

昭和56年10月
October 1981

原生動物学雑誌

第14巻 第1号

*the Japanese Journal
of Protozoology*
Vol. 14 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14巻第1号

目 次

第14回日本原生動物学会大会概況

講演目次

特別講演 生体膜研究とテトラヒメナ細胞……………野 沢 義 則

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

Committee of the Japan Society of Protozoology

Shozo Inoki (President)

Keizo Asami, Humio Osaki, Tsutomu Koyama, 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)

日本原生動物学会大会概況

大会長 渡辺良雄博士

会場 筑波大学生物科学系
茨城県新治郡桜村

会期 昭和55年11月28日(金)・29日(土)

日程

第1日 11月28日(金)

13:20 開 会
13:30~18:00 一般講演(1~16)
18:00 懇親会

第2日 11月29日(土)

9:30~12:00 一般講演(17~26)
12:00~13:00 昼食
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(26~35)
17:05 閉会

講演目次

特別講演

生体膜研究とテトラヒメナ細胞……………野 沢 義 則 (岐阜大・医・生化)

一般講演

1. 海浜における原生動物の動態
VI. 新潟産殻アメーバ類……………鈴 木 実 (日大・法・生物)
2. 活性汚泥棲原生動物群集の実態について……………角 本 正 明 (環境調査技術研)
3. 所謂“淡水赤潮”について……………林 伸行, 浅井 良紀, 盛下 勇 (環境調査技術研)
4. 相模湾産 *Ceratium* 属の形態と分類……………芹沢 直樹, 齊藤 実 (横浜国大・教育・生物)
5. 複染色した *Trypanosoma* の cytospectrophotometry 第2報
……………猪木 正三 (奈良医大・寄生虫), 尾崎 文雄, 古谷 正人 (徳島大・医・寄生虫)
6. *Trachelomonas playfairi* DEFLANDRE について……………小 国 昭 信 (神戸常盤短大)
7. *Tritrichomonas muris* の偽嚢子とその宿主内形態変化
……………黒木 俊郎, 深津 祐子, 小山 力 (国立予研・寄生虫)
8. *Tritrichomonas muris* の偽嚢子の宿主内形態変化の電顕的観察
……………小山 力, 黒木 俊郎, 深津 祐子, 朝日 博子 (国立予研・寄生虫)
9. グレガリナ類のシストの微細構造について……………星 出 一 巳 (山口大・教育・生物)
10. トリカメーバに及ぼす浸透圧の影響
……………大島 範子¹⁾, 石井 圭一²⁾, 菅野 文和²⁾ (1) 東邦大・理・生物, 2) 法政大・教養・生物)
11. 人工ルーメンにおける原生動物個体群の外部攪乱に対する応答について
……………安倍 正史, 栗原 康 (東北大・理・生物)
12. テトラヒメナの最大密度を規制する化学的, 物理的因子
……………齊藤 忠雄, 浅井 博 (早大・理工・物理)
13. ゾウリムシの「走周性」について……………鶴川 義弘, 樋渡 宏一 (東北大・理・生物)
14. ゾウリムシの負の走地性は, かんたんな運動方程式で記述できる
……………福井 啓二, 浅井 博 (早大・理工・物理)
15. 殺したゾウリムシに対するディディニウムの捕食行動
……………堀上 英紀, 石井 圭一 (法政大・教養・生物)
16. *Ceratium* の縦鞭毛引込運動と Ca^{2+} Ca^{2+} チャンネル阻害剤の効果

-丸 山 正 (都立大・理・生物)
17. 胞子虫のライフサイクルとセレクション.....阿 部 弘 和 (山口大・教育・生物)
18. *Toxoplasma gondii* tachyzoite の細胞内侵入, 増殖過程における Neocarzinostatin の及ぼす影響.....小俣 吉孝¹⁾, 八神 純一¹⁾, 中林 敏夫²⁾ (1) 筑波大・基礎医学, 2) 大阪大・微研・原虫)
19. *Toxoplasma gondii* 細胞画分免疫マウスの細胞性並びに体液性免疫応答に対する cyclophosphamide の効果.....尾崎 文雄¹⁾, 伊藤 義博¹⁾, 古谷 正人¹⁾, 岡 三希生¹⁾, 長沢 秀行¹⁾,
岡 好万 (1) 徳島大・医・寄生虫, 2) 徳島大・教養・保健科学)
20. *Trypanosoma* の K-DNA 及び N-DNA の *in situ* microfluorometry
第2報 抗癌性物質 neocarzinostatin 及び bleomycin の影響
.....猪木 正三¹⁾, 尾崎 文雄²⁾, 岡 三希生²⁾, 古谷 正人²⁾, 古谷 正人¹⁾ (奈良医大・寄生虫, 徳島大・医・寄生虫)
21. テトラヒメナ細胞の中性プロテアーゼの精製と性質
.....坂野 喜子, 矢野 高, 野沢 義則 (岐阜大・医・生化)
22. 高水圧によってひきおこされるクラミドモナスの脱ペン毛
.....佐藤 忠文, 村上 哲英 (香川医大・生物)
23. 太陽虫における軸足内の新しい繊維構造
.....重中 義信, 洲崎 敏伸, 豊原 明, 矢野 和秀, 岩田 昌子 (広島大・総科・情報)
24. 繊毛虫 *Paramecium* 及び *Tetrahymena* の接合域形成過程
.....菅沼 美子, 下出千栄子 (奈良佐保短大)
25. ゾウリムシの接合活性と水面及びポリスチレンペトリ皿に対する接着性
.....北 村 昭 夫 (東北大・理・生物)
26. ゾウリムシ (*P. tetraurelia*) の交配型決定について
.....小泉 貞明, 見上 一幸, 小林 純子 (宮城教育大・理教研)
27. ゾウリムシにおける接合型の多型について.....月井 雄二, 樋渡 宏一 (東北大・理・生物)
28. ゾウリムシにおける大核と小核の分化 (Ⅲ)見 上 一 幸 (宮城教育大・理教研)
29. 核移植を用いてのゾウリムシにおけるクローンエイジングの研究
.....狩野 節子, 樋渡 宏一 (東北大・理・生物)
30. ゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) における Cytogamy の人為的誘導
.....左野真理子, 高橋三保子 (筑波大・生物科学)
31. *Paramecium caudatum* の trichocyst non-discharge mutants とその遺伝解析
.....武居 克明, 樋渡 宏一 (東北大・理・生物)
32. ゾウリムシの膜興奮性に関与する *cnr C* 遺伝子座産物の分離
.....樋渡 宏一, 芳賀 信幸 (東北大・理・生物)
33. ユーグレナの細胞分裂 とくに鞭毛の挙動と分裂面について
.....斉 藤 実 (横浜国大・教育・生物)

34. *Tetrahymena thermophila* の細胞分裂に関する温度感受性突然変異株の単離細胞を用いた作用点の解析……………田村 良二, 渡辺 良雄 (筑波大・生物科学)
35. *Tetrahymena thermophila* の細胞分裂に関する温度感受性突然変異株の温度同調による作用点の解析……………渡辺 良雄, 田村 良二, 保田 友義 (1) 筑波大・生物科学, 2) 国立予研・技術)

 特別講演

生体膜研究とテトラヒメナ細胞

野 沢 義 則

岐阜大学医学部生化学教室

Tetrahymena as a useful tool for studies on biological membranes

Yoshinori Nozawa

Department of Biochemistry, Gifu University, School of Medicine

近年、複雑な多細胞系生物の膜現象をより単純化した細胞系において理解しようとする試みが積極的になされている。そのなかで、テトラヒメナ細胞は膜系が高度に発達・分化しているうえに、分離および標識（放射性同位元素、蛍光プローブ、スピンプローブ）が容易におこなえることから、諸種の生体膜研究にとってきわめて有用性の高いモデル細胞と考えられる。ここでは、そのなかのいくつかについて我々の教室で得られた知見を中心に述べる。

1) 各膜系の化学構成と構造の特異性

テトラヒメナ細胞から 0.2M リン酸緩衝液を用いて Nozawa & Thompson の方法によって各種膜系を系統的に分離することができ、外皮膜、ミトコンドリア、ミクロゾーム、繊毛膜などが得られる。なお、これらの膜系には特異脂質であるエーテル型リン脂質と C-P 結合を有するホスホノリピドが多く含まれており、また中性脂質としてもトリテルペンのテトラヒマノールが主成分である。とくに表面膜系（繊毛膜と外皮膜）はこれらの特異脂質を豊富に有し、膜の安定化効果を発揮していると推測される。膜の動的構造も脂質構成を反映して膜の種類によって固有の流動性を保持している。たとえば、ステアリン酸プローブを用いた電子スピン共鳴スペクトル法 (ESR) やジフェニルヘキサトリエン (DPH) を用いた蛍光偏光測定法によって分離した各膜系を調べると、繊毛膜<外皮膜<ミトコンドリア<ミクロゾームの順に流動性が大きいことが示された。一方、フリーズ・フラクチャ電顕による膜粒子密度指標法 (PDI) からも各膜の動的構造の差が確認された。

2) 膜脂質の修飾 (modification)

本細胞は膜脂質がかなり随意に変化させること（修飾）ができるために、膜脂質に依存した動的構造と膜機能の相関を調べるのに好都合な材料である。修飾法には大別して *in vivo* 法と *in vitro* 法とがあり、前者として細胞培養液中に諸種の物質（ステロール、脂肪酸、リン脂質およびその前駆体など）を添加する方法 (supplementation), 生育温度を変える方法 (temperature acclimation), 飢餓下培養 (starvation) や脂質代謝阻害剤 (CPIB, トリパラノール, アルコール) などがあり、後者の例としては、分離した膜にホスホリパーゼを作用させて特異リン脂質を分解したり、リポソームを融合させてリン脂質を組みこむ方法や水素添加によって不飽和脂肪酸を減少させる方法などがある。このようにして脂質修飾を施された膜では、流動性にも変化が生じ、たとえば不飽和脂肪酸添加によって流動性の大きな膜に変わったり、エルゴステロール添加によって逆に流動性の低い膜状態になる。

3) 膜結合酵素と動的構造の相関

テトラヒメナの膜結合酵素として、外皮膜の Na^+-K^+ ATPase, アデニル酸シクラーゼ, グアニル酸シクラーゼ, 5'-ヌクレオチダーゼ, ミトコンドリアのチトクロームオキシダーゼ, ミクロゾームのグルコース-6-ホスファターゼ, 脂肪酸不飽和化酵素などが膜の物性と関連してよく研究されている。このなかで、5'-ヌクレオチダーゼは ecto 酵素とも呼ばれるように膜との相互作用が他の酵素に比べて強固でないために、アレニウスプロットにおいて活性化エネルギーの転移点が見られない。そ

6 特別講演

れに反して、膜にかなり強く結合している酵素はその部位の膜状態に依存して活性が変化することがある。たとえば、不飽和化酵素、シクラーゼおよびグルコース-6-ホスファターゼはその主な例である。したがって、膜脂質の修飾をおこない膜流動性を変えることによって、これらの膜酵素の活性は影響を受ける。ところで、グアニル酸シクラーゼが外皮膜に局在していることは本細胞に特有なことで、しかもこの酵素がカルモジュリンによって活性調節がなされていることも最近明らかにされた。

4) 膜脂質の環境適応機構

テトラヒメナ細胞を高温 (39°C) で生育させて後に低温 (15°C) にシフトすると、膜脂質構成に著しい変動が生じる。なかでも、低温シフト後短い期間 (2~4 時間) における C16:1 の増加が顕著であり、ついで 18:2, 18:3 の増加が開始する。前者のプロセスを迅速適応 (quick adaptation) あるいは緊急適応 (emergency adaptation), 後者を遅発適応 (late adaptation) または補足適応 (supplementary adaptation) として便宜上区別している。この 16:0→16:1 の変種を司るパルミトイル CoA 不飽和化酵素の活性化機構として 2 つの作業仮説が提唱されているが、その 1 つは本酵素の低温シフトによる小胞体膜の流動性低下による酵素誘導説 (induction) と他の 1 つは流動性低下が直接に不飽和化酵素の活性化を誘起するという説である。我々の提唱した前説の方が妥当性が高いように考えられるが、流動性直接法も補助的に作動しているのかもしれない。最近、16:0-

CoA 不飽和化酵素のみならず 18:0-CoA および 18:1-CoA 不飽和化酵素の活性もシフト後 2 時間で最大になることが見出され、18:0→18:1→18:2→18:3 の経路もやはり関与する酵素の誘導によるものと推測している。

5) 膜構成——脂質の移行とアセンブリ——

前述したように本細胞はラジオアイソトープ標識が容易におこなえ、同一 batch から一連の膜系画分を分離することができるので、脂質合成の場である小胞体から他の標的膜への脂質の移行経過を知ることが可能である。小胞体膜からミトコンドリア→外皮膜→繊毛膜への順に移行するが、他の細胞系で見出されているリン脂質交換タンパク質 (phospholipid exchange protein) の存在は確認されていない。ところで、この移行率を規定する 1 つの因子として標的膜の流動性が重要であり、上に示した移行順序も流動性の大小を反映し、最も硬い状態にある繊毛膜のリン脂質のアセンブリーは一番遅い。このことは膜形成においても流動性が関与していること示すものであり、他の高等動物細胞でも同様の機構が働いているものと思われる。また、脂質とタンパク質のアセンブリーに関しては、それぞれの合成阻害剤を用いた実験から、ある種の細胞で言われているような強固なカップリングではないことが示された。ただし、ある期間を絞ると一方の合成を止めると他方の膜への組みこみも抑えられるので、脂質とタンパク質にアセンブリーには何らかの連繋が保たれていることになる。

 一般講演

 1. 海浜における原生動物の動態
 VI. 新潟産殻アメーバ類

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
 VI. *Psammobiont Testacea from Niigata-Sado Area*
 (37.9~38.1°N, 138.3~139.1°E)

Minoru Sudzuki

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

〔材料と方法〕 1980年6月6日と7日、日本陸水学会が新潟大学で開かれた機会に佐渡ヶ島の佐和田（高・低潮帯、潮間帯）と両津（潮間帯）および新潟大学付近の海浜2地点（潮間帯）においてサンプリングを行なった。研究室では人工海水を加えてから1.0×1.0×0.5 cmにカットされたポリウレタンフォームを埋め、2日後それをしぼりその中から検出された虫体の個体数をかぞえると共に相的な調査をも試みた。〔結果〕 新潟港および佐渡における原生動物各群の1 cm³あたりの個体密度は次のように推定された。

Individual densities (Number of Individuals/cm³)
 ZMG=100-280 (Niigata), 800-15,440 (Sado);
 AME=0 (Niigata), 0-76 (Sado), ACT=0 (Niigata),
 0-12 (Sado); TES=0 (Niigata), 0-20 (Sado);
 FOR 0-4 (Niigata), 0-8 (Sado); HOL=120-176
 (Niigata), 136-1,760 (Sado); SPR=4-48 (Niigata),
 8-312 (Sado)

今回の調査において次のような属種が見出された。

Amphorellopsis elegans (Niigata), *Micramphora pontica* (Niigata+Sado), *Diffugiella collum* (Niigata Sado),
D. horrida (Sado), *D. psammonophila* (Niigata+

Sado), *Pseudodiffugia* sp.? (Niigata), *Cyphoderia ampulla* (Sado), *C. littoralis* (Sado), *C. littoralis v. simodensis* (Niigata), *Corythionella acola* (Niigata+Sado), *C. minima f. nipponica* (Niigata), *Psammobiotus communis* (Niigata), *P. golemanskyi* (Sado), *P. golemanskyi-balticus* (Niigata), *P. minutus* (Niigata), *P. plena* (Niigata), *Centropyxiella arenaria* (Niigata), *C. giabbula* (Niigata), *Pseudocorythion acutum v. nipponicum* (Niigata), *Micropsamelloides japonicus?* (Sado), *Englypha* sp.? (Sado), *Rhubleriella?* (Sado), [考察] 日本海沿岸水域における殻アメーバ類の研究は Goemansky (71, 79) によりいづれもソ連領土内でなされているにすぎなかった。今回初めて日本領土内が調査されたわけであるがフアウナがぎわめて貧弱で、ことのほか個体密度が小さいことが明かとなった。これが日本海の特異性に起因するものか、単に砂粒が小さかったためかは目下検討中である。なお、プランクトンの分布は緯度の差により影響を受けるとされているが、次に述べる福島産の場合とはほぼ同緯度でありながら大差がみられる。

1-2. 海浜における原生動物の動態

VII. 福島産殻アメーバ類

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

VII. Psammobiont Testacea from River Mouth of Manogawa, Fukushima (37.8°N, 140.9°E)

Minoru Sudzuki

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

〔材料と方法〕

福島県下に散在するいくつかの湖沼郡におけるプランクトンの動態を調べる、という委託研究を遂行するため1980年8月8日、猪苗代を訪れたおり、県内水面水産試験所所員のご厚意で真野川河口域3地点においてサンプリングする機会をえた。調査方法は上記と同じ。

〔結果〕 今回の調査により次の属種が見出された。

Amphorellopsis conica, *A. elegans*, *A. taschevi*, *Micramphora hellbauti*, *M. pontica*, *M. sp.*, *Difflugia collum*, *Cyphoderia ampulla*, *C. littoralis*, *C. littoralis* v. *japonicus*, *Corythionella acola*, *C. minima* f. *nipponica*, *C. pontica*, *Psammonobiotus communis*, *P. golemanskyi*, *P. minutus*, *Messemvriella chardezi*, *Centropyxiella arenaria*, *C. gibbula*, *Pseudocorythion acutum* v. *nipponicum*, *P. wailesi*, *Pseudowailesella*?, *Volutella cochlea*, gen.? 1, gen.? 2.

〔考察〕 日本各地での調査結果と比べてみると、なぜか福島県の場合が最も出現密度が高く、種数も豊富であった。優占種が *Cyphoderia lifforalis* であったのは河口という生態系から当然と思われる。 *Lagenidiopsis* が

1例も検出されなかったのはおそらくこの属が南方系であるからと思われる。なお、今回、 *Amphorellopsis conica* Golemansky 1979が見出されたが、これは世界では二番目の記録である。

質問 齊藤 実(横浜国大・教育・生物)

1. 殻アメーバの出現の多い個所は intertidal zone のどの高さでしょうか。

2. 同じく出現の多い底質についておききたい。

3. この類は interstitial fauna に属させてよいのでしょうか。

回答

1. 佐渡の場合ではいわゆる低潮帯とよばれているところでした。新潟市の場合では時間の関係で潮間帯一か所できりサンプリングができなかった。わかりません。

2. 上層から15cm~30cmぐらいで、比較的小型でも大型でもない、という砂粒のサイズのもの。佐渡の場合は福島にくらべてかなり砂粒が小型だったので、ファウナがプアであったと思われ、小笠原などでは大きすぎて同じくプアになっています。

3. 外国の学者もすべて interstitial fauna として扱っておりますので、そのカテゴリーに入ります。

2. 活性汚泥棲原生動物群集の実態について

角本 正明

(株)環境調査技術研究所

Protozoan community in Activated-Sludge

Masaaki Kakumoto

Environmental Inspection Technological Institute Co., Ltd.

1. はじめに

我国における下水処理場活性汚泥棲原生動物群集の実態調査は、1970～1971年に盛下らによる全国138ヶ所の調査が実施された後、広範囲にわたる追加調査はほとんど実施されていない。

演者は、その後の原生動物群集構成変化の有無の追跡調査と、すでにその可能性が提唱されている原生動物群集による下水処理場機能の簡易判定方法の検証を目的として、北海道、東北、関東および九州地方の合計20ヶ所の下水処理場活性汚泥棲原生動物群集を調査し、二～三の知見を得たので報告する。

2. 原生動物群集について

(1) 新規に検出された原生動物について

今回の調査により、1970～71年に検出された原生動物以外に、肉質虫綱では *Cochliopodium bilimbosum*, *Euglypha acanthopora*, *Pyxidicula operculata* などの4属7種が、鞭毛虫綱では *Monosiga* sp., *Codosiga* sp., *Poteriodendron* sp. の3属3種、繊毛虫綱では *Aspidisca lynceus*, *Astrophrya* sp., *Chaetospira* sp., *Vaginicola* sp. などの11属14種が新規に検出された。

(2) 出現属種数について

1970～71年の全国調査では、活性汚泥棲原生動物の出現属種数を、85属187種と報告しているが、今回の調査による新規検出属種を追加すると、出現属種数は103属211種となる。内訳は、肉質虫綱の19属34種、鞭毛虫綱の14属21種、繊毛虫綱の70属156種である。

(3) 代表的出現属について

全国調査における夏季の代表的出現属は、出現頻度10位までで、*Epistylis*, *Amoeba*, *Vorticella*, *Aspisca Arcella*, *Trachelophyllum*, *Englypha*, *Tokophrya*, *Peranema*, *Monas* があげられている。一方、本調査結果においても、出現頻度上位の属はほぼ同様であり、10年間に代表的出現属に関しては著しい差異が生じていな

いことがわかった。

代表的出現属の地域差については、本調査結果を、関東・九州地方と北海道・東北地方グループの南北の2グループにわけて比較した限りでは、出現頻度10位までの属に差異が認められた。

(3) 現存量について

活性汚泥混合液1ml当りの細胞数は、1970～71年の調査では、5,000～10,000細胞の事例が最も多く、つづいて10,000～15,000細胞、1,000～5,000細胞であると報告されているが、本調査では、1,000～5,000細胞と15,000～20,000細胞の範囲の事例が最も多い結果となった。

本調査結果を前述の南北の2グループにわけて比較した所、関東・九州地方のグループは15,000～20,000細胞の事例が最も多く、北海道・東北地方のグループでは1,000～5,000細胞の事例が最も多い結果であった。

3. 原生動物群集による処理機能の指標性

処理水質、運転条件に関する情報が入手出来た北海道地方10処理場の事例を用いて、盛下の提案している各種指標の一部についてその適合性を検討した。

処理場の運転条件等が比較的せまい範囲に存在したため、種々の条件における検討は出来なかったが、基本的には、従来より用いられている指標は処理機能判定に利用しえる可能性が強いことがわかった。

質問 鈴木 実(日大・法・一般・生)

1. 同定のできかねる原虫類をどのように評価されましたか。
2. サンプルングによる差は考えられないものでしょうか。
3. 関東を中心として南と北で著しく出現状態が異なっているとのことですが、その根拠となったものはなんですか。

回答 角本 正明((株)環境調査技術研究所)

1. 未同定の原生動物についても、細胞数を計測し現存量にはこれも含めました。
2. 基本的に活性汚泥曝気は完全混合状態ですし、曝気槽における活性汚泥の採取位置をも一定としましたので、サンプリングによる差はないと考えております。

3. 所謂“淡水赤潮”について

林 伸行, 浅井 良紀, 盛下 勇
(株)環境調査技術研究所

What we call “fresh water red-tide”

Nobuyuki Hayashi, Yoshinori Asai and Isamu Morishita
Environmental Inspection Technological Institute Co., Ltd.

近年、瀬戸内海や東京湾などの海域に於てプランクトンの異常発生によって、海面が赤かっ色等に呈色する赤潮現象が頻発している。

そして、この数年来、淡水域である全国のダム貯水池においてもまた、さまざまな形態のプランクトンの異常発生現象が数多く報告されている。これらの状態は「水の華」と総称される場合が多いが、その中でも *Peridinium* 等の渦鞭毛虫類によってひき起こされるものは、その外観の特徴が海洋の赤潮に似ていることから淡水赤潮と呼ばれる。この淡水赤潮は自然湖沼よりも人為的に構築されたダム貯水池に発生している傾向があり、また富栄養化状態の比較的進行した状態にあるダム貯水池に出現する場合が多い。筆者らは、全国のいくつかのダム貯水池に発生する生物異常発生現象の実態について調査を実施し、とくに淡水赤潮の発生状況の検討を試みた。その結果約30のダム貯水池において生物の異常発生現象が発生していることが認められ、淡水赤潮と認定されているものの大部分が、渦鞭毛虫類の大発生によるものであるが判明した。また、ダム湖における淡水赤潮の発生の場所としては、ダム湖への流入河川の流入点付近を中心として発生している例が多く観察された。また、その発生時期としては一般にダム貯水池の水況の変化する時期に発生しており、われわれの観察した例では本州のダム貯水池では夏季を中心として発生しており、四国・九州地方のダム貯水池においては、春季から夏季を中心として発生しているのが観察された。

3. 今回の調査時期および調査対象とした下水処理場の曝気方式、BOD Loading 等の運転条件はほぼ同一でございましたので、南と北の原生動物の出現状態に差異があると考えております。

淡水赤潮を構成している渦鞭毛虫類は、今回の調査では9種が検出されたが、そのうち8種までが *Peridinium* 属であった。赤潮の発生機構については現在迄解明されていない。また分類学的検討の結果本州のダム貯水池に発生している種は Subgenus として *Poroperidinium* に属する種であり、四国・九州地方のダム貯水池において検出された種は *Poroperidinium* の他に *Cleistoperidinium* も検出され、その結果から *Cleistoperidinium* による淡水赤潮は四国・九州地方で観察された。それらは春季に集中して発生している傾向があることが認められた。これらのことから *Cleistoperidinium* の生態学的特性の存在を示唆しているものと考えられる。

質問 鈴木 実(日大・法・一般・生物)

1. 淡水赤潮の発生状態を4型に区別しておられるが、お聞きした限りでは、これはあくまでも空間的な違いに基づく分類と思われる。時間的な succession の点を考慮する必要はないのでしょうか。

回答 林 伸行(環境調査技術研究所)

淡水赤潮の発生に関して、時間的な Succession を考慮する事は非常に重要な事だと考えます。今回は、おもに発生が目視的に観察された場所を中心として分類しましたが、ここに時間的なものを加えることも検討しています。

質問 小山 力(国立予研)

淡水赤潮は人類にとって害がありますか、淡水魚への影響はいかがでしょうか。

回答 林 伸行 (環境調査技研)

直接的害については不明であるが、上水の異臭味障害を起す例は存在する。また現在迄魚類に対する影響の報告は知らないが、淡水赤潮の場合には鰓部閉塞などを行

う可能性が考えられる。なお広義の生物異常発生の場合には間接的に夜間溶存酸素低下を惹起して魚類に影響を及ぼすことがある。

4. 相模湾産 *Ceratium* 属の形態と分類

芹沢 直樹, 齋藤 実

横浜国立大学教育学部生物学教室

Morphology and Taxonomy of Ceratium tripos (O. F. Müller) Nitzsch and its related species

Naoki Serizawa and Minoru Saitô

Biological Institute, Faculty of Education, Yokohama National University, Yokohama

Ceratium 属は世界の各種の水域に、ほとんど常時出現する代表的な渦鞭毛虫類であるが、同時に最も分類が困難なものひとつとしても知られている。これは本属の主要な特徴である角状突起 (horns) の形態に、大きな変異があるためとされている。筆者等は相模湾に産する材料を中心にして *Ceratium* 属各種の外部形態を検討しているが、今回は相模湾に最も多産し、また分類も困難なものとして知られている *Ceratium tripos* をとりあげ、中体 (midbody) の基本形態についての観察と計測を行った。

観察と計測を行った箇所は、帯板面における中体幅、上殻頂の左偏率 (上殻頂の左偏する幅の中体幅に対する相対値)、上殻の高さ、下殻の高さ、帯板面に対する体の後縁の傾斜度、帯板面における腹域 (ventral area) の幅、帯板面に対する前角の突出方向、帯板面に対する左後角基部の突出方向の 8 箇所である。

また材料は 1968 年から 1980 年にかけて神奈川県真鶴近海で採集されたもの (5 個体群)、1978 年に神奈川県葉山近海で採集されたもの (1 個体群)、1980 年に岩手県大船渡近海で採集されたもの (1 個体群)、及び 1968 年に静岡県三津近海で採集されたもの (2 個体群) の 9 群の標本を用いた。観察を行った個体は一見して *C. tripos* と認められるものの他に、Jørgensen (1911) に従うところの Section Tripos, Subsection Eutripes に属することは確実であるが、本種とは認めがたいものも含まれ

ているが、同一個体群に属する個体はすべて同一種であるものと考えられる。これらについて前記 8 箇所の形態要素を腹面観より計測し、個体群ごとに平均値と標準偏差を算出して比較検討を行った。

これらの形態要素のうち、個体群間で明瞭な差が認められたものは中体の幅、前角の突出方向、左後角基部における突出方向の 3 形質である。相模湾における Subsection Eutripes に属する個体には、比較的大きな中体幅を有し、前角がやや左に突出し、左後角が直ちに前方に向っている *Ceratium breve* var. *parallelum* の他に、普通の中体幅を有し、前角がやや右前方に突出し、左後角が直ちに前方に向っている *C. tripos* f. *tripodioides* 及び左後角が基部においては後方に向う *C. tripos* var. *atlanticum* の 2 種、1 亜種、2 変種が出現していることが確認された。また、上殻の高さ、下殻の高さ、腹域幅の 3 形質については、今回は、絶対的数値の比較を行ったが、これらは、中体幅に対する相対値で示すと、より明確な種間の相違を示すことが予想された。なお、岩手県大船渡、静岡県三津より得られた個体は、現在のところ明確な種の同定が困難であるため、今後殻板及びその縫合線などの形態を加味して検討し、結論を得たいと考えている。

質問 丸山 正 (都立大・理・生物)

中体 (midbody) の形質は比較的安定という事でしたがそれは培養した場合や季節が異なった場合でも安定と

いうことでしょうか。

回答 芹沢 直樹 (横国大・教・生物)

培養については、完全に成功しておりませんので、現在のところ、同列に比較することは不可能の状態にあり

ます。

季節について、この群は5~8月と、夏季を中心として出現しますので、季節的変動は、とらえにくい状態にあります。

5. 複染色した *Trypanosoma* の cytospectrophotometry 第2報

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

Cytospectrophotometry of double-stained Trypanosoma (2)

Shozo Inoki

Department of Parasitology, Nara Medical University, Kashihara, Naraken

Humio Osaki and Masato Furuya

Department of Parasitology, Faculty of Medicine, University of Tokushima, Tokushima

Giemsa または Wright 染色液で染色した *Trypanosoma* 原虫に 350 nm~700 nm 間の種々の波長をもった光を照射し、それらの光が原虫体内を通過することによって、どれほど吸収されるかを測定する細胞分光測光法により (本測定法の仔細は本誌, 第10巻, 第1号, 29頁, 1977年参照のこと), 原虫の種が鑑別できるか否かを検討中であるが, 今回は3種の *Trypanosoma*, すなわち *T. gambiense* (Wellcome strain) (以下 Tg と略), *T. evansi* (Taiwan strain) (以下 Te と略), *T. cruzi* (Tulahuen strain) (以下 Tc と略) の trypomastigote 型について前報と同じ方法で観察を試み, とくに Kinetoplast (以下 K と略) と核 (以下 N と略) の通過によって最高度に吸収される光の波長 λ_{max} (M \pm S. e.) 値を比較すると共に, 他方, 3種の波長 500, 560, 600 nm の光を選び, それらの光が K および N を通過することにより吸収される率 (%で表現) を求め, 種間に差異が認められるか否かを検討した。

実験の結果, 下記のような値が得られた。まず, 各3種の原虫について得られた λ_{max} (M \pm S. e.) の値は, Tg の N (W=Wright) 530.0 \pm 2.3 nm; Tg N (G=Giemsa) 534.4 \pm 2.6 nm; Te N (W) 539.4 \pm 1.2 nm; Te N (G) 536.3 \pm 3.0 nm; Tg K (W) 531.3 \pm 4.7 nm; Tg K (G) 525.0 \pm 2.9 nm; Te K (W) 536.3 \pm

2.2 nm; Te K (G) 533.8 \pm 4.1 nm; Tc K (W) 530.0 \pm 5.4 nm; Tc K (G) 541.3 \pm 0.7 であった。

次に, 500 nm の光の Relative Absorption (500 nm の光の吸収値を最高吸収値で割った比を%に換算した値) (RA 500 と略) で比較すれば, Tg N (W) 78.8 \pm 3.1%; Tg N (G) 79.8 \pm 3.2%; Te N (W) 70.0 \pm 2.2%; Te N (G) 82.3 \pm 2.1%; Tc N (W) 76.6 \pm 0.8%; Tc N (G) 71.9 \pm 2.5%; Tg K (W) 77.8 \pm 4.9%; Tg K (G) 83.3 \pm 3.8%; Te K (W) 70.5 \pm 2.0%; Te K (G) 73.2 \pm 3.0%; Tc K (W) 79.5 \pm 6.2%; Tc K (G) 73.7 \pm 2.8

また, 560 nm の Relative Absorption (RA 560) で比較すれば, Tg N (W) 88.8 \pm 2.2%; Tg N (G) 87.2 \pm 2.1%; Te N (W) 91.9 \pm 2.8%; Te N (G) 91.5 \pm 1.1%; Tc N (W) 84.7 \pm 1.0%; Tc N (G) 88.6 \pm 2.2%; Tg K (W) 86.1 \pm 3.7%; Tg K (G) 80.1 \pm 4.5%; Te K (W) 90.9 \pm 0.5%; Te K (G) 88.7 \pm 3.3%; Tc K (W) 82.9 \pm 4.5%; Tc K (G) 94.3 \pm 0.3%

更に, 600 nm の Relative Absorption (RA 600) で比較すれば, Tg N (W) 73.5 \pm 1.6%; Tg N (G) 69.2 \pm 3.1%; Te N (W) 74.1 \pm 4.6%; Te N (G) 74.9 \pm 1.6%; Tc N (W) 60.4 \pm 1.4%; Tc N (G) 69.3 \pm 3.0%; Tg K (W) 72.2 \pm 5.7%; Tg K (G) 62.6 \pm

5.4%; Te K (W) 75.8±2.4%; Te K (G) 71.2±2.7%; Tc K (W) 65.3±2.8%; Tc K (G) 76.7±2.9%であった。

以上の成績から、本法による *Trypanosoma* 種の鑑別の可能性が認められたが、最終的な結論を得るには、今後、多くの種を使用して同様な実験を繰返し、再検討する必要がある。

質問 丸山 正 (都立大・理・生物)

このような方法を用いるには、やはり顕微分光光度計がないと無理でしょうか。何か適当な干渉フィルター等によって肉眼的にも識別する道はないのでしょうか。

回答 猪木 正三 (奈良医大・寄生虫)

できないと思います。

質問 渡辺 良雄 (筑波大)

御検討になった3種の *Trypanosoma* の核およびキネトプラスト DNA で GC contents の差, hybridization の差がどの程度認められるものでしょうか。その差で色素を検討できないものでしょうか。お尋ねいたします。

回答 猪木 正三 (奈良医大・寄生虫)

もちろん DNA の GC content や hybridization の差を検討することも必要です。GC content に関する報告は見ましたが, hybridization の実験はまだみられません。将来, これらの点についても検討し, 私達の色素による実験成績と比較したいと思います。

6. *Trachelomonas playfairi* Deflandre について

小国 昭信
神戸常盤短期大学

Observation of Trachelomonas playfairi Deflandre

Akinobu Oguni
Kobe Tokiwa College

Trachelomonas playfairi Deflandre は、その殻 (lorica) が楕円形を呈し、表面は平滑で、彎曲する襟をもつ (Deflandre, 1916)。わが国では、大和郡山市から報告され (水野, 1972)、夏に出現する。Deflandre 以後、本種についての詳細な観察報告はない。筆者は本学会第11回大会において、季節的消長の報告の中で本種の出現について述べたが、今回、生鮮標本中より本種を分離し、クローン培養によって得られた個体群についての観察結果を報告する。

本種は1980年6月、兵庫県立明石公園の桜堀の表層水から分離したもので、採集時の水温は27.0°C、pHは7.9であった。

野外から得られた個体は、殻長19.8~22.0µm、幅16.4~17.0µmであり、Deflandre (1916) によって示された大きさ、19~23×16~18.5µm に一致した。また、鞭毛孔の周囲に、明らかに彎曲する襟を有している。殻は3層から成り、内部の2層は厚く褐色を呈するが、外部の層は薄い無色の被膜である。被膜は位相差装置の使用によって、より明瞭となった。葉緑体は Deflandre に

よって示されたように10~16個ある。ピレノイドは観察されなかった。これらの個体は、顕微鏡で後進し、前進運動を示す個体は稀であった。

これらの野外個体から単離した個体を培養液で洗浄し、10本の試験管の培地に1個体ずつを接種した。培養には、内径14mmの試験管、およびpH7.9に調整した二相培地を用い、培養管は実験室内の北側に面した窓際に静置された。培養中の室温は22.2~31.4°Cであった。培養開始45日後には10本のうち2本に増殖が認められた。2か月後、これら2系の個体群を観察した。殻の完成した個体は、500個体当り34~40個体であり、これらの個体の鞭毛孔には、すべて彎曲する襟が認められた。完成した殻は3層から成り、内側の2層は淡褐色を呈し、厚く、最外層は透明で薄い。これら各個体の大きさは Deflandre によって示された大きさに一致した。また、殻の表面は平滑にみえるが、スライドガラス上で押しつぶした殻では微細な斑点が認められた。これらの細胞には、6~16個、直径3~6.5µmの円形または楕円形の葉緑体が認められたが、ピレノイドは観察されなか

った。

殻の完成していない個体では、細胞の形は多様で、楕円形、円筒形、紡錘形などを呈し、それらの多くの個体では、頭部は小さく突出し、その先端部はわずかにへこんで唇状を呈する。まれに、細胞の両端に眼点と鞭毛を有し、Pringshem (1953) によって述べられた double cell に酷似する個体が観察された。

観察したすべての細胞は、中心部から後部に、直径 $6.5\mu\text{m}$ の核を有し、固定細胞では核の中心部に顆粒状の構造が認められた。眼点は赤色小顆粒の集まりで、 $2\times 4\mu\text{m}$ の、下部が斜めに切られた円筒形を呈する。走光性は負を示した。鞭毛は細胞長の約 1.5 倍である。

次に前進・後進運動について一実験を試みた。pH 値を 7.1, 7.3, 7.5, 7.7, 7.9, 8.1, 8.3 に調整した 7 種の培養液に、それぞれ 200 個体を取り、スライドグラス上に封じ 24 時間後に観察した。観察時の室温は 15.0°C であった。各 pH における静止個体は、それぞれ、148, 200, 58, 116, 128, 164, 200 個であり、後進運動をしている個体はそれぞれ 50, 0, 138, 80, 68, 16, 0 であり、前進運動をしている個体はそれぞれ、2, 0, 4, 4, 4, 20, 0 個であった。pH 7.5 において後進運動を示すものが最も多い。pH 値が高くなると静止個体は増加する。pH 8.1 において前進運動を示す個体は約 10 倍の 20 個と多くなった。比較のため、*T. planctonica* var.

oblonga を同条件下で観察したが、後進運動を示す個体はなかった。

今回、*T. playfairi* の培養細胞の観察により、殻と細胞の構造を明らかにした。特に、殻の彎曲する襟は安定した形質であり、本種の criteria の 1 つとして認めるべきである。また、本種は後進運動を主とするという興味深い事実を観察した。この機作、さらに生殖についても今後研究を進めたい。

質問 芹沢 直樹 (横国大・教育・生物)

培養液としては、どのようなものを用いたのでしょうか。

回答 小国 昭信 (神戸常盤短期大学)

土壌一水の二相培地を用いました。

質問 小山 力 (国立予研)

襟をもった形態のものが鞭毛を消失すると運動はどうなりますか。

殻をもったものもたないもの等はそれぞれ生活上の一時期を示すものでしょうか。

回答 小国 昭信 (神戸常盤短期大学)

鞭毛を切り離した後、細胞は殻の中で向きを変え、あるいは回転します。

生活史が明確でないため、現在、不明です。今後、明らかにしたいと思います。

7. *Tritrichomonas muris* の偽嚢子とその宿主内形態変化

黒木 俊郎, 深津 祐子, 小山 力
国立予防衛生研究所寄生虫部

Pseudocysts of Tritrichomonas muris and their morphological changes in hosts

Toshiro Kuroki, Yuko Fukatsu and Tsutomu Koyama
Department of Parasitology, National Institute of Health

現在に至るまで、*Tritrichomonas muris* の嚢子形成の有無については、明解な結論は得られていない。Levine (1973) は嚢子を形成しないと、Wantland (1955) は嚢子様体を読み、これを真の嚢子とし、Selukaite (1977) は糞中に見られるのは偽嚢子で、これ

が外界でやがて真の嚢子になるとしている。今回演者らは、*T. muris* の宿主内形態変化を観察して、偽嚢子を認め、また *T. muris* の生活環中に 4 段階の形態変化の存在することを明らかにした。

材料及び方法: *T. muris* の自然感染状況の観察と

T. muris の偽嚢子の採取には、STD 系ハムスターを使用したが、いずれも *T. muris* が寄生していた。偽嚢子をもつての感染実験には、ddY マウス (SPF) を用いた。このマウスが、*T. muris* に無感染であることは予め確かめた。ハムスターでの自然感染状況の把握は、前胃、腺胃、小腸上部、同中部、同下部、盲腸、結腸上部、同中部、同下部の内容をそれぞれ3枚ずつのスライドグラスに塗抹し、1枚を生鮮標本とし、1枚をシヤウジン液固定後ハイデンハイン鉄ヘマトキシリン染色を行ない、残りの1枚をホルマリン蒸気固定後ギムザ液で染色し、鏡検することにより行なった。偽嚢子をもつての SPF マウス感染実験は、ハムスターの糞を生理食塩水に溶かし、ゾンデを用いて行ない、投与直後、投与後1時間から6時間までの1時間おきにマウスを解剖し、いずれもハムスターの場合に準じて標本を作製し観察した。

結果と考察：ハムスターでの感染状況と SPF マウスへの感染実験の観察から、*T. muris* の生活環中には、次の4段階の形態変化、すなわち偽嚢子、栄養体移行型、栄養体及び偽嚢子移行型が存在することが明らかとなった。

1. 偽嚢子 形態はほぼ球形或いは卵円形であるが、角ばったものもある。核はほぼ中央或いはやや中心からはずれており、Costa や後鞭毛がそれをとり囲んでいる。光顕レベルでは明らかな嚢子壁は認められない。2. 栄養体移行型 偽嚢子が栄養体へ移行する過程でみられる形態を栄養体移行型とした。この過程での形態変化は、まず偽嚢子が膨化し、後鞭毛による波動運動と原虫体の回転運動が次第に活発化し、ついで外部形態はレモン様から耳翼様となり、波動運動及び原虫体の回転、旋回運動が激しくなる。最後に、軸索、前鞭毛、後鞭毛の先端などが外部に突出するとともに、後鞭毛が極度に外側に張り出すに及んで、突如として栄養体に変わり、特長ある前進運動を示す。偽嚢子という名称は、表現が曖昧だが、偽嚢子から栄養体への脱嚢の瞬間がないこと、光顕レベルで嚢子壁が認められないこと、栄養体への移行過程で phagocytosis が生起するらしいこと、外部形態の変化が特に著しく、波動、回転、旋回などの運動がみられることなどの事実から、本報で偽嚢子と呼んできたものは真の嚢子とは考えにくい。従って、ここでは一応偽嚢子と称することにした。3. 栄養体 形態はほ

ぼ洋梨型で、前鞭毛、後鞭毛、波動膜などが認められ、成書の記載にみられる通りである。4. 偽嚢子移行型 栄養体から偽嚢子への移行期原虫を偽嚢子移行型とした。この段階での形態変化は、栄養体移行型がみせるものと全く同じ形態変化を正しく逆行するものであるかどうかは明らかではないが、栄養体がしだいに前鞭毛、後鞭毛、波動膜を内包し、内包された波動膜はしばらく運動するが、やがて運動が止まり、偽嚢子となる。

次に、4つの段階の原虫形態の存在部位については、ハムスターでの観察では、偽嚢子は前胃から小腸上部、栄養体移行型は前胃から盲腸、栄養体は小腸下部から結腸上部、偽嚢子移行型は盲腸から結腸上部、それ以下肛門までには、再び偽嚢子が、それぞれ見出された。また SPF マウスへの感染実験では、一回だけの偽嚢子経口投与で偽嚢子は前胃から小腸中部でみられ、次々に栄養体移行型となり、早い時期に上部消化管のいずれでもみられなくなる。栄養体移行型は前胃から盲腸にかけてみられ、しだいに消化管を下降し、消化管の上方から順次消失し、感染後5時間以降では胃、小腸では全くみられなくなった。栄養体は小腸下部、盲腸、結腸上部で観察されたが、感染後4時間以降では小腸下部ではみられなくなった。偽嚢子移行型と偽嚢子は盲腸以降でみられた。以上から、摂取された偽嚢子は直ちに栄養体移行型となり、主として小腸下部で栄養体となる。小腸下部は栄養体の真の寄生部位ではなく、盲腸に至って、そこで定着、増殖し、さらに偽嚢子を形成することが明らかになった。*T. muris* 自然感染ハムスターの消化管の全域にわたり、それぞれの部位で、原虫体のいくつかの形態変化が持続的に観察されたのは、ハムスターが常に糞食を行ない、継続的に偽嚢子が取り込まれた結果であると考えられる。今後は偽嚢子の性状を更に追求し、生活環上での真の嚢子形成の有無を検討する予定である。

質問 今井 壮一 (日獣大・寄生虫)

糞便内に見られるものは全て偽嚢子と呼ばれるべきものでしょうか。またそれらの糞便内での耐性の程度はどれ位でしょうか。

回答 小山 力 (国立予研)

ほとんど偽嚢子でした。偽嚢子の耐性については今後検討の予定ですが、感じとしては通常の嚢子より外部要因に弱そうです。

8. *Tritrichomonas muris* の偽嚢子の宿主内形態変化の電顕的観察

小山 力, 黒木 俊郎, 深津 祐子, 朝日 博子
 国立予防衛生研究所寄生虫部

Electron microscopic studies on the morphological changes of pseudocysts of Tritrichomonas muris in hosts

Tsutomu Koyama, Toshiro Kuroki, Yuko Fukatsu and Hiroko Asahi
 Department of Parasitology, National Institute of Health

光顕レベルでの観察を主体とした演題7の報告に引き続いて、同一対象物を電顕レベルで追究した成績を以下に報告する。

〔材料と方法〕

演題7において述べた本原虫体の宿主内変化は、人工消化液を用いて *in vitro* でも再現できる（この内容については、後日発表の予定である）。電顕用試料としては、量的に多いことが望ましいので、本観察では、人工的に消化処理して形態変化を生起せしめた偽嚢子を用いることにした。即ち、排出直後の糞内偽嚢子(A)、同上偽嚢子の diastase 処理後のもの(B)、Bにさらに人工腸液を作用せしめたもの(C)の3者であった。偽嚢子は、ガーゼ、濾紙などでの濾過と、遠沈による洗滌で、できるだけ残渣を除去したものである。用いた電顕の手法は、特殊なものではなく、glutaraldehyde および Osmic acid による二重固定後、epon に包埋し、型通りに処理して観察した。

〔成績と考察〕

1) 観察を行なった偽嚢子の宿主体侵入より、新鮮糞とともに新生偽嚢子が排泄されるまでの期間内では、いずれの偽嚢子表面にも、特殊な壁または膜構造は見出されず、すべて表面は plasma membrane で被われているのみで、有壁の真の嚢子の存在は認めなかった。

2) 演者らは、*Tritrichomonas muris* の偽嚢子を扱ったが、Daniel et al. (1971) は、同じ原虫の栄養体で電顕的観察を行なっている。両者の電顕像は、原虫の stage に差があるにもかかわらず互に良く類似している。即ち、波動膜の distal part は2部分からなり、part 1 は典型的な lamella 構造をとる distal marginal lamella であり、part 2 は、paired cords となっている。また、costa には明らかな帯状構造があり、flagella 断面像は、

典型的な 9 double outer fibres+2 central fibres system を示す。その他、細胞質内に波動膜の基部構造である proximal marginal lamella, paraxostylar granules や paracostal granules などの顆粒構造、peltar-axostylar junction, No.2 の kinetosome から発する sigmoid filaments, 3本の anterior flagella, comb 構造などが明瞭に認められた。つまり、本原虫では、栄養体と偽嚢子の間では、基本構造上の差異はほとんどなく、ただ後者では、外出性の organella のすべてが内包化されている点だけが異なる。

3) 構造そのものの差異は、試料A, B, C間でほとんど無かったが、偽嚢子の外形はAで球形収縮型であるが、Cに進むにつれて球形膨化型から耳翼形に変わる。また、細胞質は、Aで密で、Cに進むにつれて粗となる。さらに波動膜や costa などの organella は、Aで内部に位置するものが、Cに進むにつれて偽嚢子周辺部に移動するなどの点で多少の差異が認められた。

従来、主に光顕レベルでの研究で、Galli-Valerio (1903), Wenyon (1926), Wantland (1955) らは、trichomonad で嚢子を認めたとし、特に Wantland は、ハムスターからの trichomonad で認めた嚢子様体を真の嚢子とみなした。しかし、一方、Nie (1950) は、*Trichomonas caviae* で、偽嚢子は検出したが、それを嚢子とはしていない。また、Honigberg (1963) は、Trichomonadida には真の嚢子はみられないとし、Flynn (1973) は *Tritrichomonas muris* で、Levine (1973) は、trichomonad で、ともに嚢子形成はないとし、嚢子形成に関しては、その有無をめぐって諸説紛々としている。また、偽嚢子については、Samuels (1941) が viable なものではないようだとし、Honigberg (1963) や、Levine (1973) は、退行変性的なもの或いはまた全く別

なものを嚢子と見誤ったものではないかとしているが、演者らの観察では、ハムスターからの本原虫偽嚢子は、SPF マウスを確実に感染し、感染性のあることを確認している。近年、電顕的検討が盛んになり、trichomonad 研究への導入もみられるようになり、Mattern *et al.* (1973) は、*Trichomitus atrachorum* 偽嚢子の電顕像で、その表面に裏子壁や特殊な膜構造をみていない。また、Brugerolle (1973) は、*Trichomitus* で有壁の嚢子を、また、Selyukaite (1977) は、*Trichomonas muris* (多分、*Tritrichomonas muris* であろう) で、偽嚢子、嚢子ともに認めたとし、後者はさらに、糞とともに排出された偽嚢子は外界でゆっくり嚢子になるとも述べている。この最後の報告はもっとも重要と思われるが、入手し難く、未だ原著に接していないので何ともいえないが、演者らの研究の範囲、即ち、偽嚢子が宿主体に摂取されてから糞とともに新たな偽嚢子が排出されるまでの期間内では、真の嚢子に相当するものを確認していない。今後は、関連文献の収集に努めるとともに、Selyukaite

の報告の追試、即ち、排出後の糞内偽嚢子が、時間の経過とともに外界でどのような運命を辿るか、そしてその間に嚢子の形成が果たしてあるのかどうか検討してみたい。

追加 尾崎 文雄 (徳島大学・医学部)

原虫体外面に特別な膜様構造が認められませんので、単に退行型などにとどまるかも分かりませんし、また cyst, pseudocyst のいずれかによってその外膜成分の由来も違いますので、この際ははっきり cyst あるいは pseudocyst と呼ばれないで、外国学者の文献上の名前に捕らわれることなくお仕事をお進めになってはと思います。

回答 小山 力 (国立予研)

御助言ありがとうございます。

唯今このような形態のものに適した名称が無いようですので、とりあえず文献で使われているものを採用しました。今後文献的に考察を進め、慎重に用語をえらびたいと思います。

9. グレガリナ類のシストの微細構造について

星 出 一 巳

山口大学教育学部生物学教室

Studies on the fine structure of the cyst of gregarines

Kazumi Hoshide

Biological Institute, Faculty of Education, Yamaguchi University

Gregarina blattarum SIEBOLD のシスト及び胞子の微細構造に関して新たに得た知見について報告する。グレガリナ類は胞子虫類の中で非常に大きなグループで複雑な生活環を有している。生活環の各ステージ (セファリン, スポラジン, シスト, スポア, スポロゾイト) において著しい形態の変化を示す。このグループの系統分類学的研究にあたっては、各ステージにおける光学顕微鏡レベルでの形態変化とそれとともなわらわれる電子顕微鏡レベルでの微細構造の変化の研究は必要不可欠のものである。光学顕微鏡レベルでの研究は多数の種類で行われているが、電子顕微鏡レベルでの研究はごく限られた種類でしか行われていない。しかもその研究はセファリン, スポラジン等の配偶体の時期のみで、他の

ステージは全くない。その理由はシスト, 胞子, スポロゾイトは形成される時期が限られており欲しい時に材料を入手することが出来ない。電顕用試料を作ることが技術的に困難なためである。今回演者はチャパネゴキブリという飼育が簡単な宿主を用い Gregarina blattarum のシストを多量に集めるとともに、試料の作製法を改良し、薄片切片を作った。

試料の作製法: 試料作りを困難にしている原因はシストの外側を包む厚くて強固な外層が薬品をほとんど透過させないことであり、又シストの内部の圧力が高いことである。そこでオスミック酸, B.G.E., エポキシ樹脂等の薬品を通常の数倍ないし数十倍の時間をかけてゆっくりと浸透させた。例えば1%オスミック酸での固定に

3日間、エチルアルコールから B. G. E. への置換ではアルコールと B. G. E. の混合比を1日20%ずつ変え7日間をかけた。このようにして出来た試料は薄片切片にすることが可能であったがそれでもシストの中にある孢子への樹脂の浸透は悪かった。

シストの構造：シストは構造上外層、中層、内層の3つの部分に分けることが出来る。この3つの部分は薄い膜で仕切られている。1) 外層はシスト本体を取り囲む厚い膜状構造で厚さ約 7.5μ 、光学顕微鏡の観察ではジェリー膜と記載されている。電子密度の高い層と低い層が交互に層をなし縞模様をなしている。その縞模様は内側で密、外側で粗となっている。又外層の一番内側には少し電子密度の高い均質な層がある。その厚さは約 0.3μ である。2) 中層は細かく見ると更に3つの部分に分けることが出来る。一番外側に電子密度の高い顆粒を多く含む部分、次に空胞を多く含む部分、内側には電子密度の高い構造体を含む部分がある。これら3つの部分の間には明確な境界は見られないが空胞の存在により区別出来る。内側に見られる構造体は将来孢子になるための前駆物質と考えられる。3) 内層はシストの中央部にありほぼ球形である。シストの出来はじめは構造物のない均質な物質で埋まっているが、ステージが進むに従って多数の孢子によって占められるようになる。孢子がふえて来た時、それら孢子の中心部に多数の膜より構成された構造物が出現するが、その機能についてはわからない。

これらシストの構造をスポラジン期の原虫の構造と比較して見ると、グレガリナ類のスポラジン期にみられる独特なヒダ状構造及び外側3層、内側5層の2組の外膜構造はシストの段階では見られない。しかしシストの中層を占める空胞構造はスポラジンの内質の大部分を占める空胞構造とほぼ同一な形態を有する。

孢子の構造に関しては孢子への樹脂の浸透が悪く、あまり多くのことはわからなかったが次の点は確認出来た。孢子の外側には2重の薄い膜があり、その内側に均質な厚い層がある。成熟した孢子の中には8個のスポロゾイトがあり、細長いスポロゾイトはほぼ円筒状に配列している。

質問 重中 義信 (広島大・総科・情報)

1) cyst wall への樹脂の浸透は確かに良くないので、Epon 812 以外の樹脂を試されたら如何ですか。例えば Vestopal W とか glycol methacrylate とかです。

2) 私共は太陽虫の cyst を電顕観察する際に、trypsin などの消化酵素を用いると、微細構造をよく保持したままで固定液と樹脂の浸透をよくすることが判っています。このような処理を試みられては如何でしょうか。

回答 星出 一巳 (山口大学・教育・生物)

1) 現在スチレン樹脂、水溶性樹脂でやって見ようと思っています。

2) trypsin 処理はやって見ましたが外膜は全く変化がありませんでした。今の所浸透に長時間かけるのが最も有効であるようです。

質問 小山 力 (国立予研)

グレガリナの sporozoite に apical complex があるかどうかは、孢子虫類の中での類像関係を明らかにする上で重要であり、是非電顕像の上で明らかにしてほしいと思います。樹脂が入りにくいなら sporozoite を脱殻させて電顕的処理が出来ないものでしょうか。

回答 星出 一巳 (山口大・教育・生物)

孢子を湿室の中に保つと sporozoite が出て来るとの報告もありますが、私共の実験では出て来ませんでした。今後試料の作り方をもう少し改良して sporozoite の構造を観察したいと思います。

10. トリカアメーバに及ぼす浸透圧の影響

大島 範子

東邦大学理学部生物学教室

石井 圭一, 菅野 文和

法政大学教養部生物学研究室

Effect of osmotic pressure on Trichamoeba

Noriko Ohshima

Department of Biology, Toho University

Keiichi Ishii and Fumikazu Kanno

Laboratory Biology, Hosei University

自然環境の中でアメーバをとりまく外液の浸透圧は、雨量、日照や海水の逆流などの影響でかなり激しく変化している。そこで、外部浸透圧の変化に対して淡水性アメーバがどのように反応するか、特に適応の有無や他の淡水性原生動物との相違について実験し、アメーバの行動学的研究の基礎データを出した。材料にはすべてクローン化した速度の測定し易い運動様式のアメーバを使ったので、非常に再現性の良いデータが得られた。

pH 6.5~7.2 に調整した KCM (KCl, CaCl₂, MgCl₂ よりなる塩類溶液) の稀釈液と濃縮液中でのアメーバ (*Flabellula*) の前進速度は、基準液 (×1 KCM, 約 0.57 m osmole) 中で最も高く、それより濃度が小さくなると速度は徐々に減少し、× $\frac{1}{60}$ KCM 中では附着性が低下し、運動方向が変わりやすくなるが、蒸溜水中でも短時間では死滅しない。高濃度液では ×7 から ×10 KCM あたりで速度が急激に減少するのが特徴的であり、×50 KCM 中では附着性が悪く方向も変化しやすく速度がかるうじて測定できる状態となる。×1 KCM 中で最高速度を示すのはアメーバの培養液内適応によるものかどうかを *Flabellula*, *Hyalodiscus* を用いて検討した結果、×7, ×30, ×70 KCM いずれにおいても速度や附着性の回復が認められ、これらの液への適応が示唆された。そこでクローン化した *Trichamoeba* を材料として適応の時間的経過を調べたところ、×30 KCM 中では移してから30分以内は基準液中での速度の約70%であるが、3時間後に96%、4時間後には102%と、ほぼ3時間で速度回復が認められた。×70 KCM に移した場合にも3時間後に93%、4時間後は98%にと、やや遅れる回復を示すとともに、前進時にいわゆる“ジャーキ

ング現象”がみられ、スムーズな前進とはいえない場合が多かった。ただしこの溶液中では分裂がみられ、分裂後は速度、前進形態共に対照と変わりがなくなった。×100 KCM 中では3時間後に82%程度まで回復するものの、それ以上の速度回復はみられず、時間と共にアメーバの体長が短縮していき、やがて速度も再び減少し、70時間後の体長は60%、速度は50%となる。従って×100 KCM (約 57 m osmole) 以上の高濃度塩類溶液中では一時的な適応はみられるものの、長期にわたり生存・分裂していく可能性は低い。実際×200, ×300 KCM 中でも数時間のうちに正常な形となって動き始めるが、この状態は1週間以上は続かず、10日前後で丸くなってしまった。

塩類溶液の濃度で浸透圧差をつけることは生態的には意味があるにしても、浸透圧の影響だけとはいいがたい。そこでイオン量は基準液 (×1 KCM) と等しくし、ショ糖で浸透圧を高めた 40 m osmole 液 (×70 KCM 相当) 中での適応を上記と同様の方法でみたところ、1時間で元の速度の87%にまで回復し、×70 KCM 溶液中より急速に回復することがわかった。従って高濃度塩類溶液中では浸透圧以外にイオンの影響も加わっているものと考えられる。

浸透圧やイオンに対する適応があることから当然こうした適応にステップワイズ効果の可能性が期待できるはずである。×1 KCM から直接 ×30 KCM に移した場合と、まず ×15 KCM に適応させた後に ×30 に移した場合とで、×30 中での速度を比較すると明らかに後者が高かった。逆に ×1 KCM からまず蒸溜水に移して6時間放置後、×70 KCM に入れた場合と、×1 KCM

から直接 $\times 70$ KCM に移した場合とで、 $\times 70$ 中での速度を比べると後者が高く、予想どおりどちらの場合にもステップワイズ効果が認められた。この効果は回復率にもみられ、中間に $\times 200$ KCM に適応させた後、 $\times 600$ KCM の高濃度液に 3 時間程度さらされても、再び基準液にもどすときかなりの率で回復がみられた。同様の結果が海水稀釈液でも確かめられた。

質問 遠藤 卓郎 (国立予研・寄生虫部)

塩類濃度の変化に対する適応には記憶現象 (長期間にわたる) がみられるのでしょうか。

回答 大島 範子 (東邦大・理・生物)

このことを検討するための実験はまだやっておりませんが、面白い問題だと思います。今後の課題にしたいと思います。

質問 内藤 豊 (筑大・生)

KCM をうすめた時の効果は、ある種のイオン濃度の減少によるのではないか。例えば C だけへらす、K だけへらす、M だけへらすという実験をやってみて下さい。

回答 大島 範子 (東邦大・理・生物)

Ca イオンの効果については調べており、基質面への付着に関与しています。他のイオンについてはまだやっておりませんので、ぜひ実験に加えてみたいと思います。

11. 人工ルーメンにおける、原生動物個体群の外部攪乱に対する応答について

安倍 正史, 栗原 康
東北大学理学部生物学教室

Response of the ciliate protozoal population for the variations of culture conditions in a continuous fermentation system

Masafumi Abe and Yasushi Kurihara
Faculty of Science, Biological Institute, Tohoku University

ルーメンとは、牛や羊などの反芻動物の反芻胃 (第 1, 2 胃) をさす。このルーメン内には、Bacteria ($10^{10} \sim 10^{11}/\text{ml}$) 及び Protozoa ($10^5 \sim 10^6/\text{ml}$) が生息しており、難分解性のセルロースや有機物を分解し、発酵している。この主な発酵産物は、主として VFA と呼ばれる低級脂肪酸 (酢酸, 酪酸, プロピオン酸等) であり、この物質は、宿主の生体内に吸収されて、宿主の生存に必要なエネルギーの実に 70% 以上も供給している。また、これ等の微生物の一部は、第 4 胃 (単胃動物の胃に相等) に流下して、ここで分解され、宿主 (牛や羊) に吸収される。特に、この Protozoa は、良質のタンパク源として宿主にとって重要な栄養源となっている。本研究は、このようなルーメンの機能と、微生物 (特にルーメン・プロトゾア) の生態との関連を深るために、人工の臓器即ち、人工ルーメンを開発、作成し、これ等の諸現象を *in vitro* に再現すべく意図したものである。

上記の意図に従い、中村及び栗原により開発された人工ルーメン (透析型連続培養装置) を用いて、ルーメ

ン・プロトゾア (Entodinia) の密度を長期間維持しようという試みがなされた。ポリウレタン製のスポンジ片及び砕屑大麦を、餌をつめたパックの周囲に投与することにより、*in vivo* のルーメンでの密度に匹敵する密度 ($10^6/\text{ml}$) でルーメン・プロトゾア群 (Entodinia) を長期間維持することができた。この事実は、飼料片やデンプン粒のつまった、ポリウレタン製のスポンジ片の小孔 (1~5 mm の径の穴) が、この繊毛虫群の好適な餌場あるいは隠れ家として作用しているのではないかという可能性を示唆する。さらに、上記の長期培養において、餌をつめたパックの上下速度、大きさ及び形の変化による影響が調査された。機械的な上下速度の変化及びより大きな餌パックの使用は、上記の長期培養に大きな変動は与えなかった。一方、餌パックの形を、円柱から球形へと変えた場合、餌パック内の pH は、4.8 まで下がり、上記の培養系に大きな変動を与えた。しかしながら、餌パック内のプロトゾア密度は、 $5.3 \times 10^6/\text{ml}$ から $9.0 \times 10^4/\text{ml}$ へ激減したあと、 $6.0 \times 10^4/\text{ml}$ 付近に安定し、

この種の攪乱に対しても、この培養系がかなり強いことを示唆している。これらの攪乱に対する上記の培養系の安定性は、主として、砕大麦の付着したスポンジ片の小孔あるいは、餌塊のわれ目でのルーメン・プロトゾア群の捕捉及び増殖に由来するであろう。

質問 板橋 久雄（農林水産省畜産試験場）

人工ルーメン内にスポンジ片を投入したのは、*in vivo*でのルーメン粘膜をシュミレートさせたと考えられますか。

回答 安倍 正史（東北大・理・生物）

スポンジ片は、本研究の人工ルーメンでは、Protozoaの群集の捕捉及び増殖の場として作用している。このスポンジ片の役割は、*in vivo*のルーメンでは充分発酵の進んだ食物塊及び弾力性に富むルーメン壁のそれに対応

するものとする。

質問 扇元 敬司（東北大）

培養開始時の微生物叢はどの時期まで保持されるものでしょうか。人工ルーメン運転中の微生物種の構成については観察がなされておりますか。

回答 安倍 正史（東北大・理・生物）

今回の実験に用いた inoculum の構成種は、Entodinium spp (E. simplex の優占系) が96%、Eudiplodinium maggi が4%であった。当人工ルーメンの長期培養実験では、Entodinium spp. の構成種及び密度 ($10^6/\text{ml}$) が最後まで維持された。Eudiplodinium maggi は、実験開始後3~4日で消滅した。Bacteria は、全菌数では大きな変動はなかったが、餌パックの pH が6.0と低めなので、菌相が変化していることも考えられる。

12. テトラヒメナの最大密度を規制する化学的、物理的因子

斉藤 忠雄, 浅井 博

早稲田大学理工学部物理学分子生物物理

Chemical and physical factors controlling saturated population density of Tetrahymena

Tadao Saitoh and Hiroshi Asai

Biophysics Laboratory, Waseda University, Tokyo,

一般に正常な細胞集団の growth は誘導期、対数増殖期、定常期を経て死滅期に到る growth curve によって表わされる。このように growth が制御されているのは如何なる理由によるのか。この growth process を制御している実体を把握するために、細胞の分裂増殖を促進する物質及び逆の作用をする細胞分裂阻害物質の存在様式を確かめ、更に物理的な密度効果の影響を調べたのでここに報告する。尙実験に用いたテトラヒメナは strain W type である。

polypeptone, dextrose, yeast extract 及び 0.5mM Mg^{2+} , 0.05mM Ca^{2+} からなる培養液を無菌的に 27°C で振とう培養した。増殖に対する最適 pH は6でその時の誘導期の長さは10h, 世代時間は3h, 定常期に達するのに4日であった。

(1) 増殖制御因子の存在; 一度培養された古い培地に

新しく植え継がれたテトラヒメナはその培地がどれだけ古いかによって異なった増殖を示す。最も良い増殖は48~72h 古い培地で、96h 以上古い培地では増殖がかなり悪い。このことは一度培養された古い培地にはテトラヒメナが分泌した物質の存在を意味しテトラヒメナの増殖相によって、それぞれ増殖促進および増殖阻害物質が分泌されていると思われる。

(2) 増殖制御因子の性質; 240h 古い培地を活性炭で処理した後、ここに植え継がれたテトラヒメナの増殖は、世代時間が長く、定常期に達したときの最大密度が低く、しかし誘導期がほとんど無かった。このことは活性炭によって、栄養と共に増殖阻害物質が吸着されたことを想定させる。また透析チューブ内に入れられたこの古い培地が蒸留水に対して透析されると、その中でのテトラヒメナの増殖は、かなり長い誘導期 (30h) を伴な

ったものとなる。このことは増殖阻害物質の分子量が約 14,000 以上であることを想定させる。更には、この 240 h 古い培地を 1 時間オートクレーブ (120°C 2 気圧) にかけても、そこでの増殖曲線に変化がないことから増殖阻害物質は熱に安定な性質を持っていると思われる。

(3) 条件付けされた (古い) 培地へ植え継がれた色々な増殖の相にあるテトラヒメナの示す誘導期の長さ; 同じ古さの培地に、色々な相にあるテトラヒメナを植え継いでその時の誘導期の長さを各々測定した。その結果対数増殖期にあるテトラヒメナの場合に最小値をとることが分かった。また、新鮮培地には存在しない増殖促進物質を含む 48 h 条件付けされた培地で最も良い増殖を示した。

(4) 酸素の増殖に及ぼす影響; 培養液の空気との接触面積に対する容積の値を変化させると、そこで培養されたテトラヒメナの最大密度は変化し、S/V の値が 1.8 から 2.5 において最大となる。また 0.4 以下では密度にばらつきが見られるが、1.0 以上では一様な密度となる。

(5) ガラス玉の増殖に及ぼす影響; テトラヒメナとほぼ同じ大きさの中空ガラス玉を培養液に浮かべて振とう培養し、その増殖の様子を測定した。S/V を 2.0 とし、ガラス玉を浮かせた新鮮培地に植え継がれたテトラヒメ

ナの増殖は、ガラス玉の量が増加するに従って誘導期が長くなり、更に最大密度もガラス玉の増加分だけ減少した。しかし対数増殖期に於ける世代時間は、ガラス玉の有無で変化は無かった。即ち、ガラス玉の存在は、テトラヒメナの増殖を抑制する効果を果たすことから、物理的な密度効果が衝突または接触などを介してテトラヒメナに知覚され、最大密度を抑制する結果となったものと思われる。

以上の実験から、テトラヒメナの増殖を制御する因子として、増殖促進物質、増殖阻害物質、酸素及び物理的な細胞間の相互作用の存在が明らかになった。このような化学物質と、物理現象が互に関連して増殖が制御されているのである。

質問 内藤 豊 (筑波大・生物)

ガラスのビーズの代りに、ビーズの数と同じだけテトラヒメナの細胞を入れたらどうなりますか。

回答 齊藤 忠雄 (早大・理工・物理)

ガラスビーズとの衝突又は接触の効果がテトラヒメナ間のそれを一致しているかどうかという質問かと思いますが、同じテトラヒメナの数を変化させても、数の同定ができないので、形の違ったあるいは大きさの異なる虫を入れて観測することは意味のあることと思います。

13. ゴウリムシの「走周性」について

鵜川 義弘, 樋渡 宏一
東北大学理学部生物学教室

“Circumnavigation” in *Paramecium caudatum*

Yoshihiro Ugawa and Koichi Hiwatashi
Biological Institute, Tohoku University

ゴウリムシをシャーレ等の円形容器中に入れると、容器の外縁にそって泳ぐ行動が見られる。このときゴウリムシは壁面への浅い角度の進入と浅い角度の反射を繰り返すことで、円にちかい多角形の軌跡をのこしながら遊泳している。多数のゴウリムシがこのような行動をとることにより、個体数は容器の中央部で少なく、外縁部で多くなる。これを「走周性」と呼ぶことにする。

ゴウリムシの他の走性と同様に、この走周性に方向転換頻度や遊泳速度がどのように影響しているかを知るた

めに、外液のイオン組成を変化させて走周性の有無を調べた。その結果 $[K^+]/\sqrt{[Ca^{++}]}$ (Ja 値) が 8 以上に順応したゴウリムシでは、遊泳速度が小さく方向転換頻度は高くなり走周性は見られなかった。一方、方向転換のできない突然変異株を用いて同様の実験を行なうと、Ja 値 8 以上で遊泳速度は小さいにもかかわらず、ある程度の走周性を示した。このとき方向転換頻度は 0 である。以上から、走周性には遊泳速度よりも方向転換頻度の方がより重要な影響を与えているものと考えられる。

また、壁面での進入角と反射角について観察を行なった所、野生型株では進入角が 40° を越えるあたりから反射角がランダムになり、方向転換のできない突然変異株においては進入角が 70° を越えると反射角はランダムになった。

この突然変異株は、全面的な繊毛逆転反応を示さないことから、深い進入角の場合に反射角がランダムになることに関しては、野生型株の場合にも繊毛逆転反応が関与していないと考えられた。しかし、この突然変異株は機械的刺激に対して部分的繊毛逆転反応を示すことが知られているので、進入角が深くなると反射角がランダムになることにこの部分的繊毛逆転反応が関与していることも考えられる。

そこで繊毛逆転反応の抑制効果を持つルテニウムレ

ドを作用させ、同様の実験を行った所、野生株、突然変異株はともに進入角にかかわらず一定の反射角を示した。

これらのことから、壁面では繊毛の部分的逆転によって反射する角がランダムになるかどうかが決定的なものと考えられる。

質問 内藤 豊 (筑波大・生)

CNR を Ja-value の高い液に入れた時の走周性がやや悪いのは、走用性がまだ十分に establish していないからで、時間をかけたら強く出てくるのではないですか。

回答 鶴川 義弘 (東北大・生)

実験では、長い時間かけても走周性はよくなりません。遊泳速度以外のまだつかんでいない要素がかくされていることが十分に考えられます。

14. ゾウリムシの負の走地性は、かんたんな運動方程式で記述できる

福井 啓二, 浅井 博
早稲田大学理工学部物理学科

Negative geotaxis of Paramecium can be fully described by a set of dynamical equations

Keiji Fukui and Hiroshi Asai
Department of Physics, Waseda University

ゾウリムシやテトラヒメナ等の原生動物は水面近くに集まる行動、すなわち負の走地性を示す。我々はすでに、ゾウリムシの負の走地性が純粋に物理的なしくみで説明されることを実験的に明らかにした。つまり、ゾウリムシの細胞体内では浮心が重心よりもより細胞体先端に近く位置しておりそのため上向きに泳ぐためのトルクが生じ、その結果として負の走地性が発現されるというしくみである⁽¹⁾。

さて、実際に負の走地性をしめしているゾウリムシの運動軌跡を記録してみると、それは途中に折れまがりのないなめらかな曲線であることがわかる。そこで我々が既に実験的に明らかにした負の走地性のしくみに基づいて、理論的にこのなめらかな負の走地性行動を記述できるかどうかを考えてみた。我々はゾウリムシの重心の運動と重心のまわりの回転運動を表わす運動方程式を以下

のように考えた。(ゾウリムシは回転楕円体で近似した。)

$$\begin{cases} M\ddot{x} = -R_1(\dot{x} \cos \theta + \dot{y} \sin \theta) \cos \theta \\ \quad - R_2(\dot{x} \sin \theta - \dot{y} \cos \theta) \sin \theta + P \cos \theta & (1) \\ M\ddot{y} = -R_1(\dot{x} \cos \theta + \dot{y} \sin \theta) \sin \theta \\ \quad + R_2(\dot{x} \sin \theta - \dot{y} \cos \theta) \cos \theta + P \sin \theta - mg & (2) \\ I\ddot{\theta} = -\eta \dot{\theta} + \tau \cos \theta & (3) \end{cases}$$

(1), (2)は重心の並進運動, (3)は重心のまわりの回転運動を表わす。ここで x は運動の水平成分, y は垂直成分, P は推進力, m, M はそれぞれ有効質量, 質量, R_1, R_2 は短軸, 長軸を含む断面の抵抗係数, η は回転に働く抵抗の係数, I は慣性モーメント, τ はトルク, g は重力定数, θ は長軸と水平方向のなす角度を表わしている。実際の運動は加速度のない定常運動とみなせるから(1), (2), (3)式の左辺をゼロとおいて解くと, x_0, y_0, θ_0 を初期値とすると次のような解が得られる。

$$\begin{cases} x-x_0 = \frac{\eta P}{R_1 \tau} \theta(t) - \frac{(R_1 - R_2)}{R_1 R_2 \tau} \eta m g \cos \theta(t) \\ y-y_0 = -\frac{\eta P}{R_1 \tau} \ln |\cos \theta(t)| - \frac{\eta m g}{R_2 \tau} \sin \theta(t) \\ \quad - \frac{\eta m g}{R_1 \tau} \left(\ln \left| \tan \frac{\theta(t)}{2} + \frac{\pi}{4} \right| - \sin \theta(t) \right) \\ \theta(t) = 2 \tan^{-1} \left\{ \exp \left(\frac{\eta}{\tau} t \right) \times \tan \left(\frac{\theta_0}{2} + \frac{\pi}{4} \right) \right\} - 90^\circ \end{cases}$$

この解のパラメーターを実験及び計算から求める。 η/τ , P は実際の運動軌跡の解析から得られ, R_1 , R_2 はストークス近似から得られる値, m は沈降平衡から求められた値を用いた。これらの値を代入して解の数値計算を行えば理論的に予測される運動軌跡を描くことができることになる。

こうして得られた結果の軌跡はなめらかな曲線で、実際のゾウリムシがしめすなめらかな上向きの運動軌跡と非常に良く一致することがわかった。また観察によると、途中で自発的な鋭角的方向変換が生じている場合もこのなめらかな上向きの運動が方向変換の点を折り目としてつながっていることも確かめられた。

一方、以上の実験は *Paramecium caudatum* で行わ

れ、理論的に解析されたものであるが他に、*Paramecium multimicronucleatum* と *Tetrahymena pyriformis* についても予備的な解析を行ったところ、これらについても非常に良い結果が得られた。このことは少なくともゾウリムシのような運動をする原生動物においては、既に実験的に明らかにした負の走地性のしくみに直接的な証明を与えることになると思われる。

(1) The most probable mechanism of the negative geotaxis of *Paramecium caudatum*. K. Fukui and H. Asai, Proc. Japan Acad. 56, Ser., B, 1980.

質問 内藤 豊 (筑波大・生物)

Ca 濃度を変えて swimming velocity を変えた場合、viscosity を変えて swiming velocity を変えたりした時の geotaxis の軌跡は計算通りになりますか。

回答 福井 啓二 (早大・理工・物理)

定量的には詳細な検討を加えていないけれども、観察によると、速度を変えた場合、溶液の viscosity を変えた場合については、定性的には計算に適うかたちになりそうである。

15. 殺したゾウリムシに対するディディニウムの捕食反応

堀上 英紀, 石井 圭一
法政大学教養部生物学研究室

Feeding response of Didinium to dead Paramecium

Hideki Horikami and Keiichi Ishii
Laboratory of Biology, Hosei University

ゾウリムシに対するディディニウムの食性は餌の種の大きさが大であるほど、また餌の遊泳速度が大であるほど捕食率が高まるという選択的なものであると同時に、餌に対するカイネシスも有することはすでに報告した。今回、餌の識別機構を探る手掛りとして、殺したゾウリムシに対して捕食反応を示すか、また処理方法によって違いがあるかを調べた。まず、餌の纖毛の有無が捕食に影響を及ぼすか否かをみるために、微量のエタノールを含む生理塩類液中のゾウリムシを短時間震動処理して完全に脱纖毛させた生きた餌に対する反応を調べると、未処理のものと同様に、捕食することがわかった。また塩

化ニッケルで纖毛運動を停止させたものでも捕食が起こった。そこで各種処理して殺した餌（外形を保った状態のもの）に対する反応を調べた。物理的処理として、加熱、自然乾燥、凍結融解、圧砕の4方法を用いた結果、加熱処理（60°C）したものは捕食されたが、それ以外の場合にはディディニウムの口部が接触しても捕食は起こらなかった。後者3通りの餌についてそれぞれさらに加熱処理を加えても捕食はみられなかった。化学的処理として、エタノール、塩化アンモニウム、アセトン、硫酸、グリセリン、ホルマリン、ショ糖溶液を用いた結果、エタノール処理（70%）の場合にのみ捕食が起こり、塩化

アンモニウムでは口部から銚が発射されて餌を保持するがディディニウム体内への捕食には到らなかった。これら以外の場合にはいずれも接触しても捕食は起こらなかった。殺した餌に対する捕食がみられた加熱とエタノール処理の場合について、未処理の生きた餌との捕食率を比較した。*P. multimicronucleatum*, *P. caudatum*, および *P. aurelia* の3種をそれぞれ単独に与えると、未処理の場合には種に無関係にディディニウム(40個体)の75%以上が捕食したが、加熱処理したものでは20%が保持するが捕食に到ったのは全体の10%であった。一方、エタノール処理の場合には *P. aurelia* のみに対して3%が捕食を示した。

以上のことから、ゾウリムシに対するディディニウムの捕食反応には、繊毛の有無は関係せず、殺した餌に対しても捕食の起こることが明らかになった。そして、加熱およびエタノール処理したものに対しても捕食がみられたことから、捕食を惹起させる因子はそれらの処理に対して安定していることも明らかになった。

質問 武居 克明(東北大・理・生物)

(1)「もり」は、どのような刺激に対して発射されるのか。

(2)「もり」は、ディディニウムのからだのどの部分にえさが衝突しても発射されるのか。

回答 堀上 英紀(法政大・教)

① 餌のゾウリムシの場合には、殺したものでも発射されます。その他の繊毛虫にも発射され捕食されるものもありますが、ガラス壁に衝突したりなど機械的刺激では発射されません。

② ディディニウムの前端部にある口器の先端に限られます。

質問 樋渡 宏一(東北大・理・生物)

捕食率の低いゾウリムシ死体を運動させると捕食率が上りますか、たとえば Triton model で運動しないと、運動させたときの比較などはできませんか。

回答 堀上 英紀(法政大・教)

殺した餌とディディニウムの入った塩類液をピペットなどで水流を起こさせると捕食が起こることがあります。また Triton-model については現在実験中です。

質問 浅井 博(早大・理工)

化学処理して殺した後のゾウリムシの放置時間と、ディディニウムの捕食の程度との関係についてのデータはありますか。

回答 堀上 英紀(法政大・教)

化学処理後に十分な水洗をして餌としてディディニウムに与えるまでの時間は10分間位です。長時間放置してから与える実験はやっておりません。

質問 福井 啓二(早大・理工・物理)

いろいろな処理をしたゾウリムシに対しても、モリを打ち込むかどうか。相手が、いろいろな処理でグチャグチャになってしまって、モリを打ってもスカスカで引き込むことができないということも起きる可能性は。

回答 堀上 英紀(法政大・教)

今回は外形の保持されたゾウリムシを用いており、餌にぶつかったディディニウムが後退遊泳した時に餌も引きずられた場合を、銚を打ったと判断しています。

16. Ceratium の縦鞭毛引込運動と Ca^{2+} — Ca^{2+} 流入阻害剤の効果—

丸 山 正
都立大学理学部生物学教室

Retraction of the longitudinal flagellum in Ceratium tripos —Effect of Ca^{2+} channel blockers—

Tadashi Maruyama

Department of Biology, Tokyo Metropolitan University, Tokyo

Ceratium の縦鞭毛は全く異なる二つの運動を行う。通常は波打運動を行っている縦鞭毛は、細胞体、特に Apical horn の先端に機械的刺激を受けると先端から折畳れて最終的には、細胞体腹面の縦溝内に収められる。この二つの運動様式の調節、引込の誘起に Ca^{2+} が重要な役割を果している可能性を昨年の本大会で示した。もし Ca^{2+} が縦鞭毛中に外液から流入する事によって引込運動が起るとすれば、 Ca^{2+} の外液からの流入を阻害する事によって引込運動をおさえる事が出来るはずである。この引込運動は、昨年の本大会でも示したように外液中のイオン組成を適当に変える事によって引起す事が出来るので、これに Ca^{2+} の流入阻害剤として知られている La^{3+} 、ルテニウムレッド、Verapamil, Dibucaine, Papaverine を加えて、引込運動が阻止されて伸展状態になるかどうかを調べた。

細胞を遠心して集めた後、適当濃度の Ca^{2+} 流入阻害剤を含む各種の人工海水で2回洗い、集めた細胞を低倍率の暗視野顕微鏡で観察し縦鞭毛が伸展状態（多くは波打運動を行っている）である細胞の割合を調べた。引込まれて縦溝中にある縦鞭毛の観察は困難であるので行わなかった。この方法では鞭毛が引込まれているのか、崩壊してしまって外から見えないのかを判定できないので観察対数後に残りのサンプル中の cell を Ca^{2+} free 人工海水中に入れて強制的に伸展させて対数し、引込まれていた事を確認した。観察は室温で、人工海水に入れてから約20分ほど行ったが通常この時間で十分であった。

始めに、阻害剤の効果を正常な人工海水中で調べた。 La^{3+} は 1~20 μM 程度の濃度では人工海水だけよりも多くの細胞で縦鞭毛は伸展しているが 100 μM 程度になると縦鞭毛の崩壊がおこった。ルテニウムレッドでは

100~1,000 μM にわたって人工海水だけの時よりも多くの細胞で縦鞭毛の伸展が見られ、崩壊は見られなかった。Verapamil, Dibucaine, Papaverine では低濃度（それぞれ 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 2 μM , 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）では人工海水の場合と差がないがそれ以上になると縦鞭毛の引込が見られるようになり、さらに高濃度では崩壊がおこった。

次に人工海水の組成を変えることによって引起された引込運動に対する阻害剤の作用を調べた。5 K^+ -ASW 中（人工海水中の K^+ を5倍にしたもの、当量の Na^+ を低くして浸透圧的には等しくなっている。以下他のイオンの場合も同様）では、 La^{3+} は 1 μM という低濃度でも引込運動に対する強い阻害を示し、殆ど正常人工海水中と同様の伸展状態を示した。これに対しルテニウムレッドでは 1 mM でも、Verapamil (1 $\mu\text{g}/\text{ml}$), Dibucaine (1 μM) でも阻害は全く見られなかった。従って 5 K^+ -ASW 中では La^{3+} に対する親和性の高い Ca^{2+} チャネルの開口が予想される。5 Ca^{2+} -ASW 中では、 La^{3+} 、ルテニウムレッドではそれぞれ 10 μM , 400 μM で弱い阻害が見られたが、はっきりした強い阻害は見られなかった。Verapamil, Dibucaine では阻害は見られなかった。1/10 Mg^{2+} -ASW や 1/10 Cl^- -ASW 中ではルテニウムレッド (250 μM) と La^{3+} (5 μM) が強い阻害効果を示したが、Verapamil, Dibucaine, Papaverine は阻害効果を示さなかった。従ってここでは La^{3+} とルテニウムレッドの両方に親和性を有する Ca^{2+} チャネルが開口している事が予想される。1/ Na^+ -ASW 中での引込運動は、用いた阻害剤のどれによっても阻害されなかった。これは 1/10 Na^+ -ASW 中では、細胞内外の Na^+ 濃度差が少いために Na^+ - Ca^{2+} 交換系がうまく働かず、内部の Ca^{2+} 濃度を低くできないために引込が回復しないと考

えると説明ができる。

今回の結果は、Ca²⁺ チャンネルの阻害剤である La³⁺ やルテニウムレッドが引込運動に対する阻害効果を有する事から、引込運動は Ca²⁺ の流入によって生ずるといふ考えを支持する。さらに La³⁺ のみが阻害効果を示す場合 (5K⁺-ASW) と La³⁺ とルテニウムレッドの両方が阻害効果を示す場合 (1/10Cl⁻-ASW, 1/10Mg²⁺-ASW) がある事からチャンネルに2種類ある可能性が考えられる。

質問 遠藤 卓郎 (国立予研・寄生虫部)

Dibucaine を用いた系で、実験系の pH を変えるとその効果はどのように変化するでしょうか。

回答 丸山 正 (都立大・理・生物)

Dibucaine を用いた系で pH を変えた実験は行っていないので分かりません。

質問 内藤 豊 (筑波大・生)

La はいわゆる Ca channel を block し、R-R は pump system を block すると考えてよいですか。

回答 丸山 正 (都立大・理・生物)

両イオン共 Cell 内に入るかどうか、というのが問題になると思いますが、ここではその作用が比較的短時間で出てくるので内には入らないと仮定して考えました。そのような仮定で、両イオン共、Channel に働いていると考えました。なぜならルテニウムレッドでも 1/10 Mg²⁺-ASW や 1/10Cl⁻-ASW で縦鞭毛の伸張が生じるわけで、ポンプが阻害されれば伸張は見られないはずであると考えました。

しかしルテニウムレッドが少し内に入り、ポンプにも作用する可能性はあると思います。

17. 胞子虫のライフサイクルとセレクション

阿部 弘和

山口大学教育学部生物研究室

Life cycle of the Gregarina blattarum and selection of the sporadin gregarine

Hirokazu Abe

Biological Institute, Faculty of Education, Yamaguchi University

G. blattarum はネッパネゴキブリを宿主とする胞子虫である。この胞子虫は (胞子-cephalin-sporadin syzygy-cyst) のライフサイクルをもっているが、その間の正確な様子は他の胞子虫同様知られていない。そこで、我々はこの胞子虫を宿主に人工的に感染させ、そのライフサイクルを定量的な面から研究した。

まず、胞子虫が感染していないゴキブリを用意した。5, 6 令の幼虫を集め、糞中に含まれる胞子による感染を除くため、底に 1×1mm のメッシュを貼った容器で飼育した。3, 4 週間後には幼虫はすべて成虫になる。糞中に cyst がみられなくなった容器中のゴキブリを 100 匹づつ集め、これを各々の実験に用いた。感染は 10 個の cyst から得た胞子 (40 万個) をエサに混ぜ、それを 24 時間食べさせることによって行った。実験中は容器をあら

かじめ熱処理しておき、3 日毎に取り換えた。

感染後 3 日目まではゴキブリの中腸内でも、中腸の上皮細胞でも胞子中は観察できなかった。4 日目にはじめて 65% のゴキブリで胞子虫がみられた。5 日目から 14 日目までは約 70% のゴキブリで感染があったが、15 日目以降はこの割合は急速に減少し、17 日目には胞子虫は観察できなかった。

胞子虫の数は 5 日目が宿主あたり 52 匹で最も多く、最少は 16 日目の 0.5 匹であった。13 日間の平均は 14.1 匹であった。

4 日目の胞子虫はすべて sporadin で、しかも 90% 以上が syzygy であった。5 日目は 97% の sporadin が syzygy を形成していた。13 日間に見られた胞子虫はすべて sporadin でその 97% が syzygy であった。これは

syzygy 形成能がサイクルのきわめて早い時期に制限されていることを示唆している。

胞子虫の大きさ(体長)は4日目で200 μm ,その後体長はしだいに増加し,12日目には600 μm に達し,成長は停止した。

cyst は5日目から15日目までの間ゴキブリの糞中でみられた。しかし,その数は12日目がピークで,全体の半分が12,13日目に形成された。また,一匹の宿主あたりの cyst 数は平均5.7個で,これは sporadin の少くとも22%が cyst になったことを示している。

これらの観察からこの胞子虫の平均的なライフサイクルは次のように考えられる。まず,胞子から cephalin までが3日,次の24時間で syzygy 形成を完了し,sporadin になる。sporadin は syzygy のままつづく8日間成長し約600 μm の体長に達する。この頃 syzygy は cyst になり宿主の体外へ出る。胞子の形成は48時間以内に終るので,1サイクルはおよそ14日になる。

この胞子虫の生殖行動(syzygyの形成)はサイクルの早い,若い時期に行われるが,これは興味ある事実である。また,ライスパンや cyst のサイズに大きな個体差があるが,これも今後検討すべき問題である。

第3の問題は“selection”である。すなわち,5日目から6日目の間に胞子虫の約80%が見られなくなることである。この24時間にこれを説明するだけの, cyst 数の増加はない。胞子虫を *in vitro* で培養しても同じ結果を得ている。なぜ,このような selection が行われるのか興味ある問題である。

質問 小山 力(国立予研)

- 1) 感染後16~17日で体内にグレガリナが認められなくなるということですが,これはこの期間中に cyst になるものはすべて外界に排出されてしまうということですか。ゴキブリの自然感染では,いつも体内にグレガリナを認めますが,これは連続的に感染が起っている結果と考えてよろしいでしょうか。
- 2) シチギーを作らない sporadin の運命はどうお考えですか。
- 3) この実験の結果,糞中に最終的にえられる cyst の

数は,最初出発した sporozoite 数と比較してどの程度になりましたか。

回答 阿部 弘和(山口大・教育)

胞子虫が体内に見られなくなって,また糞中にシストが出なくなってから60日以上観察をつづけても感染は認められません。体内に胞子が残って,それによって感染することはないと思います。形成されたシストは直ちに体外へ出るようです。自然状態のゴキブリではいろんなタイプのいろんな大きさの胞子虫が見られます。つぎつぎと感染しているようです。

シチギーを dissociate して *in vitro* で culture しても再びシストをつくりません。シチギーをつくるタイミングは非常に限定されていると思います。シチギーをつくらなかった胞子虫は胞子づくりに参加しないまま死ぬのでしょうか。

今回の実験の感染レベルでは約20%の感染個体がシストにまでなります。

質問 猪木 正三(奈良医大・寄生虫)

- ① チャバネゴキブリに寄生する Gregarina の種類は何種ありますか,日本産のチャバネゴキブリには,
- ② 接種から Gregarina が発見されない時期があると申されましたが,マラリア原虫(Plasmodium)の赤外型(Exoerythrocytic form)のような細胞内の発育型はその時期にみられないでしょうか。

回答 阿部 弘和(山口大・教育)

Gregarina blatlarum と呼ばれる1種だけだと思います。しかし,別種のゴキブリの胞子虫も *G. blatlarum* と記載されているようです。それが同一の種であるかどうかはよくわかりません。外国産のチャバネゴキブリの胞子虫を見たことがありませんので,我々が見ているものが,それかどうかは確かではありません。しかし,形態から見る限りは *G. blatlarum* です。

若い *G. blatlarum* は消皮管の上皮細胞の中で生育しているようです。ただ,非常に小さく,またそれが短時間に成長するので若い胞子虫を見付ける頻度は少ないようです。

18. *Toxoplasma gondii* tachyzoite の細胞内侵入, 増殖過程における Neocarzinostatin の及ぼす影響

小俣 吉孝, 八神 健一

筑波大学基礎医学系

中 林 敏 夫

大阪大学微生物病研究所寄生虫原虫学部門

The effects of neocarzinostatin on cell entry and multiplication of Toxoplasma gondii tachyzoite.

Yoshitaka Omata and Kenichi Yagami

Institute of Basic Medical Sciences, the University of Tsukuba

Toshio Nakabayashi

Department of Protozoology, Research Institute for Microbial Diseases Osaka University

細胞内寄生原虫である, *Toxoplasma gondii* (Tp) の, Microtubules (MT) は, 主に, Conoid, Polar ring として存在する事が知られており, その機能としては, 虫体の運動性を司っているとされている. しかし, 虫体の細胞内寄生, 増殖過程における (MT) の役割は, あまり明確にされていない. 今回の実験は, (Tp) の細胞内寄生時の (MT) の果す役割を検べるため, (MT) の機能阻害薬物を作用させた際の, 虫体の細胞内侵入, 増殖に及ぼす影響を検討した.

宿主細胞には, グリコーゲン誘発マウス腹腔内 Macrophage, および L-929 細胞を使用した. 細胞は, Falcon Tissue Culture Plate に, L細胞 1×10^6 /ml, macrophage 5×10^6 /ml, 5% CO₂, 37C にて培養した. (Tp) tachyzoite は RH 株接種 4 日目マウス腹腔洗浄液から採取し, 冷生食水にて 3,000 rpm 10 分間の遠沈洗浄を 3 回行ない, 実験に供した. Neocarzinostatin (NCS) および, Colchicine (CLC) は Eagle MEM にて希釈し NCS は, 5, 50 ug/ml, CLC は 10, 100 ug/ml に最終的になる様, 調整し, 虫体あるいは細胞と混合, 37C にて, 1 ないし 6 時間培養後, 虫体を細胞に添加し, 1.5 ないし 2 時間目, 6 時間目, 24 時間目における Tp 虫体の細胞内侵入, 増殖の様子を観察した.

5 ug の NCS 処理では, 無処理群と大差が認められなかったが, 50 ug 処理虫体は macrophage では寄生の亢進が認められた. NCS 処理虫体は 24 時間後, L 細胞, および macrophage 内で消滅した. なお, NCS 処理虫

体は, Trypan 青には, 不染性であった. NCS 処理 macrophage では虫体の寄生が亢進したが, 24 時間後, 処理細胞は, 虫体無添加群を含め, 全て崩壊した.

NCS 処理虫体, 同処理細胞における NCS の局在は, 蛍光抗体法では認められなかった.

一方, CLC 50 ug 処理虫体では macrophage での寄生率は無処理群と大差ないが, 24 時間後, 増殖の抑制が認められた. L 細胞への寄生率は, 低下したが, 24 時間後の虫体の増殖能は抑制されなかった.

このように, NCS 処理では, 虫体は細胞内侵入過程よりも, 増殖過程に障害を来し, 一方, CLC 処理では, 侵入能力が低下する, しかし macrophage の貧食に対しては両処理共, 阻害効果を示さない事が認められた.

質問 遠藤 卓郎 (国立予研・寄生虫部)

電子顕微鏡的なレベルでの観察はなさいましたか.

回答 小俣 吉孝 (筑波大・生物)

検討しておりません.

質問 渡辺 良雄 (筑波大・生物)

演者は neocarzinostatin を微小管に specific な薬剤と考えて実験をなさっておりますが, 私の実験結果ではこの薬剤は *in vitro* の tubulin の重合, 微小管の脱重合および actin の重合, 脱重合にまったく影響を及ぼしません. その点如何にお考えでしょうか.

回答 小俣 吉孝 (筑波大・生物)

Neocarzinostatin を, microtubules に働くとして仮定し, 実験を行ないましたが Neocarzinostatin の及ぼす影響

が、トキソプラズマ虫体の microtubules に障害を与えたのか、それとも他の作用によるものか、検討中です。

19. *Toxoplasma gondii* 細胞画分免疫マウスの細胞性並びに体液性免疫応答に対する cyclophosphamide の効果

尾崎 文雄, 伊藤 義博, 古谷 正人, 岡 三希生, 長沢 秀行

徳島大学医学部寄生虫学教室

岡 好 万

徳島大学教育学部保健科学

Effect of cyclophosphamide on cellular and humoral immune responses in mice immunized with subcellular fractions of Toxoplasma gondii

Humio Osaki, Yoshihiro Ito, Masato Furuya, Mikio Oka and Hideyuki Nagasawa

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

Yoshikazu Oka

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

Toxoplasma gondii 感染宿主の免疫応答は抗体性のみならず細胞性のもも顕著で、特に後者は感染防御の立場から強く興味を持たれている。我々の *T. gondii* に対する一連の免疫実験の中で、高い抗原活性を microsomal fraction に認めることができた。しかし、宿主のこの免疫学的防御が、抗体産生、細胞性応答のいずれに強く依存するものか定かでないばかりでなく、可溶性抗原にも若干の防御活性が認められた。そこで、抗体応答に抑制作用を持つアルキール化剤 cyclophosphamide (CY) を可溶性及び粒子性抗原で免疫したマウスに与え、抗体産生量、皮膚過敏反応及びオオシストによる感染実験から検討を加えた。

予備実験では、ddY 系マウスに対する CY の投与時期及び量を SRBC (T細胞依存性抗原) を使用して求めた。その結果、抗原接種後 24~48 時間の CY 処置 (100 mg/Kg, i. p.) による抗体産生の抑制が最も強いことを認めた。また SRBC に代えて温和な処理で得た *T. gondii* ホモジネートを抗原とした場合も同じ結果であった。

ホモジネートを 100,000×g 沈渣 (Sed) 及び上清 (Sup) に分け、CY 処置の効果を比較検討した。

抗体産生に及ぼす CY の影響: Sed 及び Sup 抗原

単独で免疫し CY 処置を行った場合、両者共強い抗体産生抑制を受け、Freund の complete adjuvant (FCA) を加えた免疫では抑制効果は低かった。しかし初回免疫後 10 日目の追加免疫の際に CY を施すと、Sed 群の受ける抑制は Sup 群に比べ緩慢であった。

皮膚反応に及ぼす CY の影響: 免疫マウスの足蹠皮内に同種抗原を接種し、3 及び 48 時間後にその肥厚をマイクロメーターで測定し、即時及び遅延型過敏反応を調べた。Sed 及び Sup 免疫マウスの皮膚反応は抗原 + FCA 刺激で即時型及び遅延型に表れ、特に Sed 免疫群の遅延型反応が顕著であった。またこれら免疫マウスに CY を与えた場合の抑制効果は Sed 免疫群には弱く、Sup 免疫群に強く表れた。

オオシスト攻撃に対する免疫マウスの抵抗性に及ぼす CY の影響: CY 処置による抗体応答の抑制の防御への影響を求めため、始めホモジネート免疫マウスに免疫前 24 及び 1 時間、免疫後 24, 48 及び 72 時間に CY を与えた上で、オオシスト (100 個) を攻撃し、30 日間のマウスの生存率及び死亡マウスの平均生存日数から抵抗性を比較検討した。その結果、免疫前 24 及び 1 時間群の生存率はそれぞれ 90 及び 70%, 抗体価はそれぞれ 1:256 及び 1:256, 免疫後 24, 48 及び 72 時間群では生存率それ

ぞれ10, 30及び60%, 抗体価それぞれ1:32, 1:4>及び1:256であった。すなわち免疫後24及び48時間群で抗体産生の強い抑制が見られ, これによるマウスの抵抗性の減弱は抗原に FCA を添加しても回復しなかった。次に Sed 及び Sup 免疫マウスに同様の処置を行った結果, 生存率は Sed 免疫 CY 処置及び無処置群それぞれ30.4及び28.6, Sup 免疫処置及び無処置群それぞれ0及び28.6%と後者に明らかな CY 処置による差が見られた。

以上の成績から, 1) *Toxoplasma* 免疫宿主に対する CY の抗体産生抑制効果は抗原接種後24及び48時間に見られ, Sed より Sup の方に強く表れ, 2) マウス足腫皮膚過敏反応試験は Sup による遅延型反応が抑制され, 3) オオシスト攻撃に対する Sup 免疫マウスの抵抗性は CY 処置で低下するが, Sed 免疫ではほとんど影響を受けないことを知った。

CY 処置が主として宿主のB細胞に働き, 抗体産生に影響すると言われていたが, その後 CY の投与時期及び量によってその結果が左右されることが判明した。本実験では明らかに抗体産生が抑制される時期を選んで CY 処置を行った。その結果, 抗体産生, 皮膚試験及び免疫マウス抵抗性実験のいずれにおいても Sed の方が CY 処置による抑制を受けにくかった。これらは Sed 免疫が Sup より細胞性免疫応答をよく進めることを示唆していると考えられる。オオシスト攻撃に対する抵抗性と抗体量との関係は, 防御にあずかる効果細胞例えばキラー細胞, マクロファージ等との関連の上では一律に説明できないが, オオシスト攻撃が腸管からの侵入に始まり, 最初の防御網は分泌型 IgA 及び腸上皮細胞間げきの IgM 及び IgG にあると考えれば, 抗体の役割は

大きいと言える。したがって感染初期では, 防御が抗体に依存する傾向にあると思われる Sup 免疫マウスに対する CY 処置の影響が顕著であったことがうなずかれる。また Sed 免疫の方が細胞性免疫応答を高め, CY 処置を受けながらもマウスがオオシスト攻撃に耐過したことは, 細胞性免疫応答によってリンパ細胞等が抵抗性を帯び, あるいは宿主細胞内での抗原虫活性が高まったことも考えられる。この点については更に追究したいと考えている。

質問 浅見 敬三(慶大・医・寄生虫)

1) マウス腹腔内増殖虫体から抗原を取り出したとすると, その純度, つまり材料中の腹水細胞の混在の程度は如何でしょうか。

2) particle fraction 免疫マウスに, オオシストによる攻撃に耐えるものが相当出現するが, その理由はスプロトゾイトの細胞内への侵入に対して阻的に作用するためか, 細胞内での tachyzoite の増殖を阻止するためなのか, 何れと考えられるでしょうか。

回答 尾崎 文雄(徳島大・医・寄生虫)

1) 抗原としては, RH 株で攻撃して3~4日後の腹腔内にてできた原虫を使用した。若干のマクロファージの混入を認めるが, これをさらに, 線をつめたカラム及びガラスフィルターに通し, できるだけマクロファージを除去した。最終的な suspension 中の原虫の純度はかなり高く90%以上と思われる。

2) 現段階では明らかなことは言えないが, *in vitro* 系での実験で, L細胞の栄養型原虫の侵入が, 反応系に抗体が存在すると低下すること及び侵入原虫の増殖が始まる時間を延長させる効果のあることを認めている。

20. *Trypanosoma* の K-DNA および N-DNA の *in situ* microfluorometry
第2報 抗癌性物質 neocarzinostatin および bleomycin の影響

猪木正三

奈良県立医科大学寄生虫学教室

尾崎文雄, 岡三希生, 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*
(2) *Effects of anti-tumor substances, neocarzinostatin and
bleomycin*

Shozo Inoki

Department of Parasitology, Nara Medical University, Kashihara, Nara-ken

Humio Osaki, Mikio Oka and Masato Furuya

Department of Parasitology, Faculty of Medicine, University of Tokushima, Tokushima

著者らは、蛍光色素 ethidium bromide で染色した *Trypanosoma gambiense* (Wellcome 株) および *Trypanosoma cruzi* (Tulahuen 株) を山田正興教授 (徳島大学) の試作した Photon Counter for Fluorescence により顕微蛍光測光を行い (測光法の仔細は本誌第13巻 (第1号), 33頁, 1980年を参照のこと), 単個の *Trypanosoma* 細胞に含まれる極めて微量の K-DNA および N-DNA を細胞内にあるままで定量することに成功し, その成果を昨年の本学会に於いて報告した。

今回は, 更に実験を進め, 2重鎖 DNA に結合し single strand break を起こすといわれる抗癌性物質, neocarzinostatin (5 mg/kg) および bleomycin (1 mg/kg) をそれぞれ *T. gambiense* 感染マウスに腹腔内注射し, 注射4時間後と6時間後に全採血して虫を Lanham 法で分離し, うすい載物ガラス上に薄層塗抹した。原虫塗抹標本は乾燥後, 既報の如く ethidium bromide で染色し, UV を照射して生ずる蛍光の強度を Photon Counter for Fluorescence をもって測定することにより, 両薬剤の K-DNA および N-DNA に対する影響を観察した。

その結果, neocarzinostatin では投与4時間にして, 各原虫の K-DNA および N-DNA 量はすでに半減し

たが, bleomycin では投与4時間後には両核酸量に大した減少はみられず, 投与6時間後にはじめて著明な減少が認められた。すなわち, K-DNA は正常値の約1/4に, また N-DNA は約1/8.5に減少していた。更に, bleomycin は K-DNA よりも N-DNA に対し一層強く作用すると思われる成績を得た。

以上の如く, 両薬剤は *Trypanosoma gambiense* の K-DNA および N-DNA に対し強い障害作用を示すことは確かであるが, その作用様式に多少の差異が認められるようである。この点については, 今後更に詳細な検討が必要である。

質問 渡辺 良雄 (筑波大)

薬剤処理後 DNA の repair がおこると思うのですが詳しく DNA 量の時間経過をごらんになっておられますか。おうかがい致します。

回答 猪木 正三 (奈良医大・寄生虫)

御説の通り重要なことと思いませんか。この実験は始めたばかりでまだ行っておりません。T. cruzi は試験内培養も容易ですので, 是非, 今後そうした観察も試みたいと思います。

21. テトラヒメナ細胞の中性プロテアーゼの精製と性質

坂野 喜子, 矢野 高, 野沢 義則
岐阜大学医学部生化学教室

Purification and Characterization of Neutral Proteases From Tetrahymena pyriformis

Yoshiko Banno, Koh Yano, Yoshinori Nozawa

Department of Biochemistry, Gifu University School of Medicine, Gifu

テトラヒメナ細胞は、ライソソーム内の多くの水解酵素を細胞外に分泌することが知られている¹⁾。我々は、*Tetrahymena pyriformis* WH-14 における細胞発育とプロテアーゼ活性の変動を調べた結果、増殖につれて細胞内酵素は減少し、細胞外に多量に分泌されることが示された。そこで、両者のプロテアーゼを単離精製し、その性質を明らかにした。細胞増殖の静止期に達した培養濾液から、硫酸濃縮、酸性処理、CM-セファデックス、ゲル濾過と DEAE セルロースカラムクロマトグラフィーにより、4種 (P-I, II, III, IV) のプロテアーゼを分離した。これらはいずれもポリアクリルアミドゲル電気泳動で単一のバンドを示し、分子量約21,000~24,000のSH-プロテアーゼである。また、これらの酵素は、ロイペプチンで阻害されるが、ペプスタチンでは阻害されないで、カテプシンB様の酵素であるが、至適 pH はいずれも中性付近であった。基質に対する特異性は4種とも異なった性質を示し、アゾカゼインに対してはP-Iが、人工基質であるベンゾイル-アルギニン-ニトロアニリッドに対してはP-IVが高い特異性を示した。

細胞内のプロテアーゼについても同様に分離、精製を行なったところ、4種の酵素がイオン交換カラムクロマトグラフィーにより分離された。これらはいずれも分泌されたものと同様の性質を示した。また、細胞外のP-Iと細胞内のP-Iは免疫化学的に区別出来ない、完全にfuseした1本のバンドを示した。

以上の結果より、細胞内ライソソームに局在すると思われる4種の中性プロテアーゼは、細胞の増殖に伴って細胞外に分泌されるものと思われる。

細胞内におけるこれらライソソームプロテアーゼの役割については明らかではないが、テトラヒメナのグアニル酸シクラーゼの活性化に関与することが明らかにさ

れているテトラヒメナカルモデュリン²⁾³⁾はP-Iプロテアーゼにより、限定分解を受けることがSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動により明らかにされた。また、テトラヒメナは生育温度の変化に伴ってその適応反応として膜脂質の構成に著しい変動が生じ、とくに生育温度を高温(39°C)から低温(15°C)に変化させることによりバルミトクルー CoA 不飽和化酵素が上昇することが明らかにされている⁴⁾。この際、プロテアーゼ活性も約8倍に上昇することがわかり、環境変化に適応する酵素タンパク質の調節にも関与しうる可能性が示唆された。

文献

- 1) Blum, J. J. : J. Cell. Physiol., **89**, 457~472, 1976.
- 2) Suzuki, Y., Nagao, S., Abe, K., Hirabayashi, T., Watanabe, Y. : J. Biochem. **89**, 333~336, 1981.
- 3) Kakiuchi, S., Sobue, K., Yamazaki, K., Nagao, S., Umeki, S., Nozawa, Y., Yazawa, M., Yagi, K. : J. Biol. Chem. **256**, 19~22, 1981.
- 4) Nozawa, Y., Kasai, R. : Biochem. Biophys. Acta, **527**, 54~66, 1978.

質問 渡辺 良雄 (筑波大)

大変興味深く拝聴致しました。これらの proteases の cell 内, medium へ放出される方の両方をたててみるとその合成量はどうか growth stage によって変わりますか、お尋ねいたします。

回答 坂野 喜子 (岐大・医・生化)

細胞内と細胞外の total の活性は、growth により増加しており合成は growth により多少増加していると思われる。

質問 小山 力 (国立予研)

1) free-living protozoa の lysosomal protease が細胞外に分泌されるという現象を興味深く拝聴しましたが、これは free-living protozoa に一般的にみられる現象なのでしょうか。またこうした現象の protozoa の側からみた意義は何なのでしょうか。

回答 坂野 喜子 (岐大・医・生化)

◦Lysosome protease の分泌の意義は、大変興味ありますがまだわかっておりません、今後検討したいと思っております。

◦Lysosome protease が Tetrahymena のようにこれほど多く分泌されるかはわかりませんが、テトラヒメナにかかわらずしも特異的な現象ではないと思います。

22. 高水圧によってひきおこされるクラミドモナスの脱べん毛

佐藤 忠文, 村上 哲英
香川医科大学生物化学教室

Removal of Chlamydomonas flagella by hydrostatic pressure

Chubun Sato and Tetsuhide H. Murakami
Department of Biology, Kagawa Medical School

Chlamydomonas reinhardtii は約12 μ m長の1対のべん毛を有している。このべん毛は、i) 物理的切断, ii) ジブカイン等の薬剤の添加, iii) 培地の水素イオン濃度を急激に低下させること、などによって人為的に除去できることが報告されている。高水圧下ではべん毛の主構成タンパク、tubulin の微小管構造への重合反応が阻害される。そこで今回、高水圧によるクラミドモナスの脱べん毛を試みた。

加圧は野生株である 137C (交配型-) 細胞、3ml の試料に対して 100 kg/cm²~1,200 kg/cm² の範囲でなされた。実験温度は 26°C である。

100 kg/cm² では1時間処理区においてもべん毛脱落に関して影響を与えない。300 kg/cm²、5分間処理では一部の細胞がべん毛を失っている。300 kg/cm²、15分間処理ではすべての細胞が無べん毛となっている (以下完全脱べん毛と略称)。完全脱べん毛は 500 kg/cm² では6分間~10分間処理により、1,000 kg/cm² では2分間~5分間処理を行うことによって得られる。高水圧処理によって脱べん毛をおこさせた試料を2%糖密度勾配遠心、3,000 g、10分間にかけてと25%糖溶液上の界面に、ほぼ正常長のべん毛を得ることができる。クラミドモナスのべん毛消失に関して二つの異なる現象が知られている。第一は細胞との付着点からべん毛が離脱して無べん毛細胞となるもの、第二は退縮 (regression) と呼ばれており、時間とともにべん毛が短縮してゆきやがて無べん

毛細胞となる現象である。遠心分画の結果は高水圧によるべん毛消失が上記第一の離脱に依るものであることを示している。また、1,000 kg/cm² といえども処理時間が1分間以内の場合には脱べん毛はおこらない。このことから、高水圧による脱べん毛が加圧の際あるいは減圧の際の機械的刺激に起因して生ずるのではなく、べん毛離脱には特定の圧力のもとに一定時間保つことが必須であると考えられる。

化学的手段であれ、物理的手段であれ、切除されたべん毛は速やかに再生を開始して、切除後120分でもとの長さに達する。回転カッターによってべん毛をその基部から切断し、20°C、30分後に再生されたべん毛は平均長3.5 μ mであった。この試料を200 kg/cm²に保ち、30分後に検鏡したところべん毛の伸長は全く認められない。対照として常圧に置かれた細胞のべん毛は、この間平均べん毛長にして3.7 μ m伸長して7.2 μ mとなっていた。

以上の実験結果は野生型細胞を用いて得られた。べん毛形成あるいは運動能に異常をもつ以下の3突然変異株についても、脱べん毛を指標として、高水圧感受性に関して予備的実験を行った。

TS-60株：微小管形成阻害剤であるコルヒチン抵抗性、25°C培養では正常分裂するが33°Cで細胞分裂不能。

TS-6株：25°Cで正常に分裂し運動性も正常、33°C

に移行すると分裂停止，べん毛退縮。

RL 株：運動方向が野生細胞と逆向き，べん毛を後尾として進行する。

TS-60 細胞は高水圧感受性について野生型と区別できない。TS-6 細胞は野生細胞の完全脱べん毛条件である

1,000 kg/cm²，5 分間処理に対しても約20%の細胞がべん毛を有している。RL 細胞も 1,000 kg/cm²，5 分間処理で半数の細胞にべん毛が残存している。これら 2 変異株は高水圧に対して耐性を示している。

23. 太陽虫における軸足内の新しい繊維構造

重中 義信，洲崎 敏伸，豊原 明，矢野 和秀，岩田 昌子
広島大学総合科学部情報行動科学教室

A newly-found fibrous structure in heliozoan axopodia

Yoshinobu Shigenaka, Toshinobu Suzuki, Akira Toyohara, Kazuhide Yano and Shoko Iwata
Department of Information and Behavior Science, Faculty of Integrated Arts and Sciences, Hiroshima University, Hiroshima

太陽虫の中でも，特に *Echinospaerium nucleofilum* や *Actinophrys sol* の細胞体内には，小さな顆粒状構造（直径数十nm）の集合体が存在することが知られている。これをX小体と呼ぶが，この構造体は太陽虫にのみ特異的に存在すると思われる。しかし，その実体については，独特な形態をとった小胞体，微小管の崩壊産物，体外に放出される運命にある顆粒などといろいろな推測が行われている。また，X小体の微細構造に関しては，これまで詳細に観察され報告された例がない。それは，この構造体がこれまでに報告されていない不可解な形態を示していることによることによるものかも知れない。そこで，われわれは再び太陽虫の新しい固定法の開発に取り組み，この構造体の解析を試みた。その結果，ルテニウムレッド (RR) を含む固定液の使用により，X小体の微細構造のみならず，その形態変化もある程度まで推測できる段階に到達し得た。

まず第一に，X小体は従来から報告されているような単なる顆粒状構造の形態をとるだけでなく，ラメラ状や小管状（直径 15~30nm）の形態をとることが判明した。RR を含まない従来の固定液を使って太陽虫を固定すると，X小体は細胞体にもみ局在して認められる。しかし，RR を含む固定液を用いると，この構造体は細胞体のみならず軸足内部にも観察されるようになり，軸糸微小管やその他の細胞器官の形態もより良く保存されていた。加えて，これまでに長時間（30秒以上）のグルター

ルアルデヒド (GA) 固定により惹起されていた軸足の短縮現象が，RR の GA 固定液への添加という工夫により，ほぼ完全に防止されることが判った。このことから，太陽虫に関する限りでは，RR を含む固定法は従来の GA-OsO₄ 二重固定法と比較して，より秀れた固定法であると考えられる。今回用いた GA 固定液の組成は 3% GA, 0.01 mM MgSO₄, 1 mM 蔗糖, 0.25 mg/ml RR, 24 mM カコシル酸緩衝液 (pH 7.2) である。この固定液で太陽虫を数分間固定した後，0.5% OsO₄ 固定液 (RR を除く他の成分は同じ) で20~30分間の後固定を行った。GA 固定液中の RR 濃度や固定時間の検討を行った結果，本来，小管状あるいはラメラ状であるべきX小体でさえ，RR を含まない固定液によって顆粒状構造体へと変化し，軸足の基部において，いわゆる顆粒状X小体の小塊を形成することが判明した。その形態変化は，小管状やラメラ状の構造に周期的なくびれが生じ，ばらばらに寸断されることによって起こると推定された。

第二に，本研究によりX小体は細胞体の内部だけでなく，軸足のほぼ全長にわたって，軸糸微小管に平行に位置する繊維状構造体であることが判った。軸足の内部には，主として小管状あるいはラメラ状のX小体が観察され，細胞体内では，これらに加えて顆粒状の形態が多く認められた。また，X小体の壁は部分的には単位膜様の三層構造が認められることもあるが，多くの場合は単一

の層として観察される。軸足の基部付近では、軸糸微小管に沿って小管状の膜構造が多く認められ、これらはX小体と混在している。また、この近辺にはゴルジ複合体も多数観察される。現時点では、X小体が生体膜で構成されていると断定するに至る十分な根拠はないが、その分布状況から判断すると、ゴルジ複合体で形成された膜構造が次第にその形態を変化させてX小体を形成していくといった可能性も当然考えられるが、この点については、今後慎重に検討されなければならない。

太陽虫の軸足が示す重要な機能の一つに、餌となる繊毛虫を捕獲して細胞体に取り込むという機能がある。軸足の先端に付着した餌虫は、軸足の細胞質の収縮により、細胞体に向かって引き寄せられる。餌虫を取り込みつつある軸足を電子顕微鏡で観察したところ、X小体が顆粒状に変化し、細胞質が収縮しつつある区域に集積していることが判った。この場合のX小体の形態変化は、GA固定液により惹起されるX小体の粒状化の過程に極めてよく類似している。恐らく、軸足内で軸糸の周辺の細胞質のかなりの部分を占めるX小体の形態変化によって、軸足の細胞質の収縮という現象が引き起こされるものと思われる。

質問 福井 啓二 (早大・理工・物理)

X-body が軸足のいろいろな位置で異った形態をとるということと、餌をとるなどの軸足の機能等との関連性はあるですか。場所によって形態が異なるということですが、物質的には同じものなのでしょうか。

回答 重中 義信 (広島大・総科・情報)

太陽虫が餌を摂取する際には、X小体はかなり活発な働きをするように思われます。現時点では、ラメラ状X小体または小管状X小体の顆粒化が軸足細胞質の収縮という形で現われると考えております。三種のX小体は物質的にも同じものと思います。

質問 小山 力 (国立予研)

1) Xbody は先端から末端まで連続しているものでしょうか。

2) Xbody と微小管部分との間で微細構造上何らかの連繋を示すような構造は認められませんか。

回答 重中 義信 (広島大・総科・情報)

1) X小体の各要素については判りませんが、全体的には連続しております。

2) 両者は近接して side by side に並んでおりますが、その間に連続構造は認められないようです。

24. *Paramecium caudatum* 及び *Tetrahymena thermophila* の接合域形成過程

菅沼 美子・下出千栄子
佐保短期大学

Comparative study of the region between two conjugants in Paramecium caudatum and Tetrahymena thermophila.

Yoshiko Sukanuma and Chieko Shimode
Laboratory of biology, Nara Saho Women's College, Nara

繊毛虫の有性生殖期にみられる細胞接着と膜融合は、細胞認識や膜独自性の排除等の多くの興味ある問題点を含んでいる。細胞と細胞が接着する最初の段階には、細胞膜自体に著しい変化もたらされているものと考えられ、これらの膜変化について *Tetrahymena thermophila* では SEM による細胞先端部の観察 (J. Wolfe et al., 1979) や、レクチン (Ofer et al., 1976; Frisch et al., 1977; Shigenaka et al., 1979) 等を用いた研究が進め

られている。本研究では接合域形成機構を明らかにするため、*Paramecium caudatum* 27a G3 mating type V VI (syngen 3) 及び *Tetrahymena thermophila* B 1868 mating type III VII をもちい、初期接合過程における細胞接着域の超微構造を観察し、これらを比較検討した。

P. caudatum の接合では、膜接着が始まる以前に、繊毛が崩壊し毛胞は消滅する。しかし繊毛基粒体及び外皮下空隙は、膜接着後も引き続き残存する。細胞の対合

は、細胞前端部から始まるが、両細胞の対合域には、多くの場合位置のずれがみとめられる。また同時に3個の細胞が対合する場合には、第3の細胞の接着予定域とみられる細胞先端部は、他の細胞の側面後方に接着することが多い。そしてこのような対合においても、両細胞間には膜橋が形成され、大核の崩壊を伴う。以上の観察結果から *P. caudatum* では、細胞接着は既存の体表域でおこり、体表を被う細胞膜は、少なくとも接合初期段階における膜接着に関して厳密な特異性を持たないことが暗示された。細胞接着は、内部を原形質によって占められる膜域に限られ、膜橋もこの部分に形成される。繊毛の崩壊は、細胞の対合以前から始まり、接着域の拡大に先立ってその範囲も広がる。細胞対合域の細胞膜と外皮下空隙外膜との間には、径20~160 nmの多数の小胞が封入されている。

T. thermophila は、無機塩液で培養し飢餓状態に保った相補的接合型細胞を混合して接合を誘導した。細胞の対合は、細胞前端に近い囗口上部から始まる。対合域の限界膜内には繊毛基粒体、ムコシスト、外皮下空隙等の表皮系小器官が全く含まれていない。また3個の細胞が同時に対合する場合においても、各細胞の接着域は、この限界膜域に限られる。これらの観察結果から *T. thermophila* の体表膜は、接合に伴う細胞接着域に関して、厳密な特異性をもつものと考えられる。このような表皮系小器官を含まない膜域（接合予定域）は、定常期の細胞にはみられなかったもので、相補的接合型細胞混合後に、まず膜板からわずかに離れた囗口上部から細胞前端に及ぶ小域に、やや突出した「ふくらみ」として始まり、細胞接着の進行に先立って拡大する。接合予定域内部の細胞質中には、ゴルジ様小胞体や管状構造体が多数観察される。この部分の細胞質限界膜は、内側に微小顆粒層を伴っている。この顆粒層は初期には膜からやや離れ比較的低い電子密度を示し、外皮下空隙内膜下の微粒子層との差がほとんどみられない。しかし膜接着後は次第に密度を増し、膜橋が形成されるころには、厚さ約45 nmで高い電子密度を示し限界膜に密着する。限界膜は厚さ約6 nmの3層の構造膜で、内層に比べ外層は厚く、比較的高い電子密度を示す。両細胞は幅約17 nmの明域

をへだてて相接する。明域は微細な繊維状構造物によって占められている。以上の結果から構造的にはこの接合予定域は、相補的接合型細胞混合後に形成されたものと考えられ、囗口上部から細胞前端に及ぶ小域に接合予定域形成のオルガナイヤーが潜在する可能性が示唆された。

質問 北村 昭夫（東北大・理・生物）

ゾウリムシの Plasma membrane と alveolar membrane の間に存在する vesicles は、細胞接着時のみ、特異的に認められるものでしょうか。またこの vesicles の由来と運命に関してはどのようにお考えでしょうか。

回答 菅沼 美子（奈良佐保女学院短大）

細胞接着時のみ、接着域及びその近辺に限ってみられますが、その由来や機能については不明です。

質問 渡辺 良雄（筑波大）

テトラヒメナの場合、接着面の予定部位の形態変化は co-stimulation 期のどのあたりで起るのでしょうか。お尋ねします。

回答 菅沼 美子（奈良佐保女学院短大）

相補的接合型細胞混合後40分で明確にみとめられました。

質問 野沢 義則（岐大・医・生化）

Paramecium と *Tetrahymena* の接合面の異同について。

回答 菅沼 美子（奈良佐保女学院短大）

相異点

Paramecium では既存の細胞表面で細胞同志が対合する。*Tetrahymena* では囗口部上縁から細胞前端に及ぶ小域に新生されたと考えられる膜面のみで接着する。

類似点

- 両細胞は、幅17~20 nmの明域をへだて、細胞質限界膜面（内部に表皮系小器官を含まない）のみで接着する。
- 接着面の限界膜内側は、高電子密度の微粒子層を伴う。
- 細胞接着域内部の細胞質中には多数の E.R. 或いは管状構造物が存在する。

25. ゴウリムシの接合活性と水面及びポリスチレンペトリ皿に対する接着性

北村 昭夫

東北大学理学部生物学教室

Mating reactivity and adhesiveness to water surface and to polystyrene petri dish in Paramecium caudatum

Akio Kitamura

Biological Institute, Tohoku University, Sendai

種々のポリスチレンペトリ皿に対するゴウリムシの接着性をしらべたところ、Falcon 1007ペトリ皿に対して、性的細胞凝集活性（接合活性）をもつ細胞のみ特異的に接着する現象をみつけた。この性質は実験に使用したすべての株（27a G3, Yt3-G1（以上接合型V）Yt3-G9（接合型VI））に共通に認められ、接合活性の強さに依存して、ペトリ皿に対する接着率は増加した。微分干渉顕微鏡での観察から、この接着が接合活性のある腹側繊毛の先端での反応であることや、ポリスチレン基質に接着している繊毛での繊毛運動の停止などが明らかになった。更にこの接着に伴う遊泳の停止が可逆的なものであることも判明した。

ペトリ皿に対する接着機構を知る目的で、この接着に及ぼす外液イオンの影響をしらべたところ、比較的高イオン強度（20mM K⁺）においても、また1mM Ca²⁺と1mM EGTA 溶液中においても、接着のキネティクスに変化はみられなかった。他方、濃硫酸で化学修飾し、親水性を増したシャーレ表面は、接着性を完全に失なった。以上の結果から、ポリスチレンペトリ皿に対するゴウリムシの接着は、Ca イオンを必要としない反応であり、静電的結合ではなく疎水性の結合様式を主に含む反応であることが明らかになった。

次にこの接着が繊毛膜に存在する接合型物質の性的細胞認識部分（結合基）によるものかを知る目的で、トリプシン処理（0.005%, 22°C, 30分）して接合活性を失なった細胞でのペトリ皿への接着性をしらべたところ、処理細胞では、無処理の細胞以上に強い接着性が認められた。この結果は、ペトリ皿に対する接着が必ずしも接合型物質の接合活性基によるものではなく、接合活性の出現に伴ない現われた繊毛膜上の他の部分（Site）での接着である可能性の存在を示唆するものである。この考えを支持する根拠として、接合活性に影響を与えない範

囲（12°C~33°C）で、ペトリ皿への接着率が温度依存性（高温ほどよく接着する）が認められること、月井（未発表）の確立した接合活性の現われない株においても、定常期に特異的にペトリ皿に対する接着性が出現することなどがあげられる。

ポリスチレンペトリ皿との接着に関与する Site がいかなる物質であるかは、まだ明らかでないが、繊毛膜上でのこの Site の出現（あるいは形成）機構が接合活性の出現機構といかに関連しているのか、またこの Site がゴウリムシの性的細胞凝集反応にどのように関与しているのか、これらの解明が今後の研究課題である。

水面に対する接着も接合活性のある細胞に強く認められ、腹側（繊毛）での反応であることが観察された。この接着性は温度の上昇に伴ない増大したが、ポリスチレンペトリ皿の場合と異なり、外液中の Ca イオンの増加が接着率を増加させた。

質問 福井 啓二（早大・理工・物理）

水面への接着というのは、どのような現象のことですか。接着力というのは、ポリスチレンへの場合とくらべていかがですか。

回答 北村 昭夫（東北大・理・生物）

水面にトラップされることで、この場合の接着は、ポリスチレン（Falcon 1007）に対する接着より強いようです。

質問 中里 広幸（筑波大・生物）

私の観察ではガラスに対する接着的行動が、ゴウリムシの濃度を高めた場合に見うけられましたが、ポリスチレン皿への接着に細胞密度が関係しないでしょうか。

回答 北村 昭夫（東北大・理・生物）

詳しくはまだ調べておりませんが、細胞密度が約500~2,000/ml の範囲内では大きな変化はみられないようです。

26. ゴウリムシ (*P. tetraurelia*) の交配型決定について

小泉 貞明, 見上 一幸, 小林 純子
宮城教育大学理科教育研究施設

Mating type determination in Paramecium tetraurelia

Sadaaki Koizumi, Kazuyuki Mikami and Sumiko Kobayashi
Research Institute for Science Education, Miyagi College of Education, Sendai

P. tetraurelia の交配型, O型及びE型はそれぞれの親細胞質によって決定される (B群遺伝様式)。この決定にはE細胞質決定因子が特に関与し, E決定因子の存在下で分化した大核はE型を発現する大核となり, 決定因子の存在しないO細胞質中では, O型を発現する大核が分化するものと考えられてきた。したがって, 大核はそれぞれの交配型を発現すると共に細胞質を決定しており, 接合または自家受精の過程で新しい大核が受精完了後の小核の一部から分化するさい影響を与えることになる。しかし大核分化以前に親細胞質中の小核が既になんらかの決定または修飾を受けている可能性もあることが示唆されていた (Sonneborn '54)。そこで本研究は大核分化のさいの決定と共に小核前決定に関する精しい検討を行ったものである。

1. E決定因子について O型細胞は自家受精によってE型に転換する可能性が殆んどない。接合中のE細胞質を抜き取り, 自家受精中または自家受精前のO型細胞に注射すると F_1 で約10%が, F_2 でさらに約10%がO型からE型に転換した。 F_1 における転換はE細胞質が大核分化のさい影響を与えたものであり, F_2 における転換はE細胞質によってE型として決定または修飾された小核由来の大核が分化したためと考えられる。また増殖期中のE細胞質を注射した場合は転換は起こらなかった。すなわち, E決定因子は有性生殖期に活性化されるか, 増量されるものと推定される。またE細胞質の全可溶性分画を用いてもほぼ同様な転換を示すことから, このE決定因子は可溶性分画中に存在するものと思われる。

2. 無小核系を用いた小核前決定の検討 コルヒチン処理によって得られたO型及びE型の無小核系統を用い, キラーをマーカーとして正常系統 (2n) との交配を行った。O(amic)×E(2n) においてはE小核がO細胞に移動して新しい大核をつくる。この場合 F_1 における

O型由来の系統の中, 41~52%がE型を発現した。またE(amic)×O(2n) においては, O型から移動した小核がE細胞質中で大核に分化する。この交配における F_1 では, E型由来の系統の中, 10~17%がO型であったが殆んどはE型のままであった。これらの結果を正常系統 (2n) どうしの交配の結果と比較すると, E細胞質中であつた小核はなんらかの決定を受けており, O細胞質中で約半数がE大核に分化したことが予想される。またO細胞質中の小核もOとしてなんらかの決定を受けていたとしてもE細胞質中ではその決定は有効ではなく, 殆んどがE細胞質の影響を受けて大核に分化するものと推定される。

3. 極微操作による核移植における小核前決定の検討 微小針を用いO型及びE型の小核を抜き取ってそれぞれの無小核系統を得た。いま, O無小核系統の細胞に増殖期にあるE小核を移植して単小核細胞系統を得た。この細胞の大核はO型であるが小核はE型であるので, これに自家受精を誘導するとE小核由来の大核が分化する。13系統について自家受精後の交配型を検討したところ, 2系統の一部にE型が出現したが, 他は安定なO型であった。また, E無小核系統にO小核を移植した系統においては, 12系統中1系統の一部に selfer が現れたがこれらの系統は極めて安定なE型となった。以上の結果は, 増殖期中のE細胞質中での小核の決定は確かに予想されるが極めて弱いものであることを示唆する。またO細胞質中での小核の決定はこの実験系では認められなかった。

E決定因子は大核分化のさいE大核を決定するように働くと共にE小核にもなんらかの決定を与えている。しかしこの決定は必ずしも絶対的なものではなく, 特に細胞質因子の活性が低下する増殖期の細胞では弱い。O決定因子による小核の前決定はたとえ存在するとしてもE細胞質中では有効に発現しないことが予想される。O細

胞質をE細胞に注射すると少数のE型がO型に転換することからO決定因子の存在は否定できない。

27. ゾウリムシにおける接合型の多型について

月井 雄二, 樋渡 宏一
東北大学理学部生物学教室

Polymorphism of mating type in Paramecium caudatum syngen 12

Yuuji Tsukii and Koichi Hirwatashi
Biological Institute, Tohoku University, Sendai

ゾウリムシの有性生殖(接合)は相補的な接合型(E & O)の細胞同志の接着(交配反応)によって開始される。したがって形態上は同じゾウリムシに属しても相補的でない接合型の細胞は、接合できないので遺伝学上は別種(同胞種)と考えられる。これらの同胞種をゾウリムシの場合、特にシンジエンと呼ぶが、これまで各シンジエンは2つの接合型(E & O)からなることが知られていた。ところが演者らは、シンジエン12では各々の接合型に多型現象がみられることを発見した。すなわちE型(XXIV)のうち、XXIV^a型のものはいずれのO型(XXIII)とも反応しうるが、XXIV^b型の細胞はXXIII^a型の細胞とのみ反応してXXIII^b型のものとは全く反応しない。逆にいうと、XXIII^aはXXIV^a、XXIV^bのいずれとも反応するが、XXIII^bはXXIV^aとのみ反応する。さらに興味深いことには、XXIII^a型はシンジエン3のE型(VI)と擬似交配反応を示す(XXIII^a型の細胞をVI型と混ぜると、初めは通常の交配反応と同様に細胞の凝集が起こるが、これは5~10分以内に消失してしまい、接合対の誘導はみられない)。

ところで、演者らはこれまで、ゾウリムシのシンジエン間交雑を人為的に誘導すると、その結果得られる雑種には稔性があることを報告した。また、これを利用して接合型の遺伝的決定機構についての解析を行ない、次のようなことを明らかにした。すなわちE及びOの型特異

性はそれぞれ別の遺伝子座(Mt及びOm)により支配される。またMt遺伝子はOmに対して上位の関係にあり、MtとOmを同時にもつ細胞はE型を表わす。そこで、次にシンジエン12における接合型の多型がMt及びOm遺伝子座自体の多型性によるものなのか、それとも他の遺伝子座によって支配されるのかを検討した。その結果、シンジエン間交雑を利用した場合、XXIV^a型でMt¹²遺伝子をヘテロにもつ親(Mt¹²/-)からはXXIV^a型の子孫のみが、またXXIV^b型からはXXIV^b型のみが生じた。つまり、Eの型特異性とa及びbの性質の違いは分離せず、伴って遺伝した。同様の結果は、シンジエン内交配によっても得られた。このことから表現型の上での多型はMt遺伝子座自体の多型性によること、すなわちXXIV^a及びXXIV^b型の特異性はそれぞれ対立遺伝子Mt^{12a}及びMt^{12b}により支配されることが明らかになった。またこれらのヘテロ接合体(Mt^{12a}/Mt^{12b})はXXIV^a型を示すことから、Mt^{12a}はMt^{12b}に対して優性であることがわかった。一方、O型については、これまでのところ結論はでていないが、同様にOm遺伝子座自体により多型性が支配されることを示唆する結果が得られている。

最後に、野外から採集された株について調べた結果、XXIV^a、XXIV^b、XXIII^aおよびXXIII^bいずれの型もほぼ同じ割合で存在することがわかった。

28. ゾウリムシにおける大核と小核の分化 (Ⅲ)

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 (Ⅲ)

Kazuyuki Mikami

Research Institute for Science Education Miyagi college of Education, Sendai

新しい大核と小核の分化、形成は、特定の細胞質と密接な関係の下に、接合時の核再編成過程でおこなわれる。*Paramecium caudatum* では受精核(合核)は3回核分裂して8核になる。このとき15~30分間、これらの核は細胞前端に4核、後端に4核、それぞれ離れて位置した後、再び不規則な位置をとる。大核としての形態変化はこの後2~3時間後であるが、細胞前端にあったものが小核に、後端にあったものが大核原基に分化する(Mikami, 1980, Develop. Biol.)。そこで今回は、(1)まず第1にこの核分化に対し口部域が関連を持つかどうか。(2)細胞前端に位置した核はすべて小核になり得るかどうか。(3)細胞後端に位置した核は前端の核と形態的相違はないが、すでに両端に位置した時点で不可逆的分化をおこなっているかどうか。以上3点について検討した。

(1) 口部域は接合中の核の行動を考える上で重要な存在となっている(Sonneborn, 1954)。そこで口部域と核分化との関連を知るために、核分化の起こる直前に顕微解剖法による口部装置の除去を試みた。すでに本大会(前回)で予備的実験結果を報告したが、その後操作法の改良をおこない、口部装置の完全除去がおこなえるようになった。受精核が2回分裂した4核の時期に口部装置除去を18例おこなった。正常な4大核原基の分化は10例でみられ、2原基が2例、3原基が3例、5原基が3例であった。さらに受精核の3回目の核分裂時と同じ実験をして似た結果を得た。これらの結果から、口部装置除去操作が核分化に大きな影響を与えるといえる。しかし、核分化の完全な阻害ではなく、数の上での変化だけであるため、口部域がオーガナイザーとしての役割を持つとは考えにくい。

次に細胞前端部または後端部を、細胞全長の約1/5だ

け除去した。この場合にも大核原基に変化があり、細胞前端を除去した場合には正常の4個より多い数の大核原基が、また後端を除去した場合には、正常より少ない数の大核原基の現われる傾向を示した。この結果は細胞の前後両極の細胞質(または膜)が、核分化を決めているという考えを強く支持している。

(2) 栄養期の細胞は1大核1小核であるが、接合完了細胞には4個の大核原基がある。大核原基は接合後2回の細胞分裂時に分裂することなく分配されるため、1細胞1大核状態がつくりだされる。他方、接合過程の観察から、細胞前端にあった小核になるべき4核中の3核は、後に消失して1核のみが真の小核として残るといわれている。では消失すべき3核が決定されるのはいつであろうか。そこで、細胞前端の4核中の1核を残し、3核を除去してみた。38例の実験をおこない、7細胞は致死であったが31クローンが得られた。これらの中で無小核株は2クローンのみで、他の29クローンは有小核株であった。したがって、細胞前端に位置した4核は、少くともこの時点では、どの核も後の小核として残され得る能力を持つといえる。もし、3核が消失するとするこの時期以後であろう。またさらに、同様な顕微手術の後、2回の細胞分裂時に分離して4クローンにし、それぞれ小核の有無を調べた。その結果、ほぼすべての場合において4クローン共に有小核であった。この結果は細胞前端にある4核中のどの核も、接合後の細胞分裂時に分裂できることを示している。

(3) 細胞後端の核を、すでに小核をぬいた栄養期の無小核細胞に移し、10~15細胞分裂後に核を調べてみた。17例の移植を試みたところ、移植された核が保持されていたのは10例であった。なお、対照実験として細胞前端の核の移植も18例行い、保持されたのは11例であった。

次に移植された核が、接合時に小核と同じ行動をし、新たに大核原基をつくり出すかどうかを検討した。もしこの核がすでに大核的性質を持つのであれば、接合時に減数分裂をおこない大核原基をつくることはないはずである。そこで無小核株との間で接合をおこなった。正常な小核であれば正常な核変化の後、相手の無小核細胞に移動核を移入し、接合対の両細胞に大核原基を形成することがわかっている。その結果、後端の核を移植した10例すべてにおいて大核原基の形成がみられた。ただし、大核原基数は一定せず、1~8個またはそれ以上のものも

あり、原基の形態変化過程に遅れが認められた。接合開始後48~72時間でフォイルゲン染色により観察したところ、中央部のクロマチン塊を囲んで粒状あるいは網目構造がみられる他、ファーストグリーンに対する染色性が弱いなど、正常の大核原基とやや異なる点もあり、今後さらに検討する必要がある。いずれにせよ旧大核の退化像とは全く異なり、大核原基と考えられる。したがって、細胞後端にあった核は大核への不可逆的分化をおこなっているのでなく、まだ小核としての性質を持っていると考えられる。

29. 核移植を用いてのゾウリムシにおけるクローンエイジングの研究

狩野 節子, 樋渡 宏一
東北大学理学部生物学教室

Clonal aging and death after conjugation in Paramecium caudatum

Setsuko Karino and Koichi Hiwatashi
Biological Institute, Tohoku University, Sendai

単細胞真核生物であるゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) のクローンには寿命があり、分裂速度の低下、有性生殖後の子孫生存率低下など種々の老化現象を示すことがよく知られている。一方、この生物は栄養核(大核)と生殖核(小核)の2種の形態的にも機能的にも異なる核を持ち、細胞レベルで老化と若返りを観察できる極めてユニークな系と言える。有性生殖後には古い栄養核が消え、生殖核から新たに次代の栄養核と生殖核が生じるわけであるが、老化現象のひとつである有性生殖後の子孫の生存率低下とは、クローンの加齢に伴ない、この過程がうまくゆかず、子孫が生き残らなくなることである。本実験の目的は、この子孫生存率低下が生殖核に依るものかどうか、即ち、生殖核(小核)にもエイジングによる damage が蓄積するかどうかを調べることである。

今回までに St 29 と 27aG3 という2種のストックを用い、マイクロマニピュレーションによる小核移植を行なってこの問題へのアプローチを試みてきた。まず、St 29 と 27aG3 における子孫生存率変化の様子をエイ

ジングを追って調べた。その結果、St 29 においては、子孫生存率低下は life cycle の終期に分裂速度の低下とほぼ同時に起った。一方、27aG3 ではエイジに伴なう分裂速度の低下がほとんど見られない期間に、子孫生存率だけがエイジに伴なって低下するという老化過程を示した。この対照的な老化過程を示す2つのクローンにおいて、それぞれ老化して子孫のほほとれなくなった細胞中の小核を若い細胞中に移植してその子孫生存率を調べた。その結果、St 29 において650分裂時(10~60%子孫生存率)の小核を若い細胞に移植した場合、その移植されたクローンの子孫生存率は若い細胞と同程度(70%以上)に回復したが、27aG3 において252分裂時(0~14%子孫生存率)の小核を若い細胞に移植しても子孫生存率の回復は見られなかった。即ち、St 29 においてはエイジに伴なう子孫生存率の低下は親の栄養核あるいは細胞質の damage に原因があり、27aG3 においては生殖核に原因があることが示唆される。今後は、この2つのストックを比較することにより、どういううちがいがこの2つのストックにこのような対照的な老化過程をひき

おこすのかを調べることが重要と思われる。

質問 高橋三保子 (筑波大)

G3 では小核のダメージの蓄積が Aging の原因と考えられる、との事ですが、若い細胞からの小核を老いた細胞に移殖しても、子孫の生存率は高いという結果は得

られますか。

回答 狩野 節子 (東北大・理・生物)

27aG3 では小核にエイジによる Damage が蓄積したと考えられます。若い小核を老化した細胞に移殖する実験はこれから行なう予定です。

30. ゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) における Cytogamy の人為的誘導

庄野真理子, 高橋三保子

筑波大学, 生物科学

Artificial induction of cytogamy in Paramecium caudatum

Mariko Shono and Mihoko Takahashi

Institute of Biological Sciences, University of Tsukuba

ゾウリムシ (*P. caudatum*) には, *P. tetraurelia* 等で見られるような Natural autogamy の存在は知られておらず, 全ての遺伝子をホモにする手段として, 人為的な Autogamy の誘導法が開発されてきた (Mikami & Koizumi 1979; Tsukii & Hiwatashi 1979). 我々は今回, 大量に培養した細胞を簡単な手段で遺伝的にホモにする手法として Cytogamy の人為的誘導を試みた. 方法は *Tetrahymena thermophila* で成功している, Orias の開発した, 配偶核交換の時期に浸透圧ショックを加える, という方法を応用した.

Cytogamy が起っているかどうかは, それぞれ異なる劣性の遺伝子をホモに持つ株を交雑し, 子孫の表現型により判定した. 実験に用いた株 27aG3 (mating type V) は遺伝子型 *nd-2/nd-2*, *cnrB⁺/cnrB⁺* であり, 株 Cys (mating type VI) は遺伝子型 *nd-2⁺/nd-2⁺*, *cnrB/cnrB* である. 従って Cross fertilization であれば子孫の表現型は野生型であるが, Cytogamy であれば, Exconjugant のそれぞれが突然変異の形質を示すはずである.

接合活性の強い相補的な接合型を混ぜてから, 配偶核交換の時期 (12時間前後) を中心にして経時的に細胞懸濁液 1ml に 2%メチルセルロース (4,000 cps) 1ml を加え 2時間処理した後, 接合対を isolate し, それぞれの子孫の表現型を調べた. その結果12時間目に処理をしたものを中心に12~17%の割合で Cytogamy を誘導出来ることが確認された.

浸透圧ショックの為の処理溶液は, 4,000 cps のメチ

ルセルロースの他, 粘度の異なるいくつかのメチルセルロース, 蔗糖, KCl, NaCl, ポリエチレングリコール (MW 6,000) でも試みたが, 細胞に与えるダメージ, 有効濃度の幅, 株によるダメージの大きさの差等を検討したところ, メチルセルロースが一番ダメージが少なく, 有効濃度の幅も広く (0.5~2%), 扱いやすい試薬である. メチルセルロースは 20~30 cps という粘度の低いものでも誘導出来ることは確かめられたが, 粘度の差によって誘導率に差があるかどうかは明らかでない.

Cytogamy の人為的誘導が可能になったので, この手法を突然変異を得る作業に応用した. それぞれの接合型をニトロソグアニジン処理し, Cytogamy の誘導を行い, 行動突然変異種 CNR を 2株, Ba⁺⁺-insensitive を 1株, 薬剤抵抗性変異株である MPR を 1株得ることが出来た. この様に簡単な操作で Cytogamy を誘導出来ること, また実際に応用出来ることが明らかになった.

質問 小泉 貞明 (宮城教育大)

nd 株を問いた無処理 cross (control) において Cytogamy は何%位起こりますか。

回答 庄野真理子

1~2%起こりました。

質問 渡辺 良雄 (筑波大)

本当に cytogamy がおこっているかどうかは, むしろ *nd-2* や *cnrC* のヘテロカリオンをつかった方がよいのではないのでしょうか. 本当に cytogamy をやったという証拠はどの様なことを根拠にしていますか. おたずねし

ます。

回答 庄野真理子

cytogamy がおこったのではなく、有性生殖がうまくおこらなかった場合には、immature な、mating reaction

をおこさない時期がありません。cytogamy がおこるか、cross fertilization がおこるかすると、一定の時間 immature ですから、両者を区別することが出来ます。

31. *Paramecium caudatum* の trichocyst non-discharge mutants とその遺伝解析

武居 克明, 樋渡 宏一

東北大学理学部生物学教室

Trichocyst non-discharge mutants in Paramecium caudatum and their genetic analysis

Katsuaki Takei and Koichi Hirwatashi

Biological Institute, Tohoku University, Sendai

ゾウリムシは organelle の一つとして、trichocyst を備えている。trichocyst は細胞膜直下に存在し、様々な処理により放出さ (exocytosis) れる。trichocyst に関する突然変異は、*Paramecium aurelia* complex で多数発見され、trichocyst の合成・migration・attachment, そして exocytosis の各過程を研究する上で、有用であると同時に、形質の test がごく簡単なため、marker として非常に利用価値が高いことが知られている。

今回我々は、*P. caudatum*, syngen 3 において、ピクリン酸で処理しても、trichocyst を放出しない突然変異体を見出し、その遺伝解析を行なった。

(1) Stock; 27aG3

ピクリン酸の水溶液につけても、trichocyst を放出しない。しかし trichocyst less mutant ではなく、細胞の表層に、野生型と同程度の密度の trichocyst を持っているため、放出機構の突然変異体であろうと思われる。遺伝解析の結果、この突然変異形質は、劣性の単一遺伝子に支配されていることがわかり、これを nd 2 と名付けた。(nd 1 については後述。) また、nd 2 は ccnrB とは連鎖していない。

(2) stock; 16D202a

ピクリン酸の水溶液につけても、trichocyst を放出しない。これも trichocyst less mutant ではなく、細胞の表層に、野生型と同程度の密度の trichocyst を持っており、放出機構の突然変異体であろうと思われる。前述の

27aG3 と相補性テストを行なった結果、この形質は、nd 2 とは別の劣性遺伝子に支配されていることがわかり、便宜上、この遺伝子を nd 1 と呼ぶことにした。更に遺伝解析を行ない、F2 の分離比 (Discharge : Non-discharge=42 : 41) を X² 検定した結果、16D202a が nd 遺伝子を一種類のみ持っている、という仮説は否定され、2つ以上の nd 遺伝子を持っていることが、強く示唆された。従って nd 1 と呼んだものは、更に複数の遺伝子に分かれる可能性がある。

質問 重中 義信 (広島大・総科・情報)

この mutant では確かに細胞外への放出はないようですが、細胞内での発射現象は認められませんか。電顕レベルでは、この現象が wild type でよく起こっていますが如何でしょうか。

回答 武居 克明 (東北大・理・生物)

私は、細胞をピクリン酸処理し、それを光顕でしか見ておりませんが、ピクリン酸で処理しますと、細胞が黄色に染まってしまう、体内へのトリコソストの放出があるかどうかについては、わかりません。

質問 渡辺 良雄 (筑波大)

16D202a (nd-1) で頭の先、後方の方で partial に discharge が起っているようにみえるのですが、体側の辺のトリコソストのならば方と頭の先や体後方でのならば方と違いがみられませんか。

回答 武居 克明 (東北大・理・生物)

ゾウリムシを観察していると、細胞の側面よりも頭部と尾部で、トリコシストが、非常によく目につき、並び方の密度に差があるような印象を受ける例によくぶつかります。突然変異体の partial discharge にもこのことが関係しているのかもしれませんが。

質問 丸山 正 (都立大・理・生物)

Partial discharge がおこる場合に短いものが見られるようでしたが、これらの mutant では discharge の調節ではなく、Trichocyst のタンパク (伸張性のタンパ

ク) 自体の変化によるのではないのでしょうか。

回答 武居 克明 (東北大・理・生物)

私の記憶に誤りがなければ、27aG3 の細胞のトリコシストは、押しつぶし方で放出させることができ、その時トリコシストは直線状に伸びていました。ですからこの系統については、トリコシストのタンパク質が変化して、伸張ができない、ということではないと思います。それ以上のことについては、わかりません。

32. ゾウリムシの膜興奮性に関与する *cnrC* 遺伝子産物の分離

樋渡 宏一, 芳賀 信幸

東北大学理学部生物学教室

Isolation of a gene product controlling membrane excitability in Paramecium caudatum

Koichi Hirwatashi and Nobuyuki Haga

Biological Institute, Tohoku University, Sendai

ゾウリムシ *Paramecium caudatum* には膜の興奮性に傷害をもつ突然変異が3種類見出されていて、それぞれ *cnrA*, *cnrB*, *cnrC* という遺伝子によって支配されていることが知られている。この中で、遺伝子に支配される突然変異体は野生型の細胞質を注射することにより、一時的に野生型の表現型を示すことはすでに発表した (J. Cell Biol. 84: 476, 1980)。この研究では突然変異体のもつ傷害を修復する野生型細胞中の成分がどのようなものであるかを調べた。

まず、野生型細胞の可溶性分画にも細胞質と同様に注射によって突然変異細胞を野生型に変化させる作用がみとめられるかどうかを調べた。野生型細胞約 4.8×10^7 をホモゲナイズし、その 105,000 g 上澄を *cnrC* 細胞に注射したところ、上澄を取るための緩衝液に Ca^{2+} を含まない場合は作用は全く見られず、 Ca^{2+} と Mg^{2+} をそれぞれ 1 mM および 5 mM 含むトリス塩酸緩衝液を用いた時に高い作用がみとめられた。次に 105,000 g 上澄をダイアフローメンブラン XM 50 および UM 10 を用いて分画した。XM 50 濾過では通過液は活性をもっていたが残留分画 (分子量 50,000 以上) は活性をもたなか

った。UM 10 濾過では残留分画に活性があり通過液には活性が認められなかった。XM 50 残留分画の蛋白濃度は通過液の約10倍あるので活性分子は分子量50,000以上の分画には含まれていないと考えられる。UM 10 濾過の通過液の蛋白濃度は残留液の 1/2 以下であるので、分子量10,000以下の分画の活性の有無は明らかではない。分子量50,000以下の分画は 100°C 10分処理で完全に失活し、また不溶性トリプシン処理 (27°C 65分) で活性は約 1/5 に減少した。対照として用いた熱失活トリプシン処理では活性は全く減少しなかった。

注射の効果は、注射後約3時間で現れはじめ、7~8時間目に最高に達した。効果は24時間程維持し、48時間では殆んど見られなくなった。

以上の結果は *cnrC* 遺伝子産物の産物が熱に不安定な分子量50,000以下の蛋白質であることを示している。この蛋白質がゾウリムシの膜の興奮性維持に必要なことは明らかであるが、興奮性維持にどのように関与しているかは今後の研究をまたねばならない。

質問 浅井 博 (早大・理工)

熱処理やトリプシン処理を十分行えば、完全に Ciliary

Reversal の復活が見られなくなると考えてよいでしょうか。

回答 樋渡 宏一 (東北大・理)

その通りです。

質問 浜崎 俊一 (筑波大・生物)

問題としている分画を①何れかの方法で不完全に失活した場合②注射量を適当な量にした場合、などに、CNRの形質が不完全に回復する等の現象が観察されないか。

回答

イオン刺激した場合にごく短時間の繊毛逆転しか示さない場合が時々見られるので、不完全な回復という現象はあり得ると思いますが、定量的な関係を明らかにする実験はやっておりません。

質問 渡辺 良雄 (筑波大・生物)

$10^5 \sim 50^5$ の soluble protein (有効な) fraction 中に calmodulin と Ca^{2+} complex をつくるかどうかためしたい気持ちがします。

33. ユーグレナの細胞分裂 (I)

斎藤 実

横浜国立大学教育学部生物学教室

Cell division in *Euglena* (I)

Minoru Saitō

Biological Institute, Faculty of Education, Yokohama National University, Yokohama

ユーグレナの細胞分裂について、鞭毛の挙動、および分裂面と細胞の相称性との関係を中心にして検討した。材料にはクローン培養した *Euglena stellata* と *E. intermedia* を用いた。前者は中形種で、細胞は球形になって分裂し、後者は大形種で、伸長したままで分裂をおこなう。両種とも Chu, No. 10 (S. P. Chu, 1942) 溶液と 1.5% 寒天との二相培地に vitamine mixture S₃ (L. Provasoli *et al.*, 1957) と ESP solution (L. Provasoli, 1966) を添加し、pH 7.0 に調節して培養し、明暗周期を設定して同調した分裂個体を得た。

ユーグレナのペリクルには、進行方向に向かって左巻の多数の条線 (striae) が認められる。条線はしま状のペリクル片 (stripes) の縫合線で、その数はクローンによって一定し、分裂間期に間挿的に増殖する。ストライプは細胞の前端部でせばまるとともに、条線の吻合によって数が減り、道管 (canal) の開口部から陥入してその後端部に達している。ユーグレナ類の細胞は螺旋相称を示し、他方左右相称性を示す面もあることが G. E. Ledale (1967) 等によって指摘されているが、前記 2 種については次の諸点に背腹性の分化を認めることができる。すなわち細胞の前端に近い側に多数の赤色顆粒の集合した眼点を持つが、この方向を背側とすると、1)

道管は細胞の頂端から外れて腹側に開口し、細胞の背縁に沿って僅かに彎曲しながら後進して、球形に広がった貯胞 (reservoir) に連なる。2) 第一鞭毛は貯胞の前端近くに卵形の膨大部 (flagellar swelling, 感光点) をもつが、これを背側から半月形に囲む形で、大形板状の眼点が存在する。3) 収縮胞は貯胞の腹側に形成される。なお 4) 2本の鞭毛は貯胞底の背側に互いに近接して側生するのが一般であるが、*E. intermedia* では腹側に側生する個体があり、その意味は不明である。

ユーグレナの鞭毛は片羽型の側毛を持ち、第一鞭毛のみを細胞外に出すが、側毛 (mastigoneme) は Loeffler 染色で明瞭に染め出すことができる。核は分裂間期には細胞のほぼ中央に位置するが、分裂期に入ると前方に移動して貯胞底に接近する。貯胞は核分裂の進行とともに幅広い円錐形に変わり、第一鞭毛は貯胞内で切断されて感光点を失い、これとともに眼点は崩壊して構成顆粒ないし顆粒群は細胞内に分散する。

生体の位相差像によると、*E. stellata* の核は、分裂の中期から後期に伸長し、半月形となるが、核膜の両端部は貯胞底の両側にある基底小体 (basal body) に非常に近接している。この場合、カリオソーム (エンドソーム) は染色体群に先んじて核の両端近くまで突出し、先

端部はやや斜断され、前縁が基底小体に向かって引き伸ばされた像が少なからず認められる。一方 *E. intermedia* では、分裂期における貯胞の広がり小さいため、核と基底小体とが密接した像は認められない。これらの二型を比較検討するには、rhizoplast の有否を含めた微細構造の検討が必要であろう。

ユーグレナの細胞分裂は基本的には縦分裂 (symmetrical division) の過程をたどるが、これを *E. intermedia* で観察すると、核分裂の後期末ないし終期には、貯胞内の2鞭毛の側方には早くも新しい2本の鞭毛を生じる。続いて貯胞がくびれ、道管も縦裂して、貯胞一道管系が単一の開口部をはさんで逆V字形を示すようになり、道管部が分離すると、その間に浅い分裂溝を生じる。分裂溝は両開口部を結ぶ線と直交し、相対する条線を結ぶ線に沿って螺旋状に進行するため、当初は分裂部

が時計方向にねじれて道管が交叉するが、溝の進行とともに、これらは完全に両半部分に分離する。分裂の進行はY字形に変わった分裂細胞の両腕部の時計方向への回旋を伴うが、他方両分裂部は、それぞれが反時計方向にねじれ、ペリクルの正常の螺旋性を回復する。感光点と眼点は縦分裂の初期に形成されるが、その時期は種によって異なる。

ユーグレナの相称性については、左右相称性(背腹性)を基本とし、螺旋性を二次的な変化と考える立場と、逆の立場とが考えられる。この問題については、上記の観察に加えて微細構造の検討と、想定される背腹軸と当初の分裂面との関係を明らかにすることが大切であるが、後者については技術的な困難のため、その試みは成功していない。

34. *Tetrahymena thermophila* の細胞分裂に関する温度感受性突然変異株の単離細胞を用いた作用点の解析

田村 良二, 渡辺 良雄
筑波大学生物科学系

Analysis of execution point of ts-mutants affecting cell division of Tetrahymena thermophila by using isolated single cells

Ryoji Tamura and Yoshio Watanabe

Institute of Biological Sciences, The University of Tsukuba, Ibaraki

我々は *Tetrahymena thermophila* から単離した分裂の ts-mutants の3株 (6D6, M10, 3A10) について、restrictive な温度を細胞周期のどの時期で感受しているのか (execution point の同定) を、細胞を毛細管内に単離し観察する方法を用い明らかにした。野生株 B1868, 6D6, M10, 3A10 は non-restrictive な温度では毛細管内でそれぞれ 168 min, 171 min, 189 min, 213 min の世代時間で分裂することができた。

restrictive な温度処理をすると、ts-mutant は特徴ある分裂停止像を毛細管内で示し、正常に分裂する細胞と容易に区別できることが判明した。次に単離した毛細管内の細胞が第一回目の分裂を完了した時間を0分として、0, 30, 60, 90, 120分に non-restrictive な温度か

ら restrictive な温度に移したところ、細胞は全て分裂停止を示した。120分以後は分裂期に近いことから分裂溝の深さを指標にステージ分けし、同様の操作を行ったところ、野生株は調べた温度で全て分裂が可能であったのに対し、M10, 3A10 では分裂溝が1/2~2/3陥入した時期、6D6 では分裂完了直前の時期のものは処理後分裂を完了しうる個体が出現した。このことは3種の mutants の execution point は分裂期にかかっていることを示すと考えられる。更にこの点について遺伝解析の結果 single mutation であることが判明している6D6を選び42.5°C, 10分パルス処理による方法で詳しく調べた。その結果、120分以前にパルス処理した細胞では世代時間の相関した分裂出現の遅延が認められたのに対し120分

にパルス処理すると、世代時間の遅延を示さない細胞が出現し、150分にパルス処理した細胞では多くのものに世代時間の遅延が認められなかった。このことから6D6の physiological transition point は120分付近であると考えられた。同実験を、細胞分裂が停止するかどうかという観点から見ると、120分まではいずれの時間にパルス処理しても細胞は正常に分裂することができた。しかし、150分にパルス処理した場合、約半数の細胞に分裂停止が見られた。この150分にパルス処理した細胞について、パルス処理前後の形態と、その細胞が分裂できたかどうかを調べてみた結果、150分パルス処理の細胞集団は、1) パルス処理前後に分裂溝が認められず、世代時間が遅延するもの。2) パルス処理前後に分裂溝が認められず、世代時間が遅延しないもの。3) パルス処理前には分裂溝が認められないが、パルス処理後には浅い分裂溝が認められ分裂停止を示すもの。4) パルス処理前に様々な深さの分裂溝が認められ分裂停止を示すもの。5) パルス処理前に分裂完了直前のもので、パルス処理中あるいは後に正常に分裂を完了できるもの、の以

上5種の細胞より成っていることが判明した。先の実験の結果とパルス処理実験の結果より6D6の execution point は transition point の後に存在し、分裂溝形成初期から完了直前までの期間であることが判った。次にパルス処理で停止した分裂が再開されるかどうか調べてみたところ、多くの細胞が、停止した分裂溝を保ったままの時期(103.6±28.9分)を経て停止した分裂溝を解消し、新たな分裂溝を形成し分裂する(207±69.0分)ことが示され、停止した分裂溝が再び機能するのではないことが判明した。以上のことより6D6の変異をおこした gene の産物は分裂溝陥入期のほぼ全域の過程にかかわると共に、42.5°Cで不可逆的な変化を起こすと考えられる。

質問 樋渡 宏一(東北大)

温度ソフトアップのパルスを色々な時期に与えたものについて Cortical layer の電頭像はどうなっていますか。

回答 田村 良二(筑波大)

現在、研究中です。

35. *Tetrahymena thermophila* の細胞分裂に関する温度感受性突然変異株の温度同調による作用点の解析

渡辺 良雄, 田村 良二

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

Analysis of excusion point of ts-mutants affecting cell division of Tetrahymena thermophila by using temperature-induced synchrony

Yoshio Watanabe and Ryoji Tamura

Institute of Biological Sciences, The University of Tsukuba, Ibaraki

Tomoyoshi Yasuda

Laboratory of Technology, National Institute of Health, Tokyo

我々は *Tetrahymena thermophila* から単離した分裂の ts-mutants の3株(6D6, M10, 3A10)について、分裂溝形成及びその収縮に関する mutants である事の証明, mass での physiological transition point 及び

excusion point の解析, さらに将来 mass で生化学的に変異蛋白質を解析することを目的として, 温度処理による synchronous rounding (abortive synchronous division) と synchronous division の誘導を試みた。

6D6, M10, 3A10 は温度感受性の mutants であるにも拘らず 34°C と 42.5°C, 30分ずつ反復 7 回の同調温度処理で野生型 (B1868) と同様に synchronous rounding を誘導し得た。この事は温度処理 (42.5°C) が mutants の restrictive な温度であるにも拘らず細胞周期は全く異常なく進行することを意味しており、3つの mutants とも分裂溝の形成やその収縮に関する変異株であることが示された。そこで synchronous rounding 誘導条件から division へ移行させる条件を検討した結果、温度処理 4 時間前からアミノ酸欠如培養液に proteose-peptone を添加することで、ts-mutants を温度処理で同調分裂させることに成功した (分裂のピークは温度処理後 60 分)。この同調分裂系を用い、主として 6D6 で division cycle における温度感受性を 42.5°C, 10 分パルス処理で調べたところ、野生型でみられる正常な physiological transition point (温度処理後約 35 分) が存在することの他に分裂期の特定期に restrictive な温度の作用点があることが判明した。この結果は単離細胞を用いた作用点の解析結果と全くよく一致した。この mutant では、分裂溝形成およびその収縮期に高温度パルス処理を行うと、分裂溝の収縮に関する進行が完全に停止し、少なくとも 40 分以上分裂像が持続された (野生型の restrictive, non-restrictive な温度, 6D6 の non-restrictive な温度では分裂時間は 15 分である)。mutant に於ける温度による分裂溝陥入停止は分裂溝以外の部域に大きな阻害を及ぼさぬため、予定娘細胞の伸長、背腹側成長の差から生ずる

分裂溝の段違い、娘細胞のアンバランスなどの異常分裂像が 40 分以上続きその後一旦分裂溝が定かでない状態になり、しかる後に正常な分裂をやりなおす回復状況が明らかになった。正常分裂では分裂期に蛋白合成阻害剤の 25 μg/ml の cycloheximide で合成を完全に抑制しても、それとは無関係に分裂が進行するが、mutant の異常分裂からの回復には新たな蛋白合成が必須で、40 分間の異常分裂期に cycloheximide を処理すると 1 日以上分裂像を呈したままで全く回復が起らぬことが判った。このことは mutant の変異を起した gene の産物が 42.5°C で不可逆的な変化を起すと考えられる。従って、薬剤処理で長時間分裂像を呈している細胞に野生型からの蛋白分画を微量注射し、変異遺伝子産物の追求をする bioassay に利用しうる可能性もあると考えられる。

質問 丸山 正 (都立大・理・生)

Division arrest をおこしているものにシクロヘキシミドを加えた場合の実験結果ですが、arrest が長くつづいている間は、熱感受性以外のタンパクは安定であるわけでそのとき熱によって消失 (不活性化された) タンパク合成がおこれば、又 cell cycle (division) の進行がおこるということでしょうか。

回答 渡辺 良雄 (筑波大・生物)

Recovery に mutation をおこした gene の product のみが合成されるとは思いませんが、この蛋白が十分量合成されれば再び division が起ると思っています。

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8回	東京都	昭和49年	石井圭一
第1回 小平市	昭和42年	藤田澗吉	第9回	大阪市	昭和50年	高田季久
第2回 吹田市	昭和43年	猪木正三	第10回	東京都	昭和51年	盛下 勇
第3回 広島市	昭和44年	尾崎佳正	第11回	岐阜市	昭和52年	野沢義則
第4回 東京都	昭和45年	松林久吉	第12回	横浜市	昭和53年	斎藤 実
第5回 徳島市	昭和46年	尾崎文雄	第13回	吹田市	昭和54年	中林敏夫
第6回 仙台市	昭和47年	樋渡宏一	第14回	茨城県	昭和55年	渡辺良雄
第7回 奈良市	昭和48年	稲葉文枝				

ニ ュ ー ス

第6回国際原生動物学会に臨んで

猪 木 正 三

1981年7月5日より11日に至る約1週間、ポーランドの首都ワルシャワ市のショパン音楽学校(Frederyk Chopin Acodemy of Music)において、S. Dryl 博士を会長として第6回国際原生動物学会が開催された。今回の学会は、同国の政情不安の真只中に行われたためか出席者が少なく、多少淋しい学会となったが、日本人の出席者は私を加えて11名にも達し、その上、主催者側の暖かい心遣いもあって、ワルシャワの1週間を楽しく過ごすことができたのはなによりも幸せであった。

学会初日の7月5日(日曜日)は朝9時より会場において登録(registration)が始まり、午後3時半より同校のコンサートホールにて開会式、特別講演(下表の I. PLENARY LECTURES 参照)が順次挙行され、続いてショパン音楽学校提供によるバイオリンおよびピアノの演奏会が催された。夜は8時過ぎより、同校の食堂においてカクテルパーティーが開かれ、会員相互の交歓が行われた。

翌日の7月6日(月曜日)からは、3つのホールを使って研究発表が行われ、活発な討論が繰返された。これらの発表論文の内容については、学会の抄録集(abstracts)および1982年に Post Congress Volume として出版される 'Progress in Protozoology' を参照して頂くこととし、ここでは、限られた紙面の関係上、学術プログラムの主要な項目と日本人発表者の氏名、発表セッションおよび演題のみを列挙するに止めた(下表参照)。

なお、学会のちょうど中間日の7月8日(水曜日)は学術プログラムがなく、昼はワルシャワ市内および近郊の観光、夜は Tazienkowski 公園内にある宮殿においてパンケツトが行われた。

International Commission of Protozoology は会期中2回開催され、私も出席したが、今回は次期開催国を決定すること以外に重要な議題はなかった。最初の会合で候補地として指摘されたのは日本とメキシコだったが、第2回目の会合ではケニアが新たに加わり、まず、これら3か国の委員が受け入れの可能性などについて説明を行った上、全委員による投票が行われ、開票の結果、次期開催国はケニアと決定した。従って、次の学会は4年後の1985年首都ナイロビにおいて行われる予定である。

最後に、本学会の1つのトピックとしてハルビン師範大学生物学科の史新柏教授が中共の学会を代表して出席していたことについて触れておかなければならない。同教授は本年、中共に原生動物学会が誕生したことや、その創設に主役を演じた人は、かつて米国インディアナ大学の T.M. Sonneborn 教授の下で大学院学生としてゾウリ虫のカッパーを研究していた Dr. P.K. Chao であることなどを詳しく話してくれた。1953年、私が Sonneborn 教授の処に留学していたとき、隣の部屋で夜遅くまで黙々としかも熱心に研究していた青年が、紛れもないこの Dr. Chao である。当時、彼とは親しく付き合っていたので、史教授の話聞いて我事のようにうれしく思った。できれば近い将来、彼を紹介して原生動物学者の日中交流でも考えてみたいものである。

OPENING SESSION

Official Opening of the VI International Congress of Protozoology by Stanislaw DRYL,
President of the Congress

Welcome Addresses by

Aleksander GIEYSZTOR,
President of the Polish Academy of Sciences
R. Barclay McGHEE,
President of the Society of Protozoologists
Adam URBANEK,
Secretary of the Biological Sciences
Section of the Polish Academy of Sciences

Opening Address and Remarks by

John J. LEE,
Secretary of the International Commission of Protozoology

I) PLENARY LECTURES

- 1) W. Trager (U.S.A.)
Recent Advances in the *in vitro* Cultivation of Parasitic Protozoa and their Significance for the Control of these Parasites
- 2) J. Poljansky (U.S.S.R.)
Interspecific Variations and Species Concept in Protozoa
- 3) L. Kuźnicki (Poland)
Protozoology in Poland : Past and Present

II) PLENARY LECTURES

- 1) P. J. Bruns (U.S.A.)
Genetic Engineering in *Tetrahymena*
- 2) J. B. Tucker (U.K.)
Assembly and Patterning of Microtubular Structures
- 3) Y. Nozawa (Japan)
Environmental Adaptation of *Tetrahymena* Membranes : Role of Membrane Lipids

III) PLENARY SESSION

Round-Table Discussion on Phylogenetic Relationships among Protozoa

IV) SYMPOSIUMS

Symposium A. Variation, Life Cycle, Systematics and Phylogeny of Protozoa

Symposium B. *In vitro* Cultivation of Parasitic Protozoa

Symposium C. Cellular Membranes; Structure and Function

Symposium D. Cytoplasmic Organelles (e. g., Mitochondria, Kinetoplasts, Hydrogenosome, Glycosome)

Symposium E. Ultrastructural and Molecular background of Motility

Symposium F. Mutualistic (Symbiotic) Relationship

V) CONTRIBUTED PAPER SESSIONS

1. Variation, Life Cycle, Systematics and Phylogeny of Protozoa

2. *In vitro* cultivation of Parasitic Protozoa

3. Cellular Membranes : Structure and Function

4. Cytoplasmic Organelles and Metabolism

5. Ecology of Free-living Protozoa

6. Motility and Behaviour in Memoriam of Professor Theodor L. Jahn

7. Antigenic Analysis and Immunogenecity

8. Action of External Agents and Drugs

9. Genetics and Morphogenesis in Memoriam of Professor M. Sonneborn

10. Ecology of Parasitic Protozoa and Host Parasite Relationships

VI) POSTER SESSIONS

Part A. and Part I.

Systematics, Life Cycle, Systematics, and Phylogeny of Protozoa

Part B.

In vitro Cultivation of Parasitic Protozoa

Part C.

Cellular Membranes : Structure and Function

Part E.

Ultrastructural and Molecular Background of Motility

Part F.

Mutualistic (Symbiotic) Relationship

Part II.

Genetics and Morphogenesis in Memoriam of Professor Tracy M. Sonneborn

Part III.

Antigenic Analysis and Immunogenecity

Part IV.

Action of External Agents and Drugs

Part V.

Motility and Behaviour in Memoriam of Professor Theodore L. Jahn

Part VI.

Ecology of Free-living Protozoa

Part VII.

Ecology of Parasitic Protozoa and Host Parasite Relationships

Part VIII.

Cytoplasmic Organelles and Metabolism

VII) SCIENTIFIC FILMS SESSION

原生動物の運動などに関する2つの教育映画が上映された。

G. 日本人の発表セッション・発表者氏名・演題

PLENARY LECTURE

Y. Nozawa

Environmental adaptation of *Tetrahymena* membranes : Role of membrane lipids

SYMPOSIUM C. Cellular Membranes : Structure and Function

Y. Nozawa, S. Nagao

Regulation by calmodulin of membranebound guanylate cyclase in *Tetrahymena*

K. Hiwatashi, A. Kitamura

Ciliary membranes in the mating reactions of *Paramecium*

CONTRIBUTED PAPER SESSION

Cellular Membranes : Structure and Function

H. Fukushima, S. Umeki, Y. Nozawa

Alterations in *Tetrahymena* microsomal desaturase activity and the level of electron transport components during temperature adaptation

CONTRIBUTED PAPER SESSIONS

Genetics and Morphogenesis in Memorium of Professor Tracy M. Sonneborn

S. Inoki, H. Osaki, M. Furuya

Microfluorometry of whole kinetoplast DNA and nuclear DNA in a single *Trypanosoma* cell

H. Kosciuszko, S. A. Koizumi

Induction of autogamy by transfer of macronuclear chromatin in *Paramecium aurelia*

M. Suhama

The location of the dividing micronucleus in binary fission of *Glaucoma scintillans*

POSTER SESSION Part C.

Cellular Membranes : Structure and Function

N. Haga, K. Hiwatashi

A soluble gene product controlling membrane excitability in *Paramecium caudatum*

POSTER SESSION Part E.

Ultrastructure and Molecular Background of Motility

T. Maruyama

Retractile motion of the longitudinal flagellum in a marine Dinoflagellate,

Ceratium tripos

POSTER SESSION Part II.

Genetics and Morphogenesis in Memorium of Professor Tracy M. Sonneborn

M. Fujishima

Pre-meiotic DNA synthesis in *Paramecium caudatum*

Y. Suganuma, C. Shimode

Conjugation in *Tetrahymena*: Formation of a special contact region for conjugation during the co-stimulation period

POSTER SESSION Part VIII.

Cytoplasmic Organelles and Metabolism

Y. Nozawa, H. Iida, T. Iizuka, Y. Ishimura, T. Kimura

Changes in hemoprotein content in *Tetrahymena pyriformis* as studied by low temperature spectroscopy

M. Kaneda, T. Suzaki, Y. Shigenaka

Structure and function of the Contractile vacuole complex of a Heliozoan, *Echinosphaerium nucleofilum*

欠席のため報告されなかったもの

SYMPOSIUM E.

Ultrastructural and Molecular Background of Motility

F. Kanno-Takeda, K. Ishii

Induction to radiate form and rotation of its pseudopods of naked amebas

POSTER SESSION Part A and Part I.

Variation, Life Cycles, Systematics, and Phylogeny of Protozoa

H. Horikami, K. Ishii

Cluster inducing factor secreted by *Vorticella telotroch*

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、会誌の無料配布を受けることができる。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、会誌の無料配布を受けることができる。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14巻、第1号をお届けします。本号もこれまでと同様、第14回日本原生動物学会大会記事特集のみの収録になりました。ニュースとして、「第6回国際原生動物学会に臨んで」という一文を猪木会長が寄せられています。本国際会議は1981年7月5日より、ポーランドのワルシャワにおいて開催されたもので、最新の情報がよく伝えられております。

学会運営、雑誌編集などが、物価高騰の折から、ますます困難の度を加えてきました。長年、編集業務を担当していただいた小野忠相博士が、丸1年間ハワイ大学医学部に留学され不在となりましたが、代って琴谷景子技官がよく編集事務をとりまとめてくれました。ここに例年通り、本号を発行できる運びとなったことを会員の方々とともに喜びたいと存じます。

学会運営についても、雑誌発行に関しても、今後の方針を改めて考え直す一つの曲り角に来たように思われます。将来の発展を目指して、会員の方々真剣にお考えいただくことが必要かと愚考しております。

いずれにせよ、本会の運営をますます円滑なものとし、またより底辺の広いものへとするため、会員の皆様方の御協力をお願いすると同時に、会費納入に関し、また新会員の勧誘につき、一層の御配慮をいただきますよう切望致します。(中林)

原生動物学雑誌 第14巻 第1号

The Japanese Journal of Protozoology Vol.14 No.1

昭和55年9月15日 印刷

昭和55年10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

吹田市山田丘3番1号 (☎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