Entamoeba caviae, Eimeria caviae, Balantidium caviae, Cyath-*

*odinium piriforme*, その他の繊毛虫1種

4) ウサギ

*Giardia duodenalis*, *Chilomastix cuniculi*, *Retortamonas cuniculi*, その他の鞭毛虫1種, *Entamoeba cuniculi*, *Entamoeba* sp., *Eimeria stiedai*, *E. perforans*, *E. irresidua*, *E. piriformis*, *E. media*

C. その他

血中からはいずれの原虫も検出しなかった. また, 寄生率と小動物の株, 性別, 体重などとの関係で特記すべきものもなかった.

考察:

同一小動物において同時におこなった寄生蠕虫の調査では, マウス, ラットともに SPF はすべて陰性であった. 一方, 本報告における寄生原虫の場合には, SPF マウスのすべてが陰性であったのに反して, SPF ラットでは寄生の認められたものがあった. このことは, SPF 化に伴なう寄生虫の消退傾向は, 原虫より蠕虫において, また, 宿主についてはラットよりマウスにおいてより進んでいることを示しているようにみえる. 神谷ら (1979) は, バリアシステムで飼育されたマウスやラットにおける寄生虫消退の過程は, 次のように進行すると考えた. すなわち, 初めに寄生蠕虫の消滅, 第二に病原性腸管寄生鞭毛虫 (*Hexamita muris*, *Giardia muris* など) の残存, 第三に非病原性腸管寄生鞭毛虫 (*Tritrichomonas muris*, *Octomitus pulcher* など) の残存, このあと恐らくは *Tritrichomonas muris* か *Octomitus pulcher* の単独寄生. 彼等の成績では, バリアシステムで飼育されたマウスやラットでは, 初めから *T. muris*, *O. pulcher*, *G. muris*, *H. muris* の4種の鞭毛虫だけの寄生を認めているが, 演者らの場合には, SPF マウスには寄生なく, SPF ラットのみに, *O. pulcher*, 鞭毛虫一種のほかに, *Entamoeba muris* や *Eimeria* sp. なども認めている. 従って, いつも神谷らが考えるように推移するかどうかはさらに検討の必要があるように思われる. 最後に, 血中からの原虫の検出はなかったが, *Trypanosoma lewisi* のような vector を必要とするものでは, その vector の消滅によって次第に消退傾向が進んでいるものと想像された.

**質問**　角田　清 (家畜衛試)

1. ウサギがコンベンショナルのものだとすると *Eimeria* の寄生率が少ないようにおもいますがウサギの年令などはどうですか.

2. マウスの *Cryptosporidium muris* は検出されましたか.

**回答**　小山　力 (予研・寄生虫)

1. ウサギの年令ははっきりしませんが, 体重は, 1500～3100gのものです.

2. マウスの *Cryptosporidium muris* は注意して検査しましたが, 私共の検査の範囲では未だ検出していません.

## 9. 日本産甲殻類に寄生するグレガリナについて.

星 出 一 巳
山口大学教育学部生物学教室

## *Studies on the Gregarines from Japanese Crustacea*

*Kazumi Hoshide*
*Biological Institute, Faculty of Education, Yamaguchi University, Yamaguchi*

演者は1968年以来西中国及び北海道地方で甲殻類特に海産の甲殻類に寄生するグレガリナ類の調査を行って来た. その結果について報告する. グレガリナ類はいろいろな無脊椎動物に広く寄生しており, 甲殻類に寄生するグレガリナ類も古くから数多く知られている. 現在世界各地より80種以上のグレガリナが甲殻類から記載され, その中の20種は日本で記載されたものである. 現在までに報告されたグレガリナ類は *Ganymedes* 属, *Paraophioidina* 属, *Didymophyes* 属, *Uradiophora* 属, *Pyxinoides* 属, *Carcinoecetes* 属, *Heliospora* 属, *Rotundura* 属, *Cephaloidophora* 属, *Caridohabitus* 属, *Porospora* 属, *Nematopsis* 属, *Pachyporospora* 属の

いずれかに属している．この中で日本の甲殻類より記載されたものは次の４属である．

*Pyxinoides* 属：日本より６種報告がある．先節に特徴があり，その形状は球形で先端が乳頭状になり基部に小柄を有する．先節表面には16条の縦の溝がある．宿主はいずれも蔓脚目である．*Uradiophora* 属：先節は長い乳頭状で付随体の後節に独特のくびれがある．淡水産のエビ *Neocardina denticulata* よりただ１種報告されている．*Cephaloidophora* 属：甲殻類より記載されたグレガリナ類の最も多くの種がこの属に属している．日本からも11種が報告されている．先節はほとんど認められず，前節の先端に透明なレンズ状構造を有する．この属の特徴として他に若い栄養型が宿主の細胞内に入っていること，シストは球形で，単純裂開により胞子を放出すること等があるが，多くの種ではこのようなシスト及び若い栄養体等は観察されていない．宿主は十脚目，端脚目，蔓脚目の３つの目にわたっているが端脚目からの報告が最も多い．*Porospora* 属：２つの宿主を持ち宿主転換をする変ったグレガリナであるが，日本から記載の種については，その生活史がよくわかっていない．日本からは２種記載されており，いずれも海産のエビが宿主となっている．もともとこの２種は *Carcinoecetes* 属に記載されていたが，いろいろな特徴を考えあわせると *Porospora* 属に移す方が適当と思われる．上記の種類の他に一連の調査で *Cephaloidophora* 属７種，*Porospora* 属２種，*Ganymedes* 属１種を得た．

*Ganymedes* 属：連接を作る時本体の後端がコップ状にくぼみそこに付随体の先端が入る．付随体はしばしば本体の後端部に斜めに接着する虫体にはセプタムはなく単室性である．先端部の形状及び連接の状態より有頭類と無頭類の中間型を示すとされているが，分類上は無頭類に分類されている．同じような中間型とみなされている海産の環形動物多毛類に寄生するグレガリナ *Lecudina* 属は有頭類に分類されている．この２つの属は有頭類と無頭類の系統分化の問題を考える際の一つの手がかりになると思われる．

甲殻類の系統と寄生するグレガリナの系統の間に何か関係がないか．これは寄生虫と宿主の相互関係を明らかにする興味ある問題である．現在の数少くないデーターでははっきりとした断定は出来ないが，両者の間には何らかの関係がありそうだ．その理由は 1) 近縁な宿主にはほぼ同じ属のグレガリナが寄生している．2) グレガリナに寄生される宿主は分類学的にかなりかたよった目（十脚目，端脚目，蔓脚目）に集中している．3) 生息場所，食物，形態が類似しており，分類学的にも比較的近いグループの間でもグレガリナ類に寄生されるグループと寄生されないグループがある．甲殻類では端脚目のほとんどの種類でグレガリナの寄生が見られるが，等脚目からは１種のグレガリナの報告もない．

宿主の分化に対応しもともといた寄生虫が分化，適応して行ったのか，宿主の分化した後に，分化した寄生虫が入り込んでいったのかは現在までのデーターではわからない．この問題を解明していくためには，もっと多くのデーターの集積が必要である．

**質問**　小山　力（予研・寄生虫）

毎度同じ質問で恐縮なのですが，*Coccidia* の仲間の sporozoite の頭端には apical complex があり，この同じ構造が *Gregarina* の仲間にも存在するかどうかは系統学的に極めて興味ある問題と思われます．多分 Vavra and Kučera (1970) と思いますが，J. Protozool. 17, 463～483の中の *Pneumocystis carinii* の電顕的研究に関する論文中で，*Gregarina* の仲間の sporozoite にも一種の conoid があるというような表現を最近みつけました．

そこで，先生の御研究の上で，あるいはまた文献の上で，上記表現の真偽について御存知の事がございましたらお教え下さい．

**回答**　星出　一巳（山口大・教育・生物）

Vavra らの論文は見ていますが，その根拠になった電顕像は見ていません．*Eugregarina* の仲間では cyst, spore の微細構造を観察したものはないと思います．何んとかはやく cyst, spore の微細構造を観察したいと考えています．

## 10. 胞子虫（*Gregarina blattarum*）RNA の分子サイズ

阿部　弘和，吉本　弘之
山口大学教育学部生物教室

# *Molecular weight of ribosomal RNA from Gregarina blattarum*

*Hirokazu Abe and Hiroyuki Yoshimoto*
*Biological Institute., Faculty of Education, Yamaguchi University*

*Gregarina blattarum* はチャバネゴキブリを宿主とする大型の胞子虫である．

このグレガリナは胞子（3〜4μm）で宿主に経口感染し，３〜４日後にはゴキブリの中腸の中で顕微鏡によってはっきり認められる大きさのグレガリナ（sporadin）となる．その後，グレガリナは中腸の中で急速にサイズを増し，最大700μmの大きさに達する．２個のグレガリナは連接し cyst を形成する．cyst はゴキブリの体外に排泄された後，胞子を放出する．この間は約２週間で，次の世代へ移る．

この研究では，まず最初にグレガリナ（sporadin）の RNA 含量の変化を調べた．ゴキブリの中腸からグレガリナを集め，その体長によって分けた．（１回の測定には1000〜2000個のグレガリナを必要とする．）グレガリナから STS 法によって RNA を定量的に抽出し，RNA 量はオルシノール法および紫外吸収（260nm）によって求めた．

200μm 前後のグレガリナには１個あたり 0.01μg の RNA があり，これはグレガリナの成長とともに増加し，600μm 前後のものでは 0.06μg の RNA を含んでいることがわかった．

また，RNA 量の増加とともにたん白質含量も増加することがわかった．すなわち，200μm 前後のグレガリナのたん白質は 0.01μg で，600μm 前後のグレガリナのそれは 2μg であった．この間にたん白質量は20倍も増えたことになる．

つぎに 400〜600μm のグレガリナを集め，フェノール法（pH 5.1）によって RNA を抽出し，精製した．この操作をくり返し，全体で約 42000 個のグレガリナから 14. OD 260 nm ユニットの RNA を得た．精製したグレガリナ RNA は 10 cm の0.5%アガロースを含む 2.2%のポリアクリルアミド・ディスク・ゲルの電気泳動によって分離，分画した．泳動終了後のゲルは0.2%メチレンブルーまたは１%アクリジンオレンジで染色し，RNA のバンドを検出した．

グレガリナ RNA には分子量マーカーとして，ラット肝 28S rRNA（1.75×$10^6$ ダルトン），18S rRNA（0.70×$10^6$ ダルトン），あるいは大腸菌 23S rRNA（1.07×$10^6$ ダルトン）16S rRNA（0.56×$10^6$ ダルトン）をあらかじめ加えておく．

グレガリナ RNA はリボゾーム RNA に相当する位置で二つの RNA バンドとして分離した．このグレガリナの二つの RNA バンドはマーカーとして加えてあるラット肝 RNA あるいは大腸菌 RNA のいづれとも異っておりはっきり区別できた．マーカーの RNA をもとにして，グレガリナ RNA のゲル中での移動度から，その分子量をもとめた．その結果グレガリナ RNA の大きい成分は 1.22（$10^6$ ダルトン），小さい成分は 0.65（$10^6$ ダルトン）であった．

この値を他の原生動物とくらべると，テトラヒメナでは1.30と0.69，またゾウリムシは1.31と0.69でグレガリナ RNA はこれらよりも明らかに小さい．さらに，他の真核生物と比較してもグレガリナ RNA の方が小さいことがわかった．したがって，真核生物の中では，グレガリナ RNA が最も小さく原核生物に近い RNA 分子をもっていることになる．

これは RNA の進化を考えて行く上でも，また胞子虫の発生の由来を化学的に考えて行く上でも興味あるデータである．

これらの実験と同時に宿主であるチャバネゴキブリの胚からも RNA を抽出した．

ゴキブリの RNA はゲル電気泳動によって，グレガ

リナ RNA とはっきり区別できた．すなわち，ゴキブリの RNA の分子量は1.59と0.72でグレガリナ RNA よりは，はるかに大きい．これは，グレガリナ RNA はグレガリナ自身によって合成されることを示唆している．

グレガリがどのような合成機構によって自身の RNA をつくっているのか，今後検討すべき問題である．

原生動物はこれまで生物学の研究に独特の機会を提供してきたが，原生動物自身については分子生物学的な解明はほとんどなされていない．しかし，繊毛虫核酸のふるまいについての最近の研究は大きな成果をあげており，今後も興味ある発見が期待されている．一方，胞子虫については今のところ生化学的な基礎データさえ全く得られていない．

胞子虫に関しても今後この種の研究が必要であり，繊毛虫同様ユニークな成果が期待される．

**質問**　　渡辺　良雄（筑波大・生物科学）

rRNA が小さいと言うことをお示しになっていますが，homogenate 中の RNase でこわされている可能性はないでしょうか．たとえばマーカーにつかっておられる28S，23S，18S，16S，rRNA などを抽出過程の最初から入れて分解されないことなど，ごらんいただきたいと思います．

**回答**　　阿部　弘和（山口大・教育・生物）

グレガリナ RNA が小さいのは，特別の切断点で切れたためであるという可能性は少いと思われます．

しかし，サンプル中に RNase のような分解酵素が混入していることはあると思います．それは，サンプルを永くおくと RNA が低分化していくことから予想されます．ただし，その量は比較的少いようです．胞子虫の RNase 活性を調べてみる必要があると思います．

## 11．ディディニウムの選択的食性と走化性

堀上　英紀，石井　圭一
法政大学教養部生物学研究室

## *Selective feeding and chemosensory response of Didinium nasutum to prey*

*Hideki Horikami and Keiichi Ishii*
*Laboratory of Biology, Hosei University*

各種のゾウリムシ（P）に対するディディニウム（D）の食性は，2種のPを同数混合してDに与えた実験から，餌の最大断面積が大きい種ほど，また餌の游泳速度が大きい種ほど，よく捕食されることをすでに報告した．また捕食率の低いPの混合割合を予め高めておくと，そのPの捕食率を高められることも明らかにした．これらの結果はDの捕食が衝突による確率的なものであることを暗示している．今回，餌に対するDの走性の有無を検討した．

化学物質の濃度勾配を長時間保持し，Dの游泳速度を落すために Polyox WSR 205 を加えて粘性を高めた塩類溶液の入ったガラス容器（直径4cm）中にDを30個体移し，ほぼ均等に分布させた．容器の周辺近くに固定した濾紙の円筒（直径5mm）内に捕食率の最も高い *P. multimicronucleatum*（Pm）を遠心機を用い低回転で数回水洗したのち高い細胞密度で加え時間を追ってDの分布状態を調べた．円筒内に塩類溶液のみを入れた時には4時間後もDの分布に大きな偏りが生じなかったが，Pm を加えると1時間後には70%以上のDが円筒から1cm の範囲内に集まった．予め容器内の中央線から円筒寄りの区域内のDの数を少なくして分布に偏り（1：2）をつけておいても，2時間後には偏りは逆転し80%以上のDが円筒側に集まることもわかった．次に Polyox を加えない塩類溶液中でのD（総個体数200）の反応をみるために，一定時間毎に写直撮影して分布状態を調べた．Pm を加えて約7分後には均等分布させたD

に偏りが生じ始め，約13分後には80%のDが円筒側に集まりその後もほぼ一定で，前実験と同様の傾向がみられた．また塩類溶液の入った容器の中央領域に1個体のDを入れて30秒毎にDの位置を観察記録した．円筒内に塩類溶液を入れたコントロールでは，Dはほぼランダムに容器内を游泳するが，Pm を加えると円筒近くを游泳する頻度が極めて高かった．1秒間のDの游泳軌跡を調べると，塩類溶液内ではラセン軌跡が多く器底近くを游泳することが多いが，Pm を加えると直線的軌跡が増え游泳速度も早まることがわかった．

以上の結果からDのPに対する食性には，確率的要素以外にもP由来の化学物質に対する kinesis が関与することが示唆された．

**質問** 樋渡 宏一（東北大・理・生物）

ゾウリムシの方の細胞密度を変化させた場合，それに応じて *Didinium* のレスポンスも変化しますか．

**回答** 堀上 英紀（法政大・生物）

餌の密度をいろいろ変えた定量的な実験は計画していますが，餌が多い時には反応がクリヤーになる傾向は見られています．高濃度側の閾値の有無は現在のところ不明です．

**質問** 内藤 豊（筑波大・生物科学）

ゾウリムシ又はその集団に対するディディニウムの1．オリエンテーション（直線的游泳の）2．avoiding reaction の頻度を調べると興味深いと思う．

**回答** 堀上 英紀（法政大・生物）

長時間の游泳軌跡を写真撮影し，ディディニウムの游泳速度，軌跡の方向，軌跡の turn 頻度および程度を調査中です，今のところオリエンテーションは見られません．

## 12．ゾウリムシにおける大核と小核の分化（II）

見 上 一 幸
宮城教育大学理科教育研究施設

## *Nuclear differentiation in the exconjugants of Paramecium caudatum* (II).

*Kazuyuki Mikami*
*Institute for Science Education, Miyagi College of Education, Sendai*

繊毛虫の大核と小核は同一細胞内にあって，機能的にも形態的にも異る核であるが，常に共通の細胞質環境下にあるのだろうか．核と細胞質の相互作用，特に細胞の“場”と核の行動という観点から，接合過程は興味深い諸現象を示してくれる．その中の一つと考えられる新大核の分化について調べ，いくつかを知見を得た．

*Paramecium caudatum* では，接合によって細胞内に小核からそれぞれ1個の受精核がつくられ，その後3回の核分裂によって8核になる．第3回の核分裂は他の2回の分裂と異なり，分裂時に核は長く伸びて娘核は一時的に細胞の両極に分かれる．この8核中の4核が，核分裂後2～3時間で大核原基の初期形態であるクロマチン塊を示す．しかし，この形態変化が認められるまでに8核は，細胞内の原形質流動により動くため，どの核が大核原基になるかを第3回分裂完了時に知ることはこれまでできなかった．

（1） 大核分化の決定時期

受精核の第1回分裂後の2核の内の1核を顕微解剖法により除去したところ，残る1核は核分裂をおこない，多くの細胞（21例中19例）で後に大核の分化が起った．しかし，その内の17例では正常な大核原基数の半分，すなわち2大核原基であった．また同手術をおこなった細胞を増やした後，大核が大核原基に由来か旧大核の再生によるものかを調べると同時に，小核の存在を調べた結果，12例中，少なくとも10例は新大核（原基由来）と新小核を持つことがわかった．この結果は，第1回核分裂後ではまだ核の運命は決まっていないことを示す．次に同様の実験を，受精核の第2回分裂後にもおこなった．

4核中の3核を除去する操作を29例についておこなった結果，多くの細胞で残りの1核が分裂し，生じた2核の内の1核が大核に，1核が小核に分化するという結果を得た．したがって，第2回核分裂後も核は大核と小核の両方に分化する能力を持っており，分化の決定がなされていないことを示す．以上の結果から分化の決定は，受精核の最後の分裂である第3回分裂後におこなわれるといえる．しかも，大核原基としての形態変化が第3回分裂後2～3時間であるから，それ以前に決定がなされるはずである．

この核分化が決定すると考えられる時期には，細胞にいろいろな変化が認められる．まず第3回核分裂時には，(i)約30分間，細胞の短縮（球化）現象がおこる．このときには顕著な原形質流動は認められなかった．(ii)旧大核の断片化がおこり，また(iii)細胞の短縮現象の直後には食胞形成が開始される．この中で(ii)と大核分化とは直接関連のないことが，すでに本大会（第11回）で述べられている．

（2）　核の位置と分化の関係

細胞の短縮化時の8核は，第3回核分裂直後の核であり，細胞の前部と後部に4個ずつに分かれて位置することが細胞を染色観察することにより明らかになった．そこで顕微解剖法を用い，これらの核を除去することにより，核の位置と分化の関係を調べた．後部に位置する4核を除くと，除いた数だけ，その後に生ずる大核原基数が減少する．しかし，前部の4核をすべて除いても，大核原基は正常に4核生じた．4つの株，すなわち $d^m$-11（mt V）と $d^m$-13（mt VI）との接合完了体と，Yt 1（mt V）と St 12（mt VI）との接合完了体について同様の結果を得ている．この実験から，細胞後部の核が大核原基に分化し，前部の内の1核から小核が生ずるといえ，接合後の核分化に細胞質が重要なかかわりのあることが示唆される．

つぎに，細胞の極性あるいは大核分化に対して，口部域がオーガナイザーとしての機能を持つかどうかを検討した．口部を横にして細胞を扁平にするように押すと，細胞内に入り込んでいた口部を外に突き出させることができた．接合後第2核分裂を完了した4核の時期に，この操作をおこなったところ，半数以上の細胞（16例中10例）で異常な数の大核原基が現われ，口部域への傷害が核分化に大きな影響を与えることがわかった．しかし，これだけの実験では，口部域がオーガナイザーとしての役割を持つと結論できないため，続く解析が必要と考えている．

**質問**　　内藤　豊（筑波大・生物科学）

口の切断の効果に対するコントロール実験はどれになりますか．

**回答**　　見上　一幸（宮教大・理研）

受精核が1回または2回分裂後に核をぬき取る操作をしましたが，その場合，2また4大核原基が比較的安定して出ます．それが一応のコントロールになると考えております．

**質問**　　重中　義信（広島大・総科・情報）

核の存在位置と大核・小核の分化の問題は極めて興味がありますが，細胞内環境の相違について具体的なデータをおもちですか．

**回答**　　見上　一幸（宮教大・理研）

まだ具体的な結果を得ておりませんが，分化決定時期に後部にクリスタルが集ることがあり，常に起こる現象なのかまた分化と関係あるかなど今後の問題だと考えます．

**質問**　　丸山　正（都立大・理・生物）

核原基の細胞内位置が重要で，特に後部のものが重要という事ですが，前部の方のものを後部に移植するとどうなりますか．

**回答**　　見上　一幸（宮教大・理研）

たいへん興味ある実験であり，できれば今後やりたいと存じます．

## 13. テトラヒメナの分裂の分子機構について

渡 辺 良 雄
筑波大学生物科学系

# *Molecular Mechanism of Cell Division in Tetrahymena*

*Yoshio Watanabe*
*Institute of Biological Sciences, The University of Tsukuba*

細胞分裂の分子機構を明らかにするために，形態学，生理学，生化学，遺伝学的手法の面から解析が容易な繊毛虫テトラヒメナを用いて，まず分裂に関連する構造を検討し，構造と物質との対応，物質と機能の対応を理解しようと試みた．本研究は国立予防衛生研・保田友義氏，筑波大学生物科学研究科・沼田治，大西和夫，田村良二氏らの助力で行ったものである．

テトラヒメナの分裂溝膜直下に微小繊維からなる収縮環が存在することを tangential および transverse 切片で確認した．これは繊毛虫で *Nassula* に次いで2番目で，テトラヒメナでは初めてのことである．分裂溝陥入初期では微小繊維は inner alveolar 膜直下の epiplasmic layer に密接して走っており，繊維層は表層から0.1$\mu$以内に存在する．分裂溝陥入後期では収縮環微小繊維は表層から約0.4$\mu$附近にあり環内壁がくっきりしており epiplasmic layer と密着していない．繊維の直径は2.5～15 nm の範囲にあり，その分布から約2.5, 5, 10～15 nm のものに大別された．収縮環関連構造として lateral stripes, linkers, 細い尾を持った beads などがみつかった．lateral stripes は微小繊維を束ねる状態で80 nm 間隔で規則正しく繊維上にあり，収縮環上には数カ所この構造が観察された．またそれぞれの stripes からは epiplasmic layer に直結する linkers が存在することがわかった．beads は微小繊維間にみられる繊細な構造で繊維間のスライデングに関係を持つのかもしれない．

分裂に伴ってかたい表層の epiplasmic layer が細胞質内にひきこまれながら収縮が起ることが初めて観察された．分裂溝陥入初期には epiplasmic layer のごく限られた部分のひきこまれ現象がみられ，この時は微小繊維のみがこの現象をひき起していると考えられた．しかし，分裂溝陥入後期では epiplasmic layer が広範囲に渡ってほぼ垂直にひきこまれる現象が観察され，収縮環微小繊維，lateral stripes, linkers, epiplasmic layer が一体になっている像がしばしば見られた．これは，収縮環の微小繊維間の恐らくスライデングによって生じた力が収縮環の収縮を先ず起こさせ，その力は lateral stripes や linkers を通じて epiplasm に伝わり，epiplasmic layer のひきこまれ現象が受動的に起ると考えられる．この現象は強固な表層を持つテトラヒメナの細胞質分裂にとって表層の収縮を生じさせる為の必然的な，合目的な過程であろう．

我々はこれらの観察を通じて，収縮の力を生じさせる構造が微小繊維であろうと推定し，この構造を作っている蛋白質の物理化学的性質を知りたいと考えた．我々はテトラヒメナのアセトン粉末よりアクチンの検出を第一に試みたがこれは全く検出できなかった．しかし，非筋アクチン精製法（ミオシンとの共沈法）を適用して分子量38,000の蛋白質（FP-38）の単離に成功した．FP-38 は，G⇄F変換，ミオシン $Mg^{2+}$-ATPase 促進，分子量，アミノ酸組成，等電点，抗原性などの点でアクチンと異り，生理的条件では4量体（約7 nm の粒子）で存在した．螢光抗体法で FP-38 は口部装置や分裂細胞の分裂溝に局在することがわかった．更に in vitro の重合条件を検討の結果 14-nm 繊維が形成された．この繊維は7 nm subunit が整列した2 start 列のラセンで1ターン当り 4 subunits の配列をしていると考えられた．また FP-38 重合時に直径0.3～3.7$\mu$の 14-nm 繊維の高次構と思われるリングがしばしば観察され，この構造は生体内の収縮環に形態学的によくにていた．これらを総合的に考えると繊維性構造蛋白質である FP-38 は他の動物細胞の細胞運動に於けるアクチンの様な役割をテトラヒメナで果しているのではないかと考えている．

我々はまた，分裂に関する因子の解析を遺伝学的手法を用いて試みようとした．そのため分裂に関する ts-mutants を単離する方法を検討し，所謂 cytogamy を誘導する方法で劣性ホモの mutants を得ることが出来

るようになった．我々は今，数種の分裂に係る mutants を得，これらは小核，大核の分裂や細胞生長が高温でも正常に起るのに細胞質分裂ができない性質をもっている．各々の株は分裂のある決った点で障害が起っていることが判明したので，野生型や mutants の常温での性質や形態の比較をすることで将来，構造と機能，構造と物質などの対応を明らかにすることができると考えている．

**質問**　重中　義信（広島大・総科・情報）

口部装置と contractile ring は物質的にみて同様のようですが，contractile ring が分化する際の両者の関係について何か知見がありましたら御教え下さい．

**回答**　渡辺　良雄（筑波大，生物科学）

分化する際の両者の関係はよくわかりませんが，両者とフィラメンとが共通に含まれていることを申し上げました．

**質問**　丸山　正（都立大・理・生）

Contractile ring と表層を結びつける fiber が contractile ring に付着しているとすると ring を構成する filament がすべりをおこすとすると，斜めにひっぱられそうな気がしますが，いかがですか．

**回答**　渡辺　良雄（筑波大・生物科学）

Linkers は contractile ring を束ねている lateral stripes から epiplasmic layer に結合しているので，ひきこみはほぼ細胞の中心にむかって垂直におこってまいります．

## 14. テトラヒメナ細胞発育と *b* 型チトクローム

飯 田 久 也
岐阜大学医学部生化学教室
木 村 徳 次
Wayne State University
野 沢 義 則
岐阜大学医学部生化学教室

## *Tetrahymena cell growth and b-type cytochrome*

*Hisaya Iida, Yoshinori Nozawa*
*Department of Biochemistry, Gifu University School of Medicine, Gifu*
*Tokuji Kimura*
*Wayne State University, Detroit, Michigan* 48202 *U.S.A.*

NAD(P)H と酸素の存在下において諸種の薬物や毒物の代謝反応にあずかるチトクローム P 450（以下 P 450 と略す）は，高等動物から微生物，植物にわたって広く分布していることが知られている．ところが原生動物において P 450 の存在を示唆する知見は，Agosin らの *Trypanosoma crusi* に関する報告のみにすぎない．そこで我々は細胞内小器官が高等動物とほぼ同程度に発達分化したテトラヒメナ細胞（WH-14）ミクロソームのヘムタンパクについて検討をおこなった．

CO 差スペクトルで 420 nm に顕著なピークが観察され，高い活性を有する本細胞のタンパク分解酵素により P 450 が P 420 に変化した可能性が示唆された．そこで，タンパク分解酵素阻害剤存在下でミクロソームの分離を試みたが 450 nm にピークは認められなかった．したがって，分光光度計測定による本細胞ミクロソームの P 450 含量は，0.014 n mol/mg タンパク以下であり，この数値はラット肝ミクロソームの1/60，ウサギ肝ミクロソームの 1/120 に相当する．低温スペクトル法（77°K）による酸化型一還元型差スペクトルにおいて，426, 526.5，558 nm の 3 つのピークが認められ，本細胞ミクロソームのチトクロームは主に *b* 型のヘムタンパクと考えられる．

このように分光光度計によるP450の検出が不可能なために，P450の存在の検討をNAD(P)Hの酵素的酸化の面からおこなった．興味深いことには，ラット肝ミクロソームではNADPH-oxidase活性がNADH-oxidase活性の2倍であるのに対し，テトラヒメナミクロソームでは逆にNADH-oxidase活性がNADPH-oxidase活性の5倍の活性を示した．また63時間培養細胞由来ミクロソームのNADH-oxidase活性は，39時間培養細胞ミクロソームの4倍の活性を示した．なお63時間培養ミクロソームのCO結合型で420nmにピークをもつヘムタンパク量が，39時間培養ミクロソームの7倍に増加した．この培養時間によるヘムタンパクの増量とNADH-oxidase活性上昇との間に相関性が示唆されるものの，その詳細については目下明らかにされていない．

一方，ミクロソームNAD(P)H-oxidase活性は呼吸阻害剤（シアン，アザイド）で強く阻害され，シアンに対するNADH-oxidase活性のKi値はNADPH-oxidaseの1/1250であった．これよりNADHに連結した終末酸化酵素は，NADPHに連結したものとは異ることが示唆された．さらにNADPH-oxidase活性はP450阻害剤のcyclohexyl isocyanideによって殆んど阻害されなかった．

アニリン，ベンツピレン，ベンツフェタミン，アミノピリンの4種の基質について水酸化反応を検討したところ，酵素活性は検出できず，フェノバルビタール，3-メチルコランスリン存在下で発育させた細胞においても酵素活性の誘導は認められなかった．

全細胞の低温スペクトルより，テトラヒメナ細胞には553nm，558nmにピークを有する2種類のヘムタンパクが存在し，このヘムタンパク含量は培養時間，培養温度および培地組成の変化により大きく変動することが認められた．すなわち，耐高温株（発育上限温度41°C）を用いた実験において2種類の*b*型ヘムタンパクは，60時間培養細胞ではともに24時間培養細胞の約4倍に増加することが観察された．また両ヘムタンパクの含量は，低温（15°C）培養細胞では高温（39.5°C）培養細胞の1/2であった．一方，培地よりグルコースあるいは$Fe^{++}$-EDTA複合体をそれぞれ除去して培養をおこなったところ，ヘムタンパク含量は約50%に減少したが，グルコースあるいは$Fe^{++}$-EDTA複合体の添加によってヘムタンパクの合成が著しく増進することが認められた．このように培養条件を変化させることにより，ヘムタンパク合成が誘導されることが示された．

以上の結果から，テトラヒメナ細胞の発育・増殖と*b*型ヘムタンパクの量的変動が密接に連関していることが示されたが，その生理学的な意義については目下検討中である．

参考文献

Iida, H., Kimura, T., Johnson, J. T. and Marnett, L. J.: Comp. Biochem. Physiol. **63**, 381～387, 1979.

## 15. テトラヒメナ膜脂質の低温適応：*Non-growing* 系における不飽和化酵素の誘導

葛西　令子，亀山　泰永，福島　弘文，野沢　義則
岐阜大学医学部生化学教室

## *Molecular Mechanism of Thermal Adaptation of Membrane Lipids in Tetrahymena: Induction of Palmitoyl-CoA Desaturase in Non-Growing Cells*

*Reiko Kasai, Yasunaga Kameyama, Hirobumi Fukushima, Yoshinori Nozawa*
*Department of Biochemistry, Gifu University School of Medicine, Gifu*

繊毛虫に属するテトラヒメナ細胞は種々の環境変化に適応し，なかでも生育温度の変化に伴ってその適応反応として膜脂質構成に著しい変動が生じる．とくに生育温度を高温から低温へシフトすると迅速適応としてパルミトオレイン酸（C16：1）の著明な増加がみられ，パルミチン酸からパルミトオレイン酸への変換が活発にな

ることがみいだされた．そしてこの不飽和化反応を司る palmitoyl-CoA desaturase の活性調節機構として，本酵素が流動性の低下によって直接活性化されるとする膜流動性説と，温度シフトにより酵素が誘導されるとする酵素誘導説が提唱されている．我々はすでに，発育細胞において低温シフトをおこなうとシフト後直ちに酵素活性は2倍にまで上昇し，シフト後1時間で最大に達すること，およびこの酵素活性の上昇がシクロヘキシミド（5μg/ml）処理によって抑制されることから不飽和化酵素の誘導説を支持してきた．ところが一方，高温（34°C）生育細胞における既存酵素の膜流動性の減少による活性化も完全には否定しえないので，今回は既存のパルミトイル-CoA 不飽和化酵素をほとんど有しない飢餓細胞を調整し，低温シフト後の酵素活性の変動を検討した．

対数増殖期に達した 34°C 発育細胞テトラヒメナを無機培地（0.2M リン酸緩衝液）に移すと，パルミトイル-CoA 不飽和化酵素の活性は漸次低下し，4時間後にはこの酵素活性をほとんど示さない細胞となる．そこで，この細胞を低温（15°C）にシフトすると，不飽和化反応（C16：0→C16：1）はシフト後正常生育細胞の場合と同様に上昇し，シフト後2時間で最大活性（約25倍）を示す．また，この不飽和化反応の低温シフトによる活性上昇はシクロヘキシミド 5μg/ml の添加により完全に阻害された．

さらに，パルミトイル-CoA 不飽和化酵素の局在するミクロゾーム画分を調整し，その酵素活性を測定したところ，低温シフト前の活性（0.09 n mol/min/mg protein）がシフト後2時間では 2.45 n mol/min/mg protein にまで増大した．この結果は全細胞を用いた *in vivo* ラベル実験の C16：0→C16：1 の不飽和化活性の増大傾向とよく一致した．

すなわち，34°C 生育細胞を 15°C にシフトした時のパルミトイル-CoA 不飽和化酵素活性は，本酵素をほとんど有しない飢餓細胞においても，正常発育細胞（不飽和化酵素を有する）の場合と同様に増大し，しかもこの活性上昇はシクロヘキシミドの添加により阻害されることが明らかとなった．

これらの結果は，低温シフト後のパルミトイル-CoA 不飽和化酵素の活性上昇は，高温（34°C）における既存酵素の流動性の低下による直接効果ではなくて，むしろ酵素の誘導を示唆するものである．

**質問**　　阿部　弘和（山口大・教育・生物）

この場合 cycloheximide で処理された意図は何でしょうか．cycloheximide は一般的にたん白合成を阻害するとされていますが，条件によっては，さまざまな効果をもつと思うのですが．

**回答**　　野沢　義則（岐阜大・医・生化）

タンパク合成を阻害するためです．といいますのは palmitoyl CoA desaturase の誘導が起っているか否かを見るためです．$^{3}$H-leucine のタンパク質への incorporation が5%以下に低下しており，実際にタンパク合成が抑えられていることを確認しております．

**質問**　　渡辺　良雄（筑波大・生物科学）

大変興味あるお仕事です．低温処理での脂肪酸不飽和化に関し 15°C のときのことをお話しになったわけですが，例えばもっとちがった低温処理では温度に依存して不飽和化が誘導されるのでしょうか．また至適温度から高温処理した場合には逆に飽和化がおこってくるのでしょうかお尋ねします．

**回答**　　野沢　義則（岐阜大・医・生化）

15°C の他の低温にシフトしますと，その温度に応じて palmitoyl CoA 不飽和化酵素の活性が高まります．高温にしますと不飽和化（16：0→16：1）が抑制され，飽和脂肪酸の合成が亢進します．

# 16. テトラヒメナ細胞におけるアデニル酸，グアニル酸シクラーゼおよびサイクリックヌクレオチド・ホスホジエステラーゼの性状

長 尾 清 治
岐阜大学医学部生化学教室
中 澤 欽 哉
愛知県コロニー発達障害研究所
工藤 修三，野澤 義則
岐阜大学医学部生化学教室

# *Adenylate cyclase, guanylate cyclase and cyclic nucleotide phosphodiesterase in Tetrahymena pyriformis*

*Seiji Nagao*
*Department of Biochemistry, Gifu University School of Medicine, Gifu*
*Kinya Nakazawa*
*Institute for Developmental Research, Aichi Prefectural Colony, Aichi*
*Shuzo Kudo, Yoshinori Nozawa*
*Department of Biochemistry, Gifu University School of Medicine, Gifu*

Cyclic AMP (cAMP), cyclic GMP (c GMP) は種々の細胞に広く分布し，各細胞の機能と密接に結びついていることが知られている．テトラヒメナ細胞においても，これらのヌクレオチド含量が，細胞増殖・細胞周期と関連して変動することが報告されている．ところが，これらのヌクレオチドの細胞内レベルを調節していると考えられている合成酵素および分解酵素の性状については，十分に明らかにされていない．そこで演者らはこれらの酵素の細胞内分布，至適反応条件および従来これらの酵素活性に影響を与えることが知られている薬物に対する反応性などについて検討を加えた．

酵素標品としては，テトラヒメナ細胞（NT-1）の超音波処理後のホモジネートを105,000xg で遠心して得られる可溶性および顆粒性膜画分を用いた．本細胞の細胞内分画は Nozawa & Thompson の方法により行った．また adenylate cyclase (A-cyclase), guanylate cyclase (G-cyclase) 活性は，中沢らの方法で，cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) 活性は Thompson & Appleman の方法で測定した．

1) 細胞内分布

A-cyclase および G-cyclase は共に，可溶性画分には検出できず膜結合性であり，さらに細胞分画によって活性の分布を調べた結果，表面膜の外皮膜（pellicle）に局在していることが認められた．なお G-cyclase の場合には，ホモジネートでえられる活性の大部分が分画操作によって失われるが，これは後述する活性化タンパクの喪失に起因するものと考えられる．ホモジネートで両酵素活性を比較すると，G-cyclase 活性の方が A-cyclase 活性より40倍も高い．

他方，PDE 活性は顆粒，上清の両画分に認められ，そのいずれの画分においても c GMP-PDE 活性に比べ cAMP-PDE 活性の方が高い．c AMP-PDE は顆粒，上清の両画分におよそ等しく分布し，c GMP-PDE はそのほとんどの活性が上清画分にみられた．

2) 性状

A-cyclase はホ乳動物組織由来のものと一致して，$Mg^{2+}$ 存在下におけるよりも $Mn^{2+}$ 存在下で常に活性が高く，その至適濃度は 1 mM 付近にある．至適 pH が 11.5付近にあり著しくアルカリ側にある点が特徴的で，この性質は G-cyclase の場合にも同様である．NaF，各種のホルモンおよび GTP は多くの組織からえられた A-cyclase の活性化を誘起することが知られているが，本細胞の A-cyclase はそれらの薬物に対して反応しなかった．また $Ca^{2+}$，detergent (Lubrol-PX, Triton X-

100) によりその活性は抑制された.

一方, G-cyclase は cofactor として $Mn^{2+}$ よりも $Mg^{2+}$ に対し高い感受性を示し(至適濃度 3 mM), 従来報告されている G-cyclase とは異なる挙動を示した. G-cyclase 活性は $NaN_3$ や detergent により増大されなかったが, 低濃度の $Ca^{2+}$ 存在下 ($10^{-6}$M〜$10^{-4.6}$M) において, 本細胞中に含まれる $Ca^{2+}$ 結合蛋白質(熱に安定で, 分子量が14,000の酸性蛋白質)により著しく増大されることが見出された.

PDE は $Mg^{2+}$ あるいは $Mn^{2+}$ を cofactor とし, cAMP-PDE では $Mg^{2+}$, $Mn^{2+}$ とも 5 mM で, cGMP-PDE では $Mg^{2+}$ 5 mM, $Mn^{2+}$ 1 mM でそれぞれ最大活性がえられた. いずれの画分の酵素とも至適 pH は 8〜9 付近に認められ, 2 つの Km をもつことなど従来報告されている他の生物の PDE と差異がなかったが, 前述の $Mg^{2+}$ や $Mn^{2+}$ のような金属イオンの非存在下でも活性が認められるという特徴がある. なお, 至適濃度の $Mg^{2+}$ 存在下において低濃度 ($10^{-5}$M〜$10^{-4}$M) の $Ca^{2+}$ の添加により活性の増大がみられたが, 本細胞に $Ca^{2+}$ と calmodulin によってその活性が調節をうける $Ca^{2+}$, $Mg^{2+}$-dependent PDE が存在しているかどうかは現在検討中である.

参考文献

1) Nakazawa, K., Shimonaka, H., Nagao, S., Kudo, S. and Nozawa, Y. (1979) J. Biochem. 86, 321.
2) Nagao, S., Suzuki, Y., Watanabe, Y. and Nozawa, Y. (1979) Biochem. Biophys. Res. Commun. 90, 261.

**質問** 渡辺 良雄(筑波大・生物科学)

Adenylate or Guanylate cyclases における $Mg^{++}$ と $Mn^{++}$ の効果というのは additive な効果をもつものなのでしょうか, おうかがいいたします.

**回答** 長尾 清治(岐阜大・医・生化)

Adenylate cyclase, Guanylate cyclase の両酵素共, $Mg^{2+}$, $Mn^{2+}$ のどちらかの金属イオンの至適濃度に対し, さらにもう一方の金属イオンを加えた場合には活性のそれ以上の増加はみられておりません.

## 17. 興奮性膜モデルとしてのテトラヒメナ細胞

大木 和夫, 野沢 義則
岐阜大学医学部生化学教室
鬼丸 洋, 内藤 豊
筑波大学第 2 学群生物科学系

## *Tetrahymena: A suitable model for the studies on the membrane excitation*

*Kazuo Ohki, Yoshinori Nozawa*
*Department of Biochemistry, Gifu University School of Medicine, Gifu*
*Hiroshi Onimaru, Yutaka Naitoh*
*Institute of Biological Sciences, University of Tsukuba, Ibaraki*

テトラヒメナ細胞とゾウリムシ細胞はともに原生動物門に属するが異なる点も多くあり, それぞれの特徴を生かして研究がおこなわれてきている. テトラヒメナ細胞は, 完全合成培地による生育が可能であり, バクテリアに近い生育速度と細胞密度を示す. さらに各種の方法による膜脂質修飾が可能であり, 野沢ら(岐阜大)はテトラヒメナ細胞を用いて膜脂質修飾による環境適応機構を報告してきた. 一方, ゾウリムシ細胞は, テトラヒメナの 3, 4 倍の 185 $\mu$m 前後の体長を有しており顕微鏡下の観察が容易で, 微小ガラス電極の挿入も可能なため, 内藤ら(筑波大)はゾウリムシの回避反応の機構を電気生理学的に解析してきた. 今回, 我々はテトラヒメナ細

胞への微小ガラス電極の挿入に成功し，同一細胞を用いた生化学的研究と電気生理学的研究による膜機能解明の端緒を開いた．

2％のプロテオース・ペプトン培地で静置培養した *Tetrahymena pyriformis* (strain GL) を用いた．2～3日間の培養で細胞密度は $5\times10^4$cells/ml であり，体長は60～70$\mu$m，体幅は30～40$\mu$m であった．膜電位の測定はゾウリムシに用いているのと同一の装置を使い，固定用の微小ガラス管，刺激用と測定用の微小ガラス電極（1M KCl，$1.5\sim2.0\times10^8$ohms）の3本をテトラヒメナ細胞に挿入し，1mM KCl，1mM $CaCl_2$，1mM Tris-HCl，pH 7.2 を標準の溶液として20度で測定をおこなった．テトラヒメナ細胞の膜ステロールであるテトラヒマノールのエルゴステロールによる置換は，培地へエルゴステロールのエタノール溶液を加えて培養することでおこない，置換の終了は抽出脂質にテトラヒマノールが含まれていないことを薄層クロマトグラフィーで確認した．

テトラヒメナの静止膜電位は約 −30mV であり，外液の$K^+$イオンの濃度を10倍に増加させると約27mV の脱分極を生じた．$Ca^{2+}$ イオン濃度を変えたときにも脱分極し，10倍の増加で約20mV であった．$Na^+$ イオンの濃度の増加は，$K^+$イオン，$Ca^{2+}$イオンに比べて，ほとんど脱分極の効果を示さなかった．次に，外向電流で刺激するとテトラヒメナは活動電位を発生した．活動電位の大きさは外液の $Ca^{2+}$ イオン濃度に依存し，$K^+$ イオン濃度にはよらないことより，テトラヒメナの活動電位の脱分極相は膜電位依存性の $Ca^{2+}$ チャンネルによっていると考えられる．また，後過分極が外液の $K^+$ イオン濃度に依存して，$Ca^{2+}$ イオン濃度によらないことから再分極は膜電位依存性の $K^+$ チャンチルより $K^+$ イオンが流出することによっていると考えられる．そして，この $K^+$ チャンネルの活性化がむしろ遅れていることは，テトラヒメナに特徴的である．このような，テトラヒメナの活動電位の機構は，$Ca^{2+}$ チャンネルで脱水分極するが後過分極のあまり見られないゾウリムシや，$Na^+$ チャンネルで脱分極し，$K^+$ チャンネルで再分極するイカの巨大神経とは異っている．

テトラヒメナ膜の電気的性質の知見を得るために電流強度を変えて200msec の長い刺激をおこなった．その結果，電流0における静止入力抵抗は $7\times10^8$ohms で，外向き電流による刺激でその4％まで，内向き電流では11％まで減少した．また，テトラヒメナ膜の入力容量は $10^{-9}$F であった．

一方，テトラヒマノールを持つ通常細胞とエルゴステロールに置換した細胞では活動電位に若干の差が見られたが，詳細に検討するために電位固定法による測定を考慮中である．

現在のところ，テトラヒメナ細胞の膜電位測定が可能になり，まずエルゴステロールの置換効果を検討したが，酸性の膜脂質であるホスファチヂルイノシトールや脳，神経組織に多いスフィンゴミエリンの膜への導入にも成功しているので，従来の環境適応による脂質修飾とも合わせて，膜の脂質組成と膜の興奮現象の相関性が解明できると期待され，その他にも膜構造と膜機能発現に関する研究に広く応用されると考えられる．

**質問**　金田 良雅（東海大・医）

細胞内外の $Ca^+$ 及び $K^+$ の濃度差から計算される理論値と実測値との比較は行われましたか．

**回答**　大木 和夫（岐阜大・医・生化）

私の知る限りでは，*Tetrahymena* の細胞内 $K^+$ 濃度の報告がありませんので，比較はおこなっておりませんが，今後検討しなければならない問題だと思います．

**追加**　野沢 義則（岐阜大・医・生化）

テトラヒメナの細胞内外の $K^+$ 濃度に関するデータはまだ見られていないと思います．

**質問**　浅井 博（早大・理工）

*Paramecium* にくらべてかなり小さい *Tetrahymena* を用いられて，微少電極をソウ入するのに何か特別な技術的工夫は必要になりますか．

**回答**　大木 和夫（岐阜大・医・生化）

基本的には *Paramecium* と同じ方法ですが，*Tetrahymena* では細胞が回転して plasma membrane が脱離することが，失敗したときの主な原因です．

**質問**　兼田 正男（広大・総科）

1. 過分極はどのイオンによりますか．$Cl^-$ は関係ありませんか．

2. 興奮性の発生には，protein だけでなく Lipid も関係していますか．

**回答**　大木 和夫（岐阜大・医・生化）

1. 再分極が $K^+$ イオンで生じ，その延長として過分極が生じておりますので，やはり，$K^+$ イオンによっております．$Cl^-$ イオンは直接には検討しておりませんが，$CaCl_2$，KCl を用いて検討した結果からでは $Cl^-$ イオンは関係ないと思われます．

2. この点が今後検討したい問題であります．イオンによる走化性がエルゴステロール置換により感受性を増すとの報告もあり，酸性リン脂質により膜脂質修飾をした

実験を準備中です.

## 18. *Tetrahymena thermophila* の行動突然変異

高 橋 三保子
筑波大学生物科学系

## *TNR : The Behavioural Mutants in Tetrahymena thermophila*

*Mihoko Takahashi*
*Institute of Biological Sciences, University of Tsukuba*

テトラヒメナは生化学的・遺伝学的研究の研究材料として,種々の優れた特性を持っているが,その遊泳行動突然変異種については報告がない.そこで, *Tetrahymena thermophila* にゾウリムシで得られたような,繊毛運動の逆転をしない膜性突然変異を得ることを認めた.

まず,対数増殖期の細胞を最終濃度10μg/mlのニトロソグアニジン(MNNG)で1~3時間処理した後,有性生殖過程に導くため, Dryl's solution 中に懸濁し一晩静置する.突然変異株を得るため遺伝的にホモにしなければならないが,今回は,接合型を混ぜてから30°Cで4時間45分後,細胞懸濁液と同量の4%ペプトン培地を加え,Cytogamy を誘導した(Orias, 1979). Cytogamy の誘導後,数回分裂させ,野性型の細胞はほとんど死んでしまうような高濃度(40 mM)の $BaCl_2$ 溶液に濃縮細胞を懸濁し,2時間後に元気で泳いでいる細胞をクローニングするという, screening の方法を用いた.この $Ba^{++}$ に強い抵抗性を示したクローンから,種々の刺激に対し繊毛運動の逆転を示さない TNR (Tetrahymena non reversal) を11株得ることが出来た.

TNR は, $Ba^{++}$ 刺激に対して野性型にみられるような,いわゆる $Ba^{++}$ ダンスを行わず,また, $K^+$ 刺激にも反応せず,繊毛運動の逆転を行わない.鬼丸・内藤(筑波大)の協力を得て,これら11の TNR 株の膜の性質を電気生理学的に検討したところ,外向き電流刺激を与えると野性型は $Ca^{++}$ 依存性の活動電位を生ずるが, TNR はこの活動電位を生じない.また,機械的刺激を細胞前端に与えると, TNR は,野性型と変わらない刺激受容電位は生じるが,引き続いて起るべき $Ca^{++}$ 活動電位を生ぜず,野性型でみられるような繊毛打方向の逆転を行わない.従って, TNR はゾウリムシの CNR 突然変異と同じような $Ca^{++}$ チャンネルの障害による膜性突然変異と考えられる.

11の TNR 株のうち,株 MT1 と MT2 は野性型と交雑すると, F1 では全て野性型の表現型を示し, F2 で TNR と野性型が1:3に分離した.従って, TNR の性質は単純劣性遺伝子によって支配されていると結論される.さらに MT1 と MT2 とは遺伝的相補性を示すので,2つの遺伝子座 *tnrA* と *tnrB* に分けられることが明らかになった.また, *tnrB* は野性型との細胞接着(接合)により野性型の性質を示すように形質転換をするという,ゾウリムシの *cnrC* に類似した特性を示すことが明らかになった.

文献

1. Orias, E. et al. : Science 203, 660~663, 1979.

## 19. *Ceratium tripos*（渦鞭毛虫）の縦鞭毛運動と $Ca^{++}$ イオン

丸 山 正
東京都立大学理学部生物学教室

# *Does $Ca^{++}$ regulate the longitudinal flagellar motion in Ceratium tripos?*

*Tadashi Maruyama*
*Department of Biology, Tokyo Metropolitan University, Tokyo*

*Ceratium tripos* は縦横，2本の互いに形態と運動を異にする鞭毛を有している．横鞭毛がガードル部に付着して運動しているのに対し縦鞭毛はガードルに近い縦溝内より発して細胞体後方に尾のように出て平面波打運動を行っている．ところが細胞体に機械的刺激が加えられると，縦鞭毛は速かに（通常30 msec程度で完了する）折りたたまれて縦溝中に収められる．近年 $Ca^{++}$ が多くの運動系を制御している事が知られるようになったが，*C. tripos* で縦鞭毛の引込運動（折りたたまれる運動）を制御している要因を探る第一歩として $Na^{+}$, $K^{+}$, $Mg^{++}$, $Ca^{++}$, $Cl^{-}$, の濃度の影響を種々の人工海水（上記の他に $SO_4^{2-}$ を含む）を用いて調べた．$Na^{+}$ の濃度を変えるには $Choline^{+}$ で，$Cl^{-}$ は $NO_3^{-}$ で，$Mg^{++}$, $Ca^{++}$, $K^{+}$ は $Na^{+}$ でそれぞれ置換して浸透圧は一定に保った．まず1 ml の Cell suspension を10 ml の試験液で希釈後遠心し，再び試験液で洗った後暗視野顕微鏡で検鏡し，縦鞭毛が伸展した状態か，引込まれているかを調べ，伸展した状態の Cell の百分率で表現した．引込まれた鞭毛は観察されない事があるからである．ただし外に鞭毛の出ていない細胞は全て鞭毛を収めているとも言えない……というのは，縦鞭毛が自己溶解してしまう例があるからである．そのため全ての Cell で縦鞭毛が外に出ていない場合は，その Cell をまた正常海水又は標準人工海水にもどして鞭毛が伸展してくるかどうかを調べた．

その結果，$Na^{+}$ イオンが減少すると縦鞭毛は引込まれて外から見えなくなる細胞が多くなって正常海水の1/10程度（4.6 mM）以下では全ての細胞で縦鞭毛は引込まれてしまい外に出なくなってしまう．$K^{+}$ の場合には $K^{+}$ の濃度を減少させてもほとんど縦鞭毛の運動に影響を与えなかった．しかし逆に高濃度にすると2倍（～19 mM）程度でかなり縦鞭毛の引込みが見られ5倍にすると（～48 mM）ほとんど全ての細胞で鞭毛の引込みが見られるようになった．これは *Paramecium* の繊毛逆転や筋肉の $K^{+}$-Contracture と一致するので縦鞭毛の引込みと膜の脱分極との関連を想起させる．$Ca^{++}$ は低濃度にして標準（10 mM）の1/10以下にすると鞭毛の崩壊が生じる．この時には先ほど述べた自己溶解と異なって後に細いセンイ状の構造が残るので引込運動が生じたのではなくて崩壊が起った事が分る．残存した鞭毛でも引込運動は生じえるがゆっくりしている．1/5（2 mM），1/2（5 mM）では正常な運動が見られるが，標準海水よりも鞭毛はより伸展している（百分率が高い）傾向がある．$Ca^{++}$ 濃度を高めると縦鞭毛は引込運動をより生じるようになり外に出る鞭毛の割合が減少して5倍濃度（52 mM）では全ての細胞で縦鞭毛は引込まれてしまう．この結果は *Paramecium* の ciliary reversal とは逆の結果であるが，膜が $Ca^{++}$ に対して leaky であるとすれば鞭毛内部の $Ca^{++}$ 濃度が高くなることも考えられる．$Mg^{++}$ は，$Ca^{++}$ とは逆に低濃度にすると縦鞭毛の引込みを促すようになる．標準人工海水の1/5（9.7 mM）以下では完全に引込まれてしまうがそれ以上では伸展しているものが多くなり，標準の2倍（97 mM）でピークに達するがそれ以上ではまた伸展している鞭毛の割合が減少する．この時に引込んでいるかどうかは，はっきりしていないが，10倍濃度（この時は浸透圧も高くなっている）にしたものでは正常にもどしても鞭毛は伸展して来なかった．また先端部が溶解した短い鞭毛が多くなったようであった．$Mg^{++}$ は $Ca^{++}$ と拮抗的に働いているのではないか（$Ca^{++}$ の膜の透過に対して）という可能性もあるがはっきりしない．Anion では $Cl^{-}$ を調べたが低濃度では（標準人工海水の1/5以下）では完全に引込

んだままになる．この結果は $Cl^-$ によるのか置換した $NO_3^-$ によるのかはっきりしないが，($Na^+$ の場合も同様)，$Cl^-$ や $Na^+$ も膜の興奮あるいは膜の透過性に関与しているのかもしれない．次に Ionophore A 23187 を用いて細胞内 $Ca^{++}$ 濃度を多少特異的に高めることを試みた．自然海水に 1.7μM の Ionophore を加えたのでは cntrol と差がなかったが，3.5μM，8.7μM，17.2μM と濃度を上げるごとに伸展している鞭毛数が減少し引込運動が生じている事を示した．しかし，引込んだ鞭毛を正常海水で伸展させるのは 8.7μM で 2 分後ではできるが，それより数分を経ると難しくなり 6 分後では全く回復しなくなる．これは膜に組込まれた ionophore が溶出されずに引込みから回復しないのかどうかはっきりしない，以上の事から，$Ca^{++}$ が縦鞭毛運動に対して重要な役割を果していると予想されるが，さらに今後，extraction model 等を使って詳しく調べる必要があると思われる．

**質問**　内藤　豊（筑波大・生物科学）

お話をうかがうと，ケラチウムには 2 種の Ca チャンネルがあるように思われます．[K] を増大した時に開く Ca チャンネルが鞭毛のリトラクションに関係しているならば外液の [K] と [Ca] のアンタゴニズムがあるはずなので定量的に調べて見るとよいと思います．

**回答**　丸山　正（都立大・理・生物）

そのような実験はしていないので，今後検討したいと思います．助言ありがとうございました．

**質問**　兼田　正男（広大・総科）

1. 内部構造を教えて下さいい．

**回答**　丸山　正（都立大・理・生物）

内部構造の TEM 観察によれば，いわゆる 9+2 構造がありますがその他に，Dinoflagellate 一般に縦鞭毛虫類で知られている Paraflagellar rod とその他に今まで報告されていない小さな構造体がある事が分りました．しかし，まだ発表するに十分な data を得ておりません．

## 20. ツリガネムシの $Ca^{2+}$ および $Tb^{3+}$ 収縮

山田久留美，浅井　博，落合　勉
早稲田大学理工学部物理学教室

## *$Ca^{2+}$ and $Tb^{3+}$ Contraction of Spasmoneme in Vorticellidae*

*Kurumi Yamada, Hiroshi Asai and Tutomu Ochiai*
*Department of Physics, Waseda University*

当研究室では，$Ca^{2+}$ の吸着・離脱に伴うグリセリン処理ツリガネムシ茎の収縮・伸長の研究を長年してきた．本大会では，$Ca^{2+}$ 収縮に関与すると思われる蛋白質をツリガネムシ茎のスパスモネームから抽出することを試みてきたので，報告する．$Ca^{2+}$ 収縮器官であるスパスモネームから蛋白質を抽出するのには，現在のところ 1～2% SDS，8M 尿素，5M グアニジン塩のうちのどれかを使用しなければならない．

ツリガネムシを採集後 0.2% のサポニン処理，つづいて 50% グリセリン処理すると，ツリガネムシは数カ月以上保存することができる．実験を行うときには，グリセリンおよびツリガネムシの頭部を除いて，ほぼツリガネムシ茎のみからなる試料を作る．それを 8M 尿素で処理すると，ツリガネムシ茎中のスパスモネームから蛋白質が抽出されてくる．抽出液を 0.1M NaCl，20mM イミダゾールバッファー (pH 6.8)，50μM EDTA 中で透析して尿素を除いても，蛋白質は一部分とけている．超遠心機によって不溶性の部分を除いたものの，SDS 電気泳動をかけると，ほぼ1.9～1.7万の分子量の蛋白質が 3 種類あることがわかる．超遠心機による上澄を分析用超遠心機にかけて，沈降速度をみますと，ミオグロビンとほぼ同じ程度の沈降速度定数が得られる．これは超遠心機による上澄の蛋白質は SDS や尿素がなくてもほぼ単量体になっていることを意味する．しかし超遠心パターンを詳しくみると，速く沈降する蛋白質も少し混入していることがわかる．東洋曹達の高速液体クロマトグラフ

でゲルロ過すると数種の成分から成っていることがわかる.

尿素を除いた後の上澄に $Ca^{2+}$ を加えると，時々濁度がわずかに上昇することが観察されるが，再現性はあまりよくない．また $Ca^{2+}$ 添加に伴う蛋白質の芳香属アミノ酸残基の紫外吸収変化の有無を調べたが，有意の変化は観察されなかった.

そこで $Ca^{2+}$ とほぼ同じイオン半径で螢光性ランタニド金属イオンである $Tb^{3+}$ を代用することを考えた．驚くべきことに，尿素を除いた後の上澄に $Tb^{3+}$ を加えると濁り度は急増することが観察された．濁度上昇のために必要な $Tb^{3+}$ 濃度は約 100～300$\mu$M であった．一方グリセリン処理ツリガネムシ茎は $Tb^{3+}$ の吸着離脱によって，可逆的に収縮・伸長をすることもわかった．したがって $Tb^{3+}$ はたしかに $Ca^{2+}$ の代りになることが確められた．しかしグリセリン処理ツリガネムシ茎の収縮に必要な自由 $Tb^{3+}$ 濃度は 1$\mu$M 以下であると考えられるので，$Tb^{3+}$ による抽出蛋白質の濁度上昇は少くとも直接的には生理学的意味を持たないと考えるべきである．また濁度上昇には1.9～1.7万よりも高い分子量の蛋白質の存在が必須であることがわかった．現在はよりマイルドな条件で蛋白質を抽出することを考えている．また 1.9～1.7万の分子量の蛋白質はすべてアルカリグリセリン電気泳動では $Ca^{2+}$ 有無によって，泳動速度が著しく変化することを付記する.

**質問**　渡辺　良雄（筑波大・生物科学）

最後にお示しになった濁度上昇は $Ca^{2+}$-dependent complex formation とお考えなのでしょうか．またその時の sample は crude なものをお使いになっているのですか.

**回答**　浅井　博（早大・理工・生物物理）

はいそのように考えております．complex formation のための $Tb^{3+}$ 濃度が 100 倍以上も高いので，生理現象には直接むすびつきませんが，crude でないと濁度上昇は起きないようです．1.7 または 1.9 万の分子量のものだけでは濁度上昇はないようです.

**問質**　内藤　豊（筑波大学・生物科学）

Ca イオンによるグリセリン処理ツリガネムシの収縮にヒステリシスが見られるのは，スパスミン自身の性質かそれともスパスモネームをつつむシースの性質でしょうか.

**回答**　浅井　博（早大・理工・生物物理）

おそらく収縮器官であるスパスモネームと外側のシースとの間の組織の状態が関係していると考えております．スパスモネームだけを取出しても，似たヒステリシス現象が起きるかどうかは分りません．スパスモネームだけでも $Ca^{2+}$ 収縮をするという報告もありますが，我々はそれに成功しておりません．スパスモネームはいたみやすいのかもしれません.

## 21. *Tritrichomonas muris* の培養について

金子　英治，樋山　正士，青木　忍，東郷　正治，松井　憲義，今井　壮一，石井　俊雄
日本獣医畜産大学寄生虫学教室

## *On the cultivation of Tritrichomonas muris*

*Hideharu Kaneko, Masashi Hiyama, Shinobu Aoki, Masaharu Togo, Noriyoshi Matsui, Soichi Imai and Toshio Ishii*
*Department of Parasitology, Nippon Veterinary and Zootechnical College, Tokyo*

実験用小動物の腸管内には数種のトリコモナスの存在が知られているが，それらの培養法は確立されていない．そこで我々は市販のコンベンショナルのマウス及びラットを用いて腸管内トリコモナスの培養について検討した.

培養に用いた培地は，田辺・千葉培地をはじめ，Diamond が鳥類，ブタ，ウシ，ヒト，ラットのトリコモナスの無菌培養に用いた培地，アメーバ培養用の

Balamuth 培地，Johnson と Trussel の CPLM 培地及び我々が Diamond の培地に若干の改良を加えた培地の5種である．

材料はマウスあるいはラットの盲腸から得たトリコモナスである．検討の結果，Diamond 培地には盲腸内容をハンクス液で洗浄してから接種し，他の培地には盲腸内容を直接接種した．また Diamond 培地に Lymphoprep で虫体を分離してから接種する方法も試みた．この方法を用いると細菌等の増殖がある程度抑制された．

その結果，Diamond 培地に分離虫体を接種した場合，マウス，ラット由来虫体何れも良好に増殖し，培養48時間後に接種数の3～5倍に達し，以後は漸減した．CPLM 培地においてもマウス由来虫体は48時間後に2倍に達した．田辺・千葉培地，Balamuth 培地ではラット由来虫体の増殖は3～5倍と良好であったが，マウス由来虫体の増殖は低かった．しかし，これらの培地で継代を進めていくと，培養前に認めた大小2種のトリコモナスのうち大形虫体は初代培養で増殖の傾向を示すように思われたが第2～3代目にはその数を減じ，第5代目までには完全に消失し，以後小形虫体のみを認めるようになった．

Diamond 培地により維持中の培養虫体にギムザ染色を施し，光顕的に観察したところ，この虫体は梨子状を呈し，5本の前鞭毛を認めその内の4本がまとまり，他の1例が遊離していた．axostyle はガラス状で細く，波動膜は体全体に亘って認められた．計測値は体長15.7±1.8μm，体幅は 10.2±1.3μm でこの虫体は実験小動物にふつうに認められる *Pentatrichomonas hominis* であると同定された．この *P. hominis* は Diamond 培地で48時間毎の継代維持が可能であり，マウス由来虫体を164代まで維持した．田辺・千葉，Balamuth 培地では72～96時間毎に継代し，ラット由来 *P. hominis* を前者で120代，後者で50代まで維持した．

一方，マウス，ラットの腸管内にはこの *P. hominis* の他に *Tritrichomonas muris*, *Tritrichomonas minuta*, *Trichomonas wenyoni*, *Tetratrichomonas microti*, の存在が知られているが，培養前に認める大形虫体はその計測値，形態的特徴をもとに *T. muris* と考えられた．この虫体は前記の4種の培地で維持が不可能なことから *P. hominis* とは栄養要求に差があることが示唆された．

そこで我々は Diamond 培地の基礎溶媒を盲腸及び盲腸内容の塩類抽出液とした培地を用いてこの大形虫体の培養を試みた．虫体の接種は Lymphoprep により虫体を分離した後おこなった．

その結果，虫体は培養24時間後に接種数の1.5～2倍に達し，48時間毎の継代維持が可能となり，最長34代まで継代し得た．培養維持中の虫体の増殖率は $10^5$/tube 移植した場合，48時間後に2～8倍に達した．なお，この培地中には大形虫体，*P. hominis* 何れも認められ両種の維持が可能であった．

この培地で培養中の虫体にギムザ染色を施し，光顕的観察を行なった結果，虫体は体長に比し明らかに短い3本の前鞭毛を持ち，核は小胞状で体後方に向う強固な棍棒状の Axostyle が認められ，明確な波動膜と体外に遊離している後鞭毛が認められた．体長は21.9±3.1μm，体幅は 12.2±1.7μm であった．

以上の特徴からこの大形虫体は実験小動物にふつうに認められる *Tritrichomonas muris* と同定された．

一方，培養液に5～10%の割合で DMSO を注加し，メタノールで冷却し，−70°C まで下降させた後，液体窒素による凍結保存を試みた．凍結2週後に解凍し，培地に接種したところ，虫体は回復し以後の継代維持も可能であった．

以上の結果から，コンベンショナルのマウス，ラットの盲腸内に少なくとも *P. hominis*, *T. muris* の2種が存在し，前者の培養は Diamond, 田辺・千葉, Balamuth, CPLM 培地で可能であることが追認された．一方，*T. muris* の培養は従来不可能とされていたが（Honigberg ら，1963，他），Diamond 培地に盲腸抽出液を加えることにより可能となることが認められた．

また培養虫体の凍結保存が可能であることが示され，これは虫体の維持に極めて有効な手段であると思われる．

**質問**　　小山　　力（予研・寄生虫）

1.　*Tritrichomonas muris* の培養の際に，細菌を完全に除去するのは大変難かしいと思いますが，無菌化の手続きを御教示下さい．

2.　上記原虫は，普通容易に cyst 様体を形成しますが，上のような培養の経過中にも認められますか．

3.　観察されたもう一つの *Trichomonas* を，*Pentatrichomonas hominis* と言われましたが，人間の腸管からみつかる *Trichomonas* も最近は *Pentatrichomonas hominis* と呼ばれていますので，両者同じものと考えて良いのでしょうか．

**回答**　　金子　英治（日獣大・寄生虫）

1.　盲腸内容を直接接種しますと，Diamond 培地では細菌の増殖が著しいので，リンパ球分り用の Lymphoprep を用い，虫体の分離をしてから接種いたします．

また培地中にはかなり高濃度の抗生物質（組織培養使用時の10倍量）を用いますので継代を進めてまいりますと，無菌化も可能です．

2. 培養48〜72時間を経過すると御指摘の様に encyst した cyst-like の虫体を認めますが，我々はこれを cyst と確認しておりません．

3. 人間由来のトリコモナスの観察はいたしておりませんが，別の機会に得た，イヌ，ドブネズミ由来の *P. hominis* の培養をしており，その培養態度，形態的特徴からマウス，ラット由来虫体と同一のものと考えられます．即ち，*P. hominis* はかなり広域の宿主に寄生が及ぶと思われ，ヒトに寄生する機会も十分考えられます．

## 22. *Trypanosoma* の K-DNA および N-DNA の *in situ microfluorometry* に関する研究

猪 木 正 三
奈良県立医科大学寄生虫学教室
尾崎　文雄，古谷　正人
徳島大学医学部寄生虫学教室

## *Studies on in situ microfluorometry of K-DNA and N-DNA in Trypanosoma*

*Shozo Inoki*
*Department of Parasitology, Nara Medical University, Kashihara, Nara-ken*
*Humio Osaki and Masato Furuya*
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine, University of Tokushima, Tokushima*

さきに演者らは，*Trypanosoma* の K-DNA (kinetoplast DNA) および N-DNA (nuclear DNA) の顕微分光螢光測光を試み，その成果を本学会に発表した．

今回は，更に感度の高いいわゆる Photon counter を使用し，観察方法にも多少の改変を加え，*Trypanosoma gambiense* Wellcome 株（以下 Tg と略す）および *Trypanosoma cruzi* Tulahuen 株（以下 Tc と略す）の Trypomastigote 型1個体に含まれる K-DNA ならびに N-DNA の全量を顕微螢光測光する実験を試み，極めて興味ある成績を得たのでここに報告する．

本研究においては，各 *Trypanosoma* 細胞に含まれる K-DNA および N-DNA の全量が測定できるように，比較的大きな円形の穴（直径 10μ）をあけたマスクを使用し，また kinetoplast と nucleus を別々に測定できるように，両者が細胞内でかなり離れて存在するいわゆる Trypomastigote 型を実験に供した．

両種の Trypomastigote 型はそれぞれ感染極期にあるマウスの血液から採取した．Tg は Lanham 法 (DEAE cellulose column 使用）により，Tc は Lanham 法が用いられないため分画遠心法により，できる限り純粋に集めて無螢光の硝子スライドに薄層塗抹した．

標本は乾燥後純メタノールで固定し，まず RNase 液 (RNase, Worthington 製 4 mg; 0.2 M MgCl 9 ml; 0.2 M CaCl 1 ml; 0.1 M tris-HCl buffer, pH 6.4, 22 ml; Dist. water 8 ml) に 37°C, 2時間浸して RNA を除去してから，螢光色素 ethidium bromide を2重鎖 DNA の base pair 間に intercalate させた（実験方法の仔細は Inoki et al., Zbl. Bakt. Hyg. 1 Abt. A 244, p. 327, 1979 の論文を参照のこと）励起光としては OSRAM, 50 Watt の高圧水銀灯を使用し，特殊複合フィルターを通して得た波長 535〜550 nm の光を標本に落射し，直径 10μ の上記円形マスクを使って，kinetoplast と nucleus から出る螢光を別々に，しかも総てとらえる様に工夫した．更に螢光選択フィルターを使って波長 580 nm 以下の光を cut してから光電倍増管に導き，増幅後 Photon counter (NF Co. 製) をもっ

て螢光の強度（エナージ）を測定し，その値を K-DNA 量，N-DNA 量とした．測定時間は5秒間であった．

測定結果を要約すれば，下記の通りである．

1) Tg の 2K 1N 型細胞 (kinetoplast 2個，nucleus 1個を有するもの) の K-DNA 量（相対螢光強度＝RFI 827±186）は 1K 1N 細胞の K-DNA 量（RFI 444±50）の約2倍を示した．この成績は本測定法の正確さを証明しているものとして重要である．

2) Tg の 2K 1N 型細胞の N-DNA 量（RFI 10908 ±1651）は 1K 1N 型細胞の N-DNA 量（RFI 6305±289）の2倍弱であった．この成績から N-DNA 量が核分裂の開始前にすでに2倍近くに増加していることが明らかになった．

3) Tc の 1K 1N 型細胞の K-DNA 量（RFI 2107 ±149）は Tg の 1K 1N 型細胞の K-DNA 量（RFI 444±50）の約5倍を示した．これに反し，Tc の N-DNA 量（RFI 4430±323）は Tg の N-DNA 量（RFI 6305 ±289）より少なく，前者は後者の 0.7 倍に過ぎなかった．

4) K-DNA/N-DNA の百分率は Tg では7%（平均），Tc では約50%であった．

5) 1つ1つの細胞について得られた K-DNA/N-DNA の百分率をみると，Tg でも Tc でもその値は一定していない．従って少くとも使用した2種の *Trypanosoma* においては，K-DNA と N-DNA の増加が synchronize していないと理解された．

6) とくに分裂増殖が不可能だと考えられている Tc の Trypomastigote 型において，K-DNA/N-DNA の百分率が種々の値（最高82.3%～最低35.8%）を示した事は，本種の Trypomastigote 型においても Tg と同様，K-DNA および N-DNA の増加が起こり得る可能性を示唆したものとして興味がある．

**質問**　　高田　季久（阪市大・医・医動物）

1. *Trypanosoma cruzi* の Trypomastigote 型は末梢血では普通分裂しないと言われていますが，その場合でも，分裂する *T. gambiense* と同様な K-DNA/N-DNA 比のバラツキが見られた理由をどの様に考えられますか．

2. この方法によって Leishmamia 属で行なわれている様な，K-DNA による種の同定が可能でしょうか．

**回答**　　猪木　正三（奈良医大・寄生虫）

1. この測定法で得た成績を示しただけで理由はわかりません．ただ各原虫によって K-DNA に多少の相異があることはいえると思います．

2. 可能か否かは測定しなければわかりません．

## 23. 走査電顕による *Trypanosoma cruzi* および *Leishmania donovani* の表面構造に関する研究

猪木　正三，高市　成子，上村　昌子，荒木　恒治
奈良県立医科大学寄生虫学教室

## *Studies on the surface structures of Trypanosoma cruzi and Leishmania donovani employing scanning electronmicroscope*

*Shozo Inoki, Shigeko Takaichi, Masako Uemura and Tsuneji Araki*
*Department of Parasitology, Nara Medical University, Kashihara, Nara-ken*

本研究には LIT 培地に培養した *Trypanosoma cruzi* (Tulahuen 株) と NNN 培地に培養した *Leishmania donovani* (2S株) を使用した．まず日立 S-450 走査型電子顕微鏡をもってそれらの表面構造を明らかにし，続いて Chagas 病の特効薬として最近開発中の，Roche 社の benznidazole（商品名 Radanil）および Bayer 社の nifurtimox（商品名 Lampit）を 3mg/ml の割合に培地に加え，増殖中（培養5日目）の *T. cruzi*（主として epimastigote 型）の表面構造に及ぼす影響を観察した．更に，この実験と併行して透過型電子顕微鏡（日

立 HU-12）を用いて内部構造への影響をも観察した．

SEM・TEM 試料作成：培養した *T. cruzi* を10分，2000 rpm で遠沈して集め生食水で洗浄後4％ GA（0.1 M カコジル酸緩衝液 Ph 7.2）で固定，アルコール系列法で脱水，酢酸イソアミルに置換後臨界点乾燥を行い金蒸着した後，日立 S-450 走査型電子顕微鏡で観察した．TEM の試料作成は4％ GA で固定後1％オスミック酸で後固定しアセトン系列法で脱水 Epon 812, 815 の混合樹脂に包埋した．超薄切片を作成後酢酸ウラニルと鉛の二重染色を行ない日立 HU-12 電子顕微鏡で観察した．

Radanil 及び Lampit の投薬方法と観察方法：Radanil, Lampit はまず DEMSO に溶解し3 mg/ml の割合になる様に培養基中に加えた．原虫供試は 37°C で4～5日培養したもので非常に活発な運動を示していた．投薬後も 37°C で培養を続け，1, 3, 5, 18時間後に各々 0.025 ml 宛をスライド上に滴下し5 mm 四方のカバーをかけ検鏡，運動しているものと，運動を停止したものとを区別して算定した．

結果：正常な *T. cruzi* の epimastigote 型の虫体の後端は細長く伸びていてその先端部位は針の様にとがっている．虫体は紡錘状で表面には螺旋状のしまが見られるが，その他には特別な構造は観察されなかった．free flagellum の distal end には特に膨粒は認められない．*T. cruzi* の trypomastigote 型の後端は epimastigote の後端部位程細長くとがっていないが，短くその先端部は鈍である．kinetoplast の存在する部位にはふくらみが見られ，鞭毛は虫体外に出た直後虫体を1回転し，その後は体表に接して前方に進み free flagellum となっている．free flagellum の distal end には膨粒が観察される．*Leishmania donovani* の後端部は *T. cruzi* の様に細長くとがっていなくて，しばしば瘤状を呈している．虫体表面には *T. cruzi* の epimastigote 型に見られる様な螺旋状の構造はなく，縦に溝が観察される．kinetoplast は表面からは見られず flagellum が虫体外に出るところが特徴的である．また free flagellum の distal end には瘤状構造が見られない．投薬後の虫体の変化は 1）posterior end の突出部に変化が見られる．2）虫体の表面に大小の顆粒状の凹凸が見られる．3）虫体は後端部位より崩壊しはじめ少しづつ虫体自身膨潤してくる．4）18時間後は虫体全体の表面の凹凸が激しくなる．*P*-Rosaniline (Inoki, S. et al, 1969) を投与した時の様に kinetoplast の中に dense granules が出現するが kinetoplast nucleus の fibrils には変化はほとんど見られない．更に時間が経過すると細胞内小器官も崩壊しはじめ空胞化が著しくなる．だが subpellicula microtubles の消失後も pellicle, kinetonucleus, flagellum, の形態は幾分残っている．

**追加**　浅井　利勝（阪大・微研・原虫）

*Leishmania enriettii* の *in vitro, in vivo* の微細構造の観察の経験から考えると，虫体細胞質内の微細構造の保存状態はいちぢるしく異なっており，*in vitro* の場合には破壊像が著明で，薬剤による影響とは区別が困難であるように思う．培養する場合，虫体の成長曲線の立ち上り部分付近の比較的早い時期のものを使用した方が，微細構造の観察には向いていると思う．

猪木　正三（奈良医大・寄生虫）

1. まだ実験を始めたところですから検討しますが，対照をとっていますから，観察した変化は Radanil の効果と思います．

2. もちろん，感染マウスに対する Lampit および Radanil の効果についても実験していますが，今回は省略しました．

**質問**　小山　力（予研・寄生虫）

普通 *Trypanosoma* や *Leishmania* を *in vitro* で培養していると自然死した虫体が試験管の底部に沈下し沈積します．そしてこれらの虫体は生虫体に比してかなり形態が変化します．従って，同じような状況下で投薬テストをされておられるようですので，薬剤の影響を受けた虫体と上記の死虫体とは形態の上で区別しがたいのではないかと思われますが，如何でしょうか．

**回答**　猪木　正三（奈良医大・寄生虫）

ご忠告ありがとうございました．今後，更に慎重に観察して行きますが，対照ではあの様な顕著な原虫の変化が認められないと思います．

## 24. *Trypanosoma gambiense* に対する bleomycin の効果に関する研究

小野 忠相，中林 敏夫
大阪大学微生物病研究所原虫学部門

## *Studies on the effect of bleomycin on Trypanosoma gambiense*

*Tadasuke Ono and Toshio Nakabayashi*
*Department of Protozoology, Research Institute for Microbial Diseases Osaka University, Suita*

先に我々は *Trypanosoma gambiense* 感染マウスに neocarzinostatin を注射すると trypanosome の核分裂が阻害され，無核原虫が出現することを報告したが，この薬剤と bleomycin の DNA に対する効果が似ているという報告がある所から，今回の実験では trypanosome に対する bleomycin の効果を調べた．bleomycin は *Streptomyces verticullus* から分離された抗腫瘍性抗生物質であり（Umezawa et al., 1966），皮膚癌に対してすぐれた治癒効果をもつことが知られている．

実験はあらかじめ *Trypanosoma gambiense* に実験的に感染させ，末梢血中に原虫がみられるマウスの腹腔内に bleomycin 10 mg/kg マウス量を注射する方法によって行い，その後，種々な時間に原虫を含む血液をとり，光顕および電顕による観察を行った．その結果，両抗腫瘍性物質 bleomycin および neocarzinostatin はやはりトリパノソーマ原虫に対しても互いに似た効果を示すことが見出された．

光顕観察はギムザ染色を施した血液塗抹標本について行ったが，薬剤投与30分～1時間後というかなり早い時間から核分裂の阻害が始まり，その結果として無核原虫が3～4時間目から見出され，10時間目にはマウス感染原虫の約11%が無核原虫になることがわかった．しかし，kinetoplast の分裂は阻害されず，kinetoplast のない原虫すなわち，dyskinetoplastic form は薬剤投与前と同様1%以下であった．bleomycin で処理された原虫では核分裂の阻害と共に細胞質の分裂も阻害され，そのため，無核原虫を除く全ての原虫は非常に大きくなることがわかった．電顕観察は透過型電顕によって行ったが，核の変化が強くみられ，核膜の微細構造が不明瞭になると共に核小体やクロマチン物質が electron dense な fragments にかわり，更に変化の進んだ核では核膜が消失し，変性した核物質の一部がわずかに痕跡として残っているにすぎないものもみられた．従って無核原虫は核分裂の阻害以外に核の崩壊，消失によっても作られるものと思われる．微小管の変化として pellicular microtubules の異常な形成亢進と pellicular および axonemal microtubules の排列異常がみられた．また一部の鞭毛では細胞質から由来したと思われる大量のライボソーム，vesicles を含むため著しく腫大することがわかった．なお，このような形態的変化の観察中，bleomycin が原虫の増殖をおさえ，殺原虫効果を示すことが見出されたので，この薬剤の感染阻止効果を調べた．実験は $2\times10^3$ の原虫をマウスの腹腔内へ接種し，24時間後，同じく腹腔内へ 10 mg/kg マウス量の bleomycin を注射して行い，感染が予防されるかどうか，あるいは感染が予防出来ず，末梢血中に原虫が出現してもその日数が遅延したり，またマウスの斃死日数が延長するかどうかを検討した．実験の結果，薬剤を注射しないマウスでは原虫接種後の斃死日が平均5.1日目であったのに対して，薬剤注射マウスでは29例中18例，すなわち，約62%では全く原虫が出現せず，感染を阻止出来ることがわかり，また出現した11例でもその平均斃死日は12.4日目であり，遅延することがわかった．

**質問**　渡辺 良雄（筑波大・生物科学）

ブレオマイシン処理で核や kinetoplast DNA の長さには何か変化はございますでしょうか，もしおやりになっていたらお教え下さい．また核分裂の阻害が cytokinesis をおくらすとおっしゃっておられますが，あの電顕像からは division furrow が入った為に核の形がそれに従っているように見えるのですが如何でしょうか．

**回答**　小野 忠相（阪大・微研）

今回の実験段階ではまだ DNA を抽出して調べておりません．また単なる division furrow でなく，細胞の外形が複雑な形となり中に含まれる核の形が似た虫体が電顕で観察されましたので，核分裂の遅延のためにこのような原虫が出現したものと思います．

## 25. *Trypanosoma gambiense* filopodium の電子顕微鏡観察

尾崎 文雄，伊藤 義博，古谷 正人，岡 三希生
徳島大学医学部寄生虫学教室
岡 好万，林 弘三
徳島大学教育学部保健科学教室

## *Electron microscopic observations of filopodia in Trypanosoma gambiense*

*Humio Osaki, Yoshihiro Ito, Masato Furuya and Mikio Oka*
*Department of Parasitology, School of Medicine, the University of Tokushima*
*Yoshikazu Oka and Hiromi Hayashi*
*Department of Health Science, Faculty of Education, the University of Tokushima*

感染マウスの血液から分離した *Trypanosoma gambiense* Wellcome 株の流血型の前端及び後部付近に小線維が認められ，これが Kudo (1946) 以来多くの研究者によって報告された filopodium (F) であることを前回報告した．今回はグルコース加りん酸緩衝食塩液，pH 8.0, $\mu$=0.22 (PBSG) 及び DEAE-Sephadex A-25 (DEAE) で分離，処理した原虫から遊出したＦの微細構造を電子顕微鏡で検討した．

観察方法：原虫は前報（伊藤ら，1978）に準じて PBSG, DEAE 及び免疫血清で処理したものを使用した．走査電子顕微鏡観察には1.25%グルタールアルデヒド及び１%オスミウムで固定した処理原虫を静かに振とうして懸濁させ，0.1%ポリＬリジンで被覆したスライドガラスに乗せ，0.05*M* カコジレート緩衝液で軽くすすぎ，アセトン脱水後臨界点乾燥の上直ちに金蒸着を行った．フリーズレプリカは処理原虫を1.25%グルタールアルデヒドで5C，30分固定，直ちに遠心してペレットとし，これを40%グリセリンに浸漬後液体窒素で凍結，割断し，割面に白金パラジウムを蒸着した．陰性染色は上記処理原虫を1.25%グルタールアルデヒドで軽く固定してマイクログリッドに乗せ，直ちにりんタングステン酸，pH 7.2 で染色した．超薄切片標本には1.25%グルタールアルデヒド及び１%オスミウムで固定，エポキシ樹脂包埋した原虫を使用した．なお一部免疫マウスの血清も処理液に用いた．

成績：PBSG, DEAE 及び免疫マウス血清で処理した原虫の走査電顕観察で，Ｆは原虫前端及び flagellar pocket (Fl-p) 近辺から発し，太さ約 50 nm であった．免疫血清ではそのほとんどが Fl-p 付近から出，太さ 100〜150 nm の数珠状を呈した．PBSG 及び DEAE 処理原虫の凍結割断によるレプリカの観察は Branton et al. (1975) に準じ protoplasmic face（Ｐ面）及び external face（Ｅ面）について行い，膜面に見られる intramembraneous particle (IMP) の大きさ及び分布についてＦ粒子と比較計測した．Ｆは明らかに外層及び内質からなり，凍結割断による割面は常にこれらの境界面を現し，まれにＦ表面（外層表面）が観察できた．IMP の分布は原虫体部のＰ面に最も多く，Ｅ面がこれに次いだ．べん毛の膜面は体部とやや異なり，そのＰ面が体部のＥ面と類似し，べん毛のＥ面における IMP は最低密度を示した．Ｆに分布する粒子の大きさは約 10 nm で，原虫体部及びべん毛の IMP とほぼ同じであった．Ｆ外層の横断像は原虫細胞外層像と極めて類似し，いずれも粒子が一列に配列していた．Fl-p の横断像はＦが明らかにべん毛の外層から派生したことを示した．超薄切片像ではＦの外層と細胞膜外層との共通点は明らかでなかったが，陰性染色したＦの外層には細胞膜における３層（外層・疎水層・内層）構造は認められなかった．

以上から少なくとも Fl-p から派生したＦは細胞膜外層由来のものと考えられる．Vickerman (1969) はＦ (plasmaname と呼ぶ) が特異抗体と反応する点からその原虫由来性を証明し，exoantigen との関係についても示唆した．本原虫が宿主に侵入後抗原変異を起こし，

Fを派生，遊離すると考えれば，宿主血液中に見られる原虫性物質とFとの同一性がうかがわれるので，この点を更に究明したい．

**質問** 浅見 敬三（慶応大・医・寄生虫）

演題(4)にあるフィラメント様構造物とは同一物か異物か．

**回答** 尾崎 文雄（徳島大・医・寄生虫）

口演を聞いていないので講演要旨からは同一か否か判断しかねます．

## 26. モルモットに寄生する *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 the guinea pig*

*Motohiro Iseki, Isao Kimata and Suehisa Takada*
*Department of Medical Zoology, Osaka City University Medical School*

*Cryptosporidium* は胞子虫類の *Coccidia* に属する寄生性原虫である．従来，マウスから2種，シチメンチョウ，ニワトリ，モルモット，子羊，子牛およびガチョウからそれぞれ1種の合計8種が独立種として報告されていたが，昨年の本学会第12回大会において，演者らはネコに寄生するこの原虫について，その形態，発育史，感染経路，特に oocyst が糞便中に排出されることなどを明らかにし，その後，これを新種 *C. felis* として報告した．また，種は同定されていないが，本属原虫がウサギ，ブタ，アカゲザルにも感染がみられるという報告があり，最近，ヒトでもこの原虫の寄生によって惹き起された激しい下痢患者の症例が報告されている．

モルモットからは1971年に *C. wrairi* 1種が報告されている．光学顕微鏡，電子顕微鏡，糞便検査，感染実験などによってかなり詳細な観察を行なっているが，この場合，感染部位は小腸に限られ，oocyst の存在は不明としている．

今回，演者らは実験動物として業者から購入したモルモットに本属原虫の自然感染例をみとめ（以下この原虫をC-GPと言す），その発育各期の形態を光学顕微鏡および一部電子顕微鏡で観察し，*C. felis* および *C. wrairi* と比較した．

C-GP は他種 *Cryptosporidium* と同じく，宿主の腸管上皮細胞の微絨毛内に寄生して，parasitophorous vacuole 内で schizogony, gametogony を行なう．1コの trophozoite は schizogony の結果8コの merozoite を生ずる．merozoite は長さ4～5μm，巾0.7～1μm のバナナ状で，その一端近くに1コの核を有する．この merozoite の形態は *C. felis* とは差異なく，*C. wrairi* のそれ（3.0～5.0×0.4μm）よりも巾が広い．macrogamete は径約5μm のだ円形で，1コの大きな核を有し，細胞質は Giemsa 染色で顆粒状あるいは海綿状に濃淡に染る．1コの microgametocyte からは16コの microgamete（約0.7×0.3μm）が形成されるが，鞭毛の有無は確認できなかった．これら macrogamete および microgamete の形態は *C. felis* および *C. wrairi* と顕著な差異は認められなかった．

寄生部位は，*C. felis* および *C. wrairi* が小腸に限られるのに対して，C-GP は小腸，盲腸および大腸の全域におよんでいた．

C-GP 感染モルモットの糞便検査を硫酸亜鉛遠心沈澱浮遊法でおこなったところ，大きさ4～5×4～4.5μm のだ円形，無色の oocyst 様物体を多数検出した．その内部構造は，小さいので光学顕微鏡ではよく判別できないが，直径0.5～1μm の白く抜けてみえる球状体と，その回りを取りまく構造物からなっている．全体の大きさは *C. felis* の oocyst と大差ないが，この oocyst 様物体の表面には直径約2μm，高さ0.5～1μm の円錐台形状の突出部が1箇所存在することである．このような突出部は *C. felis* の oocyst にはみられなかった．この oocyst 様物体が真に C-GP の oocyst であるかどうかの確認は電子顕微鏡で現在検討を行なっている．

**質問**　　浅見　敬三（慶応大・医・寄生虫）

糞便中に出現する merozoite を検出できないでしょうか．

**回答**　　井関　基弘（阪市大・医・医動物）

浮遊集シスト法で検便を行なったので merozoite は検出されませんでした．

**質問**　　角田　　清（家畜・衛・試）

1. モルモット間で passage できますか．
2. 実験動物に感染の可能性がありますか．

**回答**　　井関　基弘（阪市大・医・医動物）

1，2共に現在検討中です．

**質問**　　小山　　力（予研・寄生虫）

1. モルモットの自然感染はどの程度に認められるものでしょうか．
2. 検査されたモルモットはどのような条件のものでしょうか．breeding condition, strain, age などお教え下さい．

**回答**　　井関　基弘（阪市大・医・医動物）

実験動物業者から購入したハートレイ系で，離乳後できるだけ早い時期のもの（体重160～200g）を使用した．購入後は1ケージ1匹とし，固型飼料と水で飼育，毎日糞便検査を行なった．24匹中約半数に自然感染が認められた．

## 27. トキソプラズマの細胞侵入における $Mg^{2+}$，単糖依存性

田辺　和裄，木俣　　勲，高田　季久
大阪市立大学医学部医動物学教室

## *Penetration of Chick Embryo Erythrocytes by Toxoplasma gondii in Simplified Incubatin Media : Penetration Enhancing Effect by $Mg^{2+}$ and Monosaccharides*

*Kazuyuki Tanabe, Isao Kimata and Suehisa Takada*
*Department of Medical Zoology, Osaka City University Medical School*

*Toxoplasma gandii* は宿主細胞への侵入に際して宿主細胞膜と複雑で密接な相互関係を持つ（1，2）．侵入のメカニズムをさらに解析していくにはできるだけ簡単な実験系の確立が必要である．そのために私達は Chick Embryo Erythrocyte（CEE）を宿主細胞に選び，*Toxoplasma* の細胞侵入条件を検討してみた．CEE を選んだ理由は，多くの培養細胞とちがい，細胞表面の形態や cell cycle phase が均一な集団で，さらに相互が非吸着性で，核の活性もなく，簡単な塩溶液で比較的長時間 intact であるからであり，これらの点は，*Toxoplasma* の細胞侵入の機構の考察においてより特異的な events を解析しやすくすると思われるからである．今回では，*Toxoplasma* の CEE への侵入能力を各種培地・塩溶液で比較し，その結果，単糖と $Mg^{2+}$ が侵入促進をしていることがわかった（3）．

CEE は17～20日余の受精卵より集め，PBS（pH 7.2）で3回洗った．*Toxoplasma* は RH 株を用い，継代3日目マウス腹水より集め，セルロースパウダーで腹水細胞を取り除いた（4）．CEE や *Toxoplasma* は無血清培地ではプラスティックシャーレに吸着されるので，シャーレ（Falcon 社，35mm）を1％アルブミンでオーバーナイト前処理した．各シャーレには，Test Media, CEE（$5\times10^6$ 個），*Toxoplasma*（$10^7$ 個）を入れ（2ml），3，5時間，37°C，5％ $CO_2$ in air でインキュベートした後，ギムザ染色により侵入率を算えた．

始めに *Toxoplasma* の CEE への侵入率を Eagle's MEM（牛胎仔血清＋，－），Hanks' BSS, PBS で比較した．結果では，血清添加で50％阻害され，Hanks' BSS でも非常に良く侵入が見られたが，PBS では殆んどなかった．Hanks' BSS にはグルコース（Glc）や2価陽イオンがあるので，それらの影響を調べたところ，5～20mM の Glc を PBS に添加すると，無添加時よ

り約10倍も侵入率が上昇した．そこに 0.1～1 mM の $Mg^{2+}$ を加えるとさらに著しく上昇した．この様な侵入促進的効果は PBS-Glc への $Ca^{2+}$ 添加や $Mg^{2+}$ 単独（Glc のない時）では見られず，EDTA により打ち消された．また，Glc 以外の単糖ではマンノースが同程度に効果的で，以下フルクトース，キシロースの順で，ガラクトースでは促進的作用はなかった．

以上から，*Toxoplasma* の CEE への侵入には単糖と $Mg^{2+}$ が促進的に働くことがわかった．現在，この効果が，CEE と *Toxoplasma* の接着（吸着）の段階，あるいは侵入の段階に効いているのかを検討中である．

*Toxoplasma* の宿主細胞侵入の機構の解析には従来まで全て培養細胞が用いられてきた．しかし，培養細胞はこの目的には材料として不利な点が多い．例えば同クローンの細胞であっても cell cycle phase や surface topography がちがい，これらが侵入に影響を与える可能性がある．事実，赤血球のわずかな成熟度の相違が侵入性の変化をきたすことがわかっている (5)．その点，先にも述べた様に CEE はお互いが非吸着性であったり，表面形態や Cell cycle phase が均一な集団であるので，*Toxoplasma* の特異的細胞侵入機構を解析する上で非常に良い細胞であると言える．

〔文献〕

(1) Jones, T. C., S. Yeh and J. G. Hirsch. (1972) J. Exp. Med. **136** : 1157～1172.
(2) Aikawa, M., Y. Omata, T. Asai and O. Midorikawa. (1977) Am. J. Pathol. **87** : 285～296.
(3) Tanabe, K., I. Kimata and S. Takada. (1980) J. Parasit. (in press)
(4) Tanabe, K., I. Kimata, Y. Tabuse, M. Furusawa and S. Takada. (1978) Exp. Parasit. **46** : 72～82.
(5) Tanabe, K., T. Asai, I. Kimata and S. Takada. (1979) J. Gen. Microbiol. **113** : 433～437.

**質問**　丸山　正（都立大・理・生）

$Mg^{++}$, Glucose の運動性への関与はいかがですか．

**回答**　田辺　和術（阪市大・医・医動物）

定量化することはできておりませんが，運動性に関与している様です．トキソプラズマのニワトリ胚赤血球への接着の段階に効いているのか，侵入の段階に効いているのかは現在検討中です．

## 28. ホルマリン固定 *Toxoplasma* 免疫マウスに耐性する strain 分離の試み

矢野　健一，中浜　肇，中林　敏夫
大阪大学微生物病研究所原虫学部門

## *Trying on isolation of Toxoplasma strain resistant to mice immunized with formalinized Toxoplasma*

*Kenichi Yano, Hajime Nakahama and Toshio Nakabayashi*
*Department of Protozoology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, Suita*

マウス (ddo) を1%ホルマリン固定 *Toxoplasma* で免疫すると（免疫マウス），*Toxoplasma* (Toxo) 感染 ($5\times10^5$/mouse) に対して，$1\times10^2$/mouse の Toxo を感染させた場合と同程度の延命効果を認める．これは，感染した Toxo の多くは，免疫マウスの生体防御機構により殺されるが，一部は，Toxo の抗原の表現型の修飾を起し，免疫マウスの生体防御機構より逃れ，増殖し得ると仮定した．それなれば，免疫マウスに Toxo を継代していくと，ホルマリン固定 Toxo で免疫されたマウスに抵抗性のある Toxo 抗原の修飾された strain のみを分離できるのではないかと思われ，以下の実験を行った．

免疫マウスは，1%ホルマリンで殺した Toxo を，$1\times10^7$/mouse 隔週4回腹腔中に注射したものを使用した．感染は，最後の免疫注射後，一週目に腹腔中接種により行った．Toxo のマウスに対する感染の程度は，延命効果より以上の小さな変化を見逃さない為に，腹腔中の Toxo の総数で表わした．これは 2 ml の Alsever 液

を腹腔に注入後，十分に外部より攪拌した後，回収した．回収を完全に行う為に，腹部の皮フを一部切除し，腹筋を通して内部の液の存在の有無を確認しながら回収した．回収腹腔洗浄液中の Toxo の総数を数え，その平均値でもって growth curve として表わした．

免疫マウスでは，正常マウスにくらべて，増殖の早さと，マウス当りの Toxo の総数が，有意に押えられ，二日間の延命効果が認められた．免疫マウスより回収した Toxo を，さらに免疫マウスに接種すると，予想に反し，Toxo の増殖に対するより強い抑制効果が認められた．Toxo を免疫マウスに継代すれば，増殖抑制効果が，さらに強まるかどうかを調べる為に，ホルマリン固定 Toxo 二回免疫による免疫マウスを用意し，以後10週継代したが，5代目より抑制効果の増強は，認められなくなった．免疫マウス10代継続した Toxo を正常マウスに接種すると，対照の Toxo にくらべあきらかに増殖の抑制が認められたが，1代限りであった．

これらのことは，Toxo の high virulent strain から cyst 産生の low virulent strain への幅広い virulence の変化を説明する一助となると思われる．Toxo は種々の条件に適応できる種々の潜在的 clones を有する原虫であり，免疫マウスのように，増殖の困難な環境の下では，増殖程度はおそくとも，免疫機構に抵抗できる clone が主として増殖しはじめ，今までの tachyzoites にとって代る．この抑制条件がさらに強まれば，増殖スピードは，より遅いが，生体防衛機構に完全に抵抗できる cyst formation の strain へと分離されるのではないだろうか．また cyst form の Toxo も，接種を頻回にくり返すと，増殖性の早い clone の方に片寄り high virulent に変化して行くと考えられる．中間程度の virulent strain では，clones の分離が完全でなく virulence の固定が困難になると考えられる．

今回の実験では，Toxo を免疫マウスに継代することにより，cyst formation を行うまでには至らなかったが，中程度の virulence の低下を引き起すことができた．これらは，Toxo の high virulent strain から low virulent strain の間の種々の strains についての変化を説明するに値いする現象と思われる．

## 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 | 藤田潯吉 |
| 第２回 | 吹田市 | 昭和43年 | 猪木正三 |
| 第３回 | 広島市 | 昭和44年 | 尾崎佳正 |
| 第４回 | 東京都 | 昭和45年 | 松林久吉 |
| 第５回 | 徳島市 | 昭和46年 | 尾崎文雄 |
| 第６回 | 仙台市 | 昭和47年 | 樋渡宏一 |
| 第７回 | 奈良市 | 昭和48年 | 稲葉文枝 |
| 第８回 | 東京都 | 昭和49年 | 石井圭一 |
| 第９回 | 大阪市 | 昭和50年 | 高田季久 |
| 第10回 | 東京都 | 昭和51年 | 盛下　勇 |
| 第11回 | 岐阜市 | 昭和52年 | 野沢義則 |
| 第12回 | 横浜市 | 昭和53年 | 斎藤　実 |
| 第13回 | 吹田市 | 昭和54年 | 中林敏夫 |

学会事務局よりのお知らせ

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

学会会長　猪木正三

（庶務）尾崎文雄，（会計）中林敏夫

（編集）高田季久

雑誌編集　（長）猪木正三，高田季久，中林敏夫，尾崎文雄，事務局より小野忠相を加える．

（会計監査）野田亮二，斎藤　実

## ニ　ュ　ー　ス

1979 Ciliate genetics & Cell biology meeting が1979年７月15日から18日までカリフォルニア大学で開かれましたが，樋渡宏一博士（東北大・理・生物）からプログラムの掲載を依頼されましたので，御紹介致します．

### PROGRAM

## 1979 CILIATE GENETICS & CELL BIOLOGY MEETING

Conjugation　Chairman : Peter Bruns

A. Introductory Comments

Peter Bruns—The Developmental Sequence of Conjugation

B. Solo Events

Audrey Barnett and Ed Steers—Using antibodies that block the mating reaction in *P. multimicronucleatum* to fractionate soluble extracts of reactive cells.

C. Cellular Interactions

1. General

Akio Kitamura—Inactivation of ciliary movement and induction of conjugation in paramecium by LIS membrane vesicles.

Jason Wolfe—The role of an extracellular factor in cell interactions during mating in tetrahymena.

Toshiro Sugai—Synchronization of conjugation and meiosis in tetrahymena.

2. The Role of Mating Types

Jean Finley—Costimulation in tetrahymena : A non-specific response to heterotypic cell-cell

interactions.

Yuuji Tsukii—New approaches to the mating type genetics in *Paramecium caudatum* by intersyngen crosses.

D. Chemical Induction

Yoshiomi Takagi—Timing of nuclear changes triggered by chemically-induced cell unions in conjugation of *P. multimicronucleatum.*

E. Pair Formation

Tsuyoshi Watanabe—Local deciliation during conjugation in paramecium.

Mihoko Takahashi—Electrical coupling in conjugating pairs between CNR and wild type.

F. Nuclear Events

Dieter Ammermann—Conjugation in *Stylonychia mytilus.*

Bob Hinrichsen—Temperature sensitive cross-fertilization mutant in *P. tetraurelia.*

Eileen Hamilton—Pronuclear fusion failure induced by vinblastine in conjugating tetrahymena.

G. Macronuclear Development

Steven Scholnick—High temperature kills tetrahymena during macronuclear development.

Kristen Mayo—Galactokinase activity in tetrahymena : Lack of vegetative micronuclear gene expression and time of appearance at conjugation.

Evolving Genetic Methods   Introductory Comments : Eduardo Orias

Duane Martindale—Two methods for enriching for temperature sensitive mutants in *Tetrahymena.*

Eduardo Orias—Recessive-mutant isolation in *Tetrahymena* using 2-deoxygalactose resistance to select for excytogamous progeny.

Miriam Flacks—Freezing *Tetrahymena* in minitubules.

.....................................................................

Differentiation and Regulation Chairman : Paul Doeder

Lloyd Epstein—The natural variability in the interautogamous interval among stocks of *P. primaurelia.*

Dennis Nyberg—Variability in breeding systems in tetrahymena.

Koji Myohara—Mutants of sexual maturity in *Paramecium caudatum.*

Nobuyuki Haga—Purification and partial characterization of the immaturity substance in Paramecium.

Isoji Miwa—Immaturity substances in *Paramecium primaurelia* and their specificity.

Sadaaki Koizumi—Mating type transformation by the injection of macronucleus in *P. tetraurelia.*

Donal Hayes—Strain dependent variation in the ribosomal proteins of Tetrahymena.

Linda Hufnagel—Cortical rough ER in Tetrahymena : Ultrastructural evidence for site-of-utilization matched protein synthesis (SUMPS).

Dieter Ammermann—Gene activities in the macronucleus of *Stylonychia mytilus.*

Joel Lavine—Altered regulation of galactokinase in a hexokinase deficient mutant.

Charles Roberts—Dual regulation of carbohydrate-metabolizing enzymes by glucose and tyrosine.

Paul Doerder—Regulation of i-antigen expression in *Tetrahymena thermophila.*

.....................................................................

Nuclei : Structure & Function; Evolution Chairman : David L. Nanney

Introductory Comments—David L. Nanney

Klaus Heckmann and Akio Miyake—Meiosis in blepharisma.

Dieter Ammermann—News about the macronucleus of *Stylonychia mytilus.*

Joan Smith-Sonneborn—DNA repair, damage and clonal life span in *Paramecium tetraurelia.*

Setsuko Karino—Clonal aging and death after conjugation in *Paramecium caudatum.*

Terue Harumoto—Microinjection of synkaryon in *Paramecium caudatum.*

Mikami Kazuyuki—Macro- and micronuclear differentiation in the exconjugants of *Paramecium caudatum.*

Stephen Ng—Laser enucleation : How and why.

Jason Wolfe—On the non-chromatin skeletal substructure of the macronucleus of tetrahymena.

Peter Bruns—Creating and using nullisomics in tetrahymena.

Yvonne Sanford—"Phenylketonuric" tetrahymenas.

Thomas Cech—Transcription and processing of rRNA in tetrahymena.

Kathleen Karrer—Chromatin structure of the ribosomal RNA genes of tetrahymena as analyzed by in vivo trimethylpsoralen crosslinking.

.....................................................................

Morphogenesis Chairman : Joseph Frankel

A. Introductory Comments—Joseph Frankel

B. Tetrahymena

Karl Aufderheide—Mitochondrial-microtubule interaction in *T. thermophila* : Cytotactic development of a cortical pattern.

Stephen Ng—The stability of ciliary rows in *T. thermophila* : A study employing inverted ciliary rows.

E. M. Nelsen, E. Martel & J. Frankel—Dynamics of ciliary rows in *T. thermophila.*

Linda Hufnagel—(a) Freeze-fracture analysis of oral replacement.
(b) Membrane-cytoskeletal interactions during positioning of basal bodies and other cortical organelles in Tetrahymena.

C. Stylonychia and Other Hypotrichs

Robert Hammersmith—Propagation of ciliary patterns in abortive conjugants of *Oxytricha fallax.*

Gary Grimes—(a) Regenerative morphogenesis in longitudinal fragments of *Stylonychia* and *Pleurotricha.*
(b) Fate of ciliary proteins during asexual reproduction and encystment.

.....................................................................

Membrane Phenomena-Behavioral Genetics Chairman : Judith Van Houten

Introductory Comments—Judy Van Houten

Ching Kung—Rotation of the pair of central tubules during the beating of cilia.

Mihoko Takahashi—Behavioral mutants of *Tetrahymena thermophila.*

Bruce Byrne—bp-2. The origin and genetics of a second-site suppressor of the pawn B phenotype.

Koichi Hiwatash—Restoration of membrane function in a behavioral mutant of *P. caudatum*

by microinjection of wild-type cytoplasm.

Don Cronkite & Leah Brower—Acclimation of *P. tetraurelia* to high concentrations of sodium.

Helen Hansma—Evidence for a calcium channel mutation in the $K^+$-resistant mutants of *Paramecium.*

Judy Van Houten—Membrane potential changes during chemokinesis of *Paramecium.*

Barbara Byrne—Ultrastructural observations of ciliary plaque morphology in paranoiacs and related mutants of *P. tetraurelia.*

André Adoutte—Ciliary membrane proteins of *Paramecium.*

Richard Allen—Membrane reutilization in ciliates.

Linda Hufnagel—Paracrystalline IMP arrays in the plasma membrane of *Tetrahymena.*

..................................................................

Mitochondria & Symbionts  Chairman : Donald Cummings

Introductory Comments—Don Cummings

André Adoutte—(a) Mitochondrial genetics in Paramecium (film).
(b) Present status of recombination and nuclear-mitochondrial interaction in *Paramecium.*

Don Cummings—Restriction enzyme analysis of mitochondrial DNA from *Paramecium.*

Arthur Jurand—Investigation of the killing action by killer paramecia.

Klaus Heckmann—What makes killers resistant against their own toxin.

## 昭和54年度トリコモナス研究会記事

昭和54年度トリコモナス研究会は，慶応大学医学部浅見敬三博士のお世話で，次のような会合がもたれた．

**日時**　昭和55年1月19日（土）15：00〜18：30

**場所**　東京都千代田区霞ケ関3—2—5東海大学校友会館

**演題**

1. トリコモナス感染におけるエストロゲン因子

社会保険神戸中央病院　産婦人科　　青　河　寛　次

2. トリコモナス及びトリコモナス症について

東海大学医学部　泌尿器科　○河　村　信　夫
大　越　正　秋

3. トリコモナスにおけるリンゴ酸に関連した酵素及びメトロニダゾールの作用機構

慶応大学医学部寄生虫学教室　○田　辺　将　信
浅　見　敬　三
小　林　正　規
藤　原　達　司

関係者の御努力により，ながく続けられてきました本研究会も今回をもって休会にすることがきまりました．

## 日本原生動物学会会則

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

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

第3条　第2条の目的を達成するために，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13巻，第1号をお届けします．諸物価高騰の折から，本誌の印刷も次第に窮屈になってまいりましたが，編集委員，なかでも主としてその業務を担当されている小野忠相博士の御努力により，本号が無事発行されたことを会員の皆様方とともにお喜びしたいと存じます．本年より，印刷紙面の節約の意味も兼ねて，英文会員名簿を隔年掲載に改めましたので御了解下さい．

ニュースとして樋渡宏一博士より寄せられた繊毛虫遺伝学および細胞生物学会議（カリフォルニア大学，昭和54年7月15～18日）の内容を紹介しました．又，昭和54年度トリコモナス研究会（東海大学校友会館，昭和55年1月19日）の記事が記載されています．本研究会が本年限りで休会となったことは誠に残念なことで，一日も早い復活を希望致したいと存じます．原生動物研究に関するニュース，学会プログラム等を今後も御連絡いただけば幸です．

本会の円滑な運営，本誌の継続的な発行のため，会員の方々の御協力をお願いすると同時に，新会員の勧誘にも御配慮いただきますよう切望致します．　　　　　　　　　　　　（中林）

原生動物学雑誌　第13巻 第1号
The Japanese Journal of Protozoology Vol.13 No.1
昭和55年8月15日　印刷
昭和55年9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：進行印刷出版株式会社
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