

ISSN 0388-3752

昭和58年10月
October 1983

原生動物学雑誌

第16巻 第1号

*the Japanese Journal
of Protozoology*
Vol. 16 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16巻第1号

目 次

第16回日本原生動物学会大会概況

講演目次

特別講演「魚類寄生粘液胞子虫類の研究」……………江草 周三

一般講演

本会記事

ニュース

会員名簿

原稿作製上の注意

投稿規定

日本原生動物学会会則

編集後記

日本原生動物学会 幹 事

猪 木 正 三 (会長)

浅 見 敬 三 石 井 圭 一 尾 崎 文 雄 小 山 力 重 中 義 信

高 田 季 久 中 林 敏 夫 野 沢 義 則 樋 渡 宏 一 藤 田 壽 吉

盛 下 勇 渡 辺 良 雄

Committee of the Japan Society of Protozoology

Shozo Inoki (President)

Keizo Asami, Keiichi Ishii, Humio Osaki, Tsutomu Koyama, Suehisa Takada, Yoshinobu Shigenaka,
Toshio Nakabayashi, Yoshinori Nogawa, Koichi Hiwatashi, Jinkichi Fujita, Isamu Morishita,
Yoshio Watanabe

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 石井俊雄

会場 日本獣医畜産大学
東京都武蔵野市境南町1丁目7-1

会期 昭和57年11月27日(土)・28日(日)

日程

第1日 11月27日(土)

14:30 開 会
14:30~17:00 一般講演(1~8, 追1, 2)
17:30 懇親会

第2日 11月28日(日)

9:00~11:15 一般講演(9~17)
11:15~11:40 16mm映画供覧
11:40~13:00 昼食
13:00~13:30 総会
13:30~14:30 特別講演
14:30~17:00 一般講演(18~27)

講演目次

特別講演

魚類寄生粘液孢子虫類の研究……………江草 周三 (日獣大)

一般講演

1. *Selenidium* 属のグレガリナ類について……………星出 一巳 (山口大・教育・生物)
2. 人尿中に検出された繊毛虫 *Colpoda steini* の生活史……………宮田 彝徳 (元神戸市環境保健所)
3. 海浜における原生動物の動態 Ⅹ. 南ア・アビジャン産殻アメーバ類
……………鈴木 實 (日大・法・生物)
4. 多摩川から分離した膜口類の一種を殺す因子について……………末広誠一 (都立大・理・生物)
5. 連続培養系における数種の原生動物の挙動……………鈴木 孝男, 栗原 康 (東北大・理)
6. 繊毛虫異毛類における LMS の微細構造……………与五沢令子, 重中 義信 (広島大・総科・情報)
7. 太陽虫の食物摂取における軸足の役割……………重中 義信, 山口 美穂, 与五沢令子
(広島大・総科・情報)
8. 原生動物の示す菌類的諸性質……………宮田 善雄 (京都府大・農・植物病理)
- 追1 緑紅色ラップムシと緑色ツリガネムシ……………福井 啓二, 浅井 博 (早大・理工・物理)
- 追2 ディディニウムの excystment 誘発物質……………福井 啓二, 前島 太郎, 浅井 博
(早大・理工・物理)
9. 熱帯地域における牛および水牛のルーメン内繊毛虫の分布
……………今井 壯一¹⁾, 木下 正保¹⁾, 志水 政徳¹⁾, 藤田 潤吉²⁾, 扇元 敬司³⁾
(1)日獣大・寄生虫, 2)日獣大・家衛研, 3)東北大・農)
10. ミドリゾウリムシ (*Paramecium busaria*) の負の走光性
……………松岡 達臣 (広島大・理・動物)
11. 繊毛虫 *Euplotes woodruffi* 同胞种群の有性生殖と分布……………小阪 敏和 (広島大・理・動物)
12. *Euplotes patella* (synegn 2) における接合時の溶液による selfing pairs の誘導
……………佐藤 勝幸 (広島大・理・動物)
13. ゾウリムシ (*Paramecium tetraurelia*) の融合接合完了体の交配型決定
……………小泉 貞明, 染谷 悦男 (宮城教育大)
14. テトラヒメナ・ミクロソームの電子伝達系……………福島 弘文, 竹田 智雄, 渡辺 武仁,
梅木 茂宣, 佐々木 昇, 野沢 義則 (岐阜大・医・生化)
15. テトラヒメナ細胞の低温シフトにおける膜リン脂質アシル鎖の変換機構
……………吉岡 史郎, 亀山 泰永, 野沢 義則 (岐阜大・医・生化)
16. 臨床用麻酔剤による原生動物の停止……………柿市 徳英¹⁾, 小栗 一樹¹⁾, 藤原 深雪¹⁾,
小林 茂¹⁾, 内田 和夫¹⁾, 今井 壯一²⁾, 新井昌栄³⁾
(1)日獣大・家畜衛生, 2)日獣大・寄生虫, 3)エーザイ K. K.)

17. 嫌気性発酵汚泥と好気性汚泥の混合による嫌気性発酵での原生動物の経時的变化の一考察
 鎌田 信一¹⁾, 柿市 徳英¹⁾, 内田 和夫¹⁾, 新井 昌栄²⁾, 今井 壮一³⁾
 (1)日獣大・家畜衛生, 2)エーザイ K. K., 3)日獣大・寄生虫)
18. *Tritrichomonas muris* 偽嚢子の生残性について
 小山 力, 黒木 俊郎, 久保チエリ, 菊地 浩真 (予研・寄生虫)
19. *Tritrichomonas muris* の細胞化学的研究 小山 力, 黒木 俊郎, 菊地 浩真
 (予研・寄生虫)
20. *Trichomonas foetus*-ribosome 刺激マウスの免疫応答におよぼす Freund's complete adjuvant
 と dextran sulfate 500 の効果 林 弘三, 岡 好万 (徳島大・教育・保健科学)
21. 蛍光色素 Hoechst 33258 を使用した *Trypanosoma cruzi* および *Trypanosoma gambiense* の
 K-DNA 並びに N-DNA の *in situ* microfluorometry の試み
 猪木 正三¹⁾, 尾崎 文雄²⁾, 古谷 正人³⁾
 (1)奈良医大・寄生虫, 2)高知医大, 3)徳島大・寄生虫)
22. *Trypanosoma cruzi* の K-DNA および N-DNA の *in situ* microfluorometry 一抗シャーガス
 病剤 Ro 7501 (Radanil®) の影響 猪木 正三¹⁾, 尾崎 文雄²⁾, 古谷 正人³⁾
 (1)奈良医大・寄生虫, 2)高知医大, 3)徳島大・寄生虫)
23. *Trypanosoma gambiense* micronemata の発現と条件
 伊藤 義博, 長沢 秀行, 岡 三希生, 古谷 正人 (徳島大・医・寄生虫)
24. トキソプラズマ原虫の自動運動の誘導 遠藤 卓郎¹⁾, 石山 治²⁾, 朝日 博子¹⁾
 (1)予研・寄生虫, 2)日獣大・寄生虫)
25. CSP-II (OBIOACTIN) の抗トキソプラズマ作用について
 出雲 章久, F. M. Espinas, 鈴木 直義 (帯広大・獣医・生理)
26. 熱帯熱マラリア原虫の cyclic AMP による生殖母体形成に対する電子顕微鏡的観察
 小野 忠相¹⁾, 中林敏夫¹⁾, W. A. Siddiqui, K. J. Kramer²⁾
 (1)阪大微研・寄生虫, 2)ハワイ大・医・熱帯医学)
27. *Babesia rodhaini* に対する実験小動物の感受性について
 韓 相燮, 佐伯 英治, 石井 俊雄 (日獣大・寄生虫)

 特別講演

魚類寄生粘液胞子虫類の研究

江 草 周 三 (日本獣医畜産大学)

*Problems in the study of myxosporidian parasites of fish.*Syuzo Egusa (*Nippon Veterinary and Zootechnical College*)

粘液胞子虫類 Myxosporidia はミクソゾア門 Myxozoa の 1 綱で冷血脊椎動物寄生性の多くの種類を含む。その研究は全体としては余り進んでいるとはいえないが、魚類寄生種の中には有用魚種の食用価値喪失因、さらには斃死因となるものが少なからずあり、それらについてはある程度の研究がなされている。しかしその多くは分類に関するもので、生活史が明らかにされたものはごく一部にすぎず、実験感染が厳密な意味で成功した例はない。試験管内培養も 1 報告があるに止まる。粘液胞子虫類を専攻する研究者は世界的に少なく、我が国では皆無に近い状態である。その研究は水産上重要であり、また材料豊富で未解決の問題が山積する魅力的分野といつてよいであろう。以下、有用魚類で問題となった、あるいはなっている粘液胞子虫類のいくつかを例にあげ、研究の現状と問題点を述べてみる。

欧州のニジマス稚魚に大害を与えるものに *Myxosoma cerebralis* がある。中枢神経を支持する骨の軟骨組織に寄生し、それを崩壊し、神経障害を起こさせる。かつて欧州からの冷凍ニジマス輸入に伴って米国に伝播し被害を与えたことから米国でも盛んに研究され、粘液胞子虫類の中で各方面にわたり最も多くの知識が積まれている種類である。古くから粘液胞子虫類は一般に種に特異な臓器組織で栄養型が発育し、そこで形成された胞子が何らかの経緯で外界に出て成熟後、魚に経口摂取されて感染が起こるとされてきたが、これが実験的に証明された例は本種を含めてまだない。ただ、本虫で胞子を含む泥を加えた水槽中に魚を置くことによって確実に感染が起こることが認められており、この場合頭部の表皮の細胞内に寄生初期段階の可能性のある寄生体が観察された例があり注目されている。

広島県下の限られた養鱒場のヤマメ・アマゴの 1 年魚に眼病というものがある。これは *Myxobolus sp.* の脳・脊髄神経寄生に関係するもので、現場で試みられた種々の感染実験から、感染季節が限定されること、感染

原体は用水中にあるが胞子そのものではなく、簡単に採集しえない、付着性があるか、あるいは地物との接触で感染を失なうものと推定されている(広島県淡水指導所村上氏による)。似たことが米国西部のサケ科魚類の内臓に寄生し被害を与えている *Ceratomyxa shasta* についても観察されている。

粘液胞子虫寄生は種々の海産魚でも知られている。かつて沖縄海洋博の海洋牧場で飼われたブリはすべての個体が *Kudoa amamiensis* の寄生を受け、軀幹筋全体に多数のシストが形成され食用価値は全く失われた。本種は本州・四国・九州沿岸の養殖ブリではみられたことがなく、沖縄地方の天然魚に存在する可能性が疑われ、調査の結果スズメダイ類が天然宿主であることが判明した。しかしそれから採取した胞子をブリに摂取せしめる方法では感染成立はみられなかった。養殖海産魚の粘液胞子虫寄生例は他にも多い。例えばブリの脳に寄生して脊椎彎曲の原因となることが疑われる *Myxobolus sp.*、スズキその他の脳に寄生する *Hexacapsula sp.*、トラフグの心臓に寄生する *Kudoa sp.* などであるが、これらの感染機序の説明は現在のところ不可能である。

粘液胞子虫類は組織寄生性と管腔寄生性に大別されるが移行型もある。上述の例はすべて組織寄生性で栄養型は *Myxosoma cerebralis* を除き球・卵形であるが、中には複雑な形のものもある。例えばコイの腸に寄生し大きな腫瘤を作る *Thelohanellus kitauei*、また稚ゴイの鰓に寄生して相対的に大きな塊状物を作る *Myxobolus koi* がその例であり、その発育経過はまだよく分かっていない。キンギョの腎尿管に寄生し腎腫大症の原因となる *Mitraspora cyprini* は組織寄生から管腔寄生へ移行する例である。本種の生活史は一年周期で、各段階が比較的詳細に明らかにされている。しかしこれらコイ・キンギョ類の粘液胞子虫類も種々の試みにも拘らず実験感染成功例はない。

現在までの研究を通じて種々の問題点が指摘される

が、水産の観点、換言すればやゝ応用がかつた面からみると、第一に分類の整理が必要で、従来の胞子の形態のみを基準とすることは不十分と思われる。第二に生活史の究明はもとより、宿主寄生物関係、宿主範囲、疫学さらには分類などの研究のためにも実験感染法の確立の必要性が痛感される。感染機序はいずれの種においても未

知であるが、今後は適当な種について種々の生活史段階の *in vitro* 培養を検討する一方、感染原体を見出す努力が必要と思われる。これらの基礎面で進んだ知識と技術をもつ原生動物研究者が粘液胞子虫類に興味をもたれ、その研究に着手されることを熱望する次第である。

一 般 講 演

1. *Selenidium* 属のグレガリナ類について

星 出 一 巳 (山口大学教育学部生物学教室)

Studies on the gregarines belonged to the genus Selenidium

Kazumi Hoshide (Biological Institute, Faculty of Education, Yamaguchi University)

selenidium 属グレガリナの分類学的位置, 宿主の系統, 表面の微細構造について述べる. *Selenidium* 属グレガリナは環形動物, 星口動物, 棘皮動物の消化管に寄生し, 現在までに30種余りが記載されている. その中で日本からの記載は福井が星口動物スジホシムシモドキ *Siphonosoma cumanense* (KEFERSTEIN) から報告した *Selenidium folium* HUKUI ただ1種のみである. 演者は瀬戸内海及び北海道沿岸で海産無脊椎動物に寄生する真グレガリナ類を調査中, 星口動物及び環形動物多毛類にしばしば *Selenidium* 属グレガリナが寄生しているのを観察した. 日本において, *Selenidium* 属グレガリナの寄生が確認された宿主は次の8種である. 環形動物門多毛綱タマノアシツキ *Acrocirrus validus* MARENZELLER, ケヤリ *Sabellastarte indica* (SAVIGNY), チグサミズヒキゴカイ *Cirratulus cirratus* (O. F. MULLER), エラコ *Pseudopotamilla ocellata* MOORE, ヒトエカンザシ *Serpula vermicularis* LINNAEUS, エゾカサネカンザシ *Hydroides ezoensis* OKUDA, 星口動物門サメハダホシムシ *Phascolosoma scolops* (SELENKA & DE MAN), スジホシムシモドキ *Siphonosoma cumanense* (KEFERSTEIN).

1) *Selenidium* 属の分類

Selenidium 属はもともと増員生殖 shizogony を行うということで, シゾグレガリナ目に分類されていた. Grasse はこのシゾグレガリナ目をアーカイグレガリナ目とネオグレガリナ目の2つに分割し, *Selenidium* 属をアーカイグレガリナ目に入れた. その後 Levine は *Selenidium* 属の多くの種で増員生殖が確認されていないことに注目し, 増員生殖の有無によりこの属を2分した. 増員生殖の確認されたグループを, アーカイグレガリナ目の新属 *Selenidioides* 属としてまとめ, 確認されぬグループは真グレガリナ目に移した. しかしこのように単に生活史のわかっていないグループを全く別の目に分類するという方法は, 疑問の点が多い.むしろ従来通

り1属として分類した方がよいと考える.

2) 宿主の系統

Selenidium 属の報告されている33種の宿主は, 環形動物多毛類30種, 星口動物2種, 棘皮動物1種で, *Selenidioides* 属の方は多毛類6種, 原索動物2種, 星口動物2種, 半索動物1種の計11種である. 両グループの中で圧倒的多数を占めるのが多毛綱である. 多毛綱は分類学的に遊泳目と底棲目に分けられる. この2つのグループ *Selenidium*, *Selenidioides* はその大部分が底棲目より検出されている. 多毛類にしばしば見出されるグレガリナ類に *Lecudina* 属があるが, この属の宿主はその大部分が遊泳目に属している. これらのことから同じ多毛類に寄生するグレガリナでも宿主の系統により, 2種類に大別されることがわかる.

この2種のグレガリナの系統関係について, 従来 *Selenidium* 属の方が *Lecudina* 属より原始的形態を保持し, 前者より後者が分化して来たと考えられて来た. しかし演者は逆に *Selenidium* の方がより分化したグループであろうと, 考える. その理由は *Selenidium* の方がより分化の進んだ宿主, 底棲目に入っている. 寄生虫の場合体の構造がより簡単な方が, 寄生適応が進んでいると考えられる.

3) *Selenidium* 属の微細構造

カンザシゴカイに寄生する *Selenidium sp.* とスジホシムシモドキに寄生する *Selenidium folium* を走査型電子顕微鏡により調べた. いずれの原虫にも体の表面に他のグレガリナ類に見られたと同様なひだ状構造が見られた. ひだは2重になっており, 大きな深いひだが光学顕微鏡で縦の線となって見られるものであろう.

質問 小山 力 (予研)

Schizogony をみつけられたかどうか?

Schizogony の行なわれる場所はどこかお尋ねします. 場所によってはみつけにくいと思いますが,

回答

Schizogony は見つけられませんでした。たぶんこの時期は非常に短いものと思われます。

観察されている種では、消化管の壁の中で行われると報告されています。

2. 人尿中に検出された繊毛虫 *Colpoda steini* の生活史

宮田 彝 徳 (元神戸市環境保健研究所)

Life history of Colpoda steini detected in human urin

Itoku Miyata (Public Health Research Institute of Kobe City)

昭和40年12月、海星病院(神戸市)にて採取した人尿中に棲息する繊毛虫を見出した。その増殖仔虫は背腹に扁平にしてソラマメ形ないしは腎臓形を呈し、大きさは平均 $31.7 \times 20.2 \mu\text{m}$ 、体表は多数の繊毛に被われ、とくに、細胞口域には一列にやや長い繊毛を有し、その末端は体壁を越えて突出し、よく繊動する。細胞内には大小2つの核と、末端に1つの収縮胞のほか、多数の食胞を含む。大核は球形ないしは長球形であるが、小核は特徴的な三日月状を呈し、大核背側に接して存在する。増殖型シストは膜壁薄く、大きさは平均 $19.0 \mu\text{m}$ 、また、抵抗型シストは、仔虫由来の外殻(平均 $22.6 \mu\text{m}$)と、内部に厚い細胞壁をもったシスト本体(平均 $20.2 \mu\text{m}$)からなる。これらの諸形態から本種は *Colpoda steini* Maupas と同定した。

本種は25%血清を含むリンゲル液中においてよく生育発達する。生育適温巾は広く、 $24 \sim 32^\circ\text{C}$ であり、 37°C においてもなお生育可能である。また、低温下では $2 \sim 4^\circ\text{C}$ においてようやく生育を停止する。本種の人体内寄生性については、なお論議のあるところであるが、リンゲル液中を好み、体温附近の温度でよく生育をみるなどの諸点はその可能性を示唆する。

本種は培養中において、様々の生殖形態を示すことがわかった。即ち、(I) 通常の栄養生殖中にみられるもので、シスト中で細胞分裂して4細胞となり、繊毛を生じ、自力で脱出をはかる場合、(II) シストを形成せず、細胞分裂を2回くりかえして4細胞の仔虫となり、自主脱出する場合、(III) シストを形成し、縦分裂に近い分裂により4細胞となり、膨圧により圧出されるかのように脱出したのち、繊毛を生じて仔虫となる場合、および(IV) 厚い二重の細胞壁を形成して抵抗シストとなり、好適な環境の到来と共に1個の仔虫となり自主脱出する場合である。培養のステージを追って観察し、また、各

期における仔虫や分裂体を取り分けて培養することなどにより、本種の生活史は、I型(増殖生殖期)にて増殖していた仔虫は、II型(性化生殖期)に移行して、雌雄の仔虫に分かれ、全接合を行なったのち、III型(成熟生殖期)を経て、さらにIV型(抵抗生殖期)の過程に入り、抵抗型シストの形成に至り、耐久化するものと推察した。この間、ギムザあるいはライト染色により核の動きを追い、その形や分裂形式にかなりの変遷がみられるものの、減数分裂や核融合の時期や様式の詳細は未だ充分には把み得ていない。今後、微細構造学的あるいは生理化学的手法などを用いて、これらの生殖形態の多様性と生活史における意義について解明が望まれる。

質問 尾崎 文雄(高知医大)

同定の根拠を大核小核の位置的関係に置いた御発言ですが、それで十分であるかどうか御確認置きいただければと思います。

回答

同定においては、単に核の特徴だけでなくその他の形態や大きさなども比較検討したものと思われませんが、申訳ありませんが、私にはよくわかりません。当人にその旨よく伝えます。

質問 小山 力(予研)

1) 本来 free-living の protozoa です。真水で飼育したらいかがでしょう。

2) 感染経路がわかったら教えて下さい。

回答

私も少し培養について検討してみたことがあります。真水(血清を含む)中では運動低下し、増殖率も低く、抵抗型シストの形成がみられませんでした。膜壁の薄いシスト様のものが形成されましたが、血清リンゲル液に移しかえても仔虫の遊出はみられませんでした。

感染経路についてはどうもよくわかっていないようで

す。

質問 福岡 利英 (兵庫医大・医動物)

①銀染色による繊毛列の観察をされることも同定上必要と考えます。

②患者からの、この繊毛虫の検出は一時的なものでしたか、持続的なものでしたか。

回答

その染色方法で追加検討させていただきます。

また、その患者から、その後も検出されたかどうかは重要なことでしたが聞いてまいりませんでした。ただ、その後の他の検尿検査では検出されたことはないと申し添えておりました。

3. 海浜における原生動物の動態IXアビジャン産殻アメーバ類

鈴木 實 (日本大学法学部一般生物研究室)

Protozoans in the marine beach interstices IX. Psammobiont Testacea from Abidjan, Côte d'Ivoire, West-Africa

Minoru SudzuKi (Biolog. Lab., Nihon Daigaku-University, Omiya-shi, Saitama-ken)

Four samples, *i. e.* 2 from Les Touleles (T in the latter description), 2 from Assinie (A in abbreviation) were collected at the intertidal zones of the beach on 4/IV'82 and 11/IV'82 respectively during her stay at Abidjan by Mme Chizuko Martin who was my diligent student 15 years ago and now lives in Paris. The average sizes of sand grains from T and A are $300 \times 520 \mu\text{m}$ and $170 \times 260 \mu\text{m}$. The species detected are as follows: *Volutella cochlea* (T), *V. hemispiralis* (T), *V. turbo* (T), *Lesquella mesopsammophila* (T), *Micramphora atlantica* (T=A=*), *M. hellebauti* (A), *M. pontica* (T=A=*), *M. to kioensis* (T), *Amphoraopsis carinata* (A), *A. pusilla* (A), *A. tascheri* (A=*,T), *A. sp.1* (A), *A. sp.2* (A), *Psammobiontulus golemanskyi* (T=*), *P. minutus* (T=*), *Centropyxiella arenaria* (A), *Rhumbriella coreane* (A=*,T), *R. filosa* (A), *Pseudocorythion acutum* (T), *P. wailesi* (T=*), *Cyphoderia amphora* (T), *C. littoralis* (T=*), *C. l. simodensis* (T), *Corythionella minima* (T,A), *C. sudzuki* (T), *Diffugiella psammophila* (T, A), *Cryptodiffugia lanceolata* (T=*) *C. brevicolla* (A), *C. sp. 1* (T=*). The densities (Number of individuals/cm³) of Testacea (TES) are: site T-1: TES=8(196), cf. Amoeboidea (AME)=12,

Foraminifera (FOR)=0 (8), Nematoda (NEM)=0 (24), site T-2: TES=20 (320), AME=20, FOR=0 (16), site A-1: TES=0(20), AME=8, FOR=4(52), site A-2: TES=0(120), FOR=0(4), CONSIDERATIONS 1. The density of Testacea is very high in the beach esp. in Les Touleles, 2. *Lagenidiopsis*, commonly found from Ryukyu shoto (Sudzuki; 1979), has hardly been found from Abidjan beaches, 3. *Micramphora*, *Rhumbriella* and *Cryptodiffugia* are regarded as representative genera in Abidjan 4. *Micramphora atlantica*, *Psammobiontulus golemanskyi*, *Rhumbriella coreane*, *Cryptodiffugia lanceolata* are dominant species, 5. The new species like *Micramphora amphoriformis* but different in having much more narrow neck was found abundantly from the beach T (see another paper). *=common, (): dead individuals.

質問 齊藤 実 (横浜国立大・教育)

砂粒の大きさからみて、開放海岸より採取したと理解してよろしいか。なお、採集時期をお知らせいただきたい。

回答

1) 結構です、かなり広大な砂粒帯です。

2) Les Touleles からのサンプルは1982年4月4日、Assinie のものは1982年4月11日です。

4. 多摩川から分離した膜口類の一種を殺す因子について

末 広 誠 一 (都立大学理学部生物学教室)

A factor killing a hymenostome isolated from a polluted river

Seiichi Suehiro (Department of Biology, Tokyo Metropolitan University, Tokyo)

原生動物と細菌の関係にはいくつかの様式があり、一般的には細菌は原生動物の餌となるが、細菌の中には原生動物に共生したり寄生するものがあり、その中には原生動物を殺すものも知られている。しかしそのような細菌が野外で原生動物の密度を制限しているかどうかについてはほとんど調べられていない。

今回汚濁河川である多摩川から膜口類一種とそれを殺す因子が得られた。この因子 (Killing Factor, KF とここでは呼ぶ) は新しい膜口類の一種の培養に植えついていくことによって維持できた。この因子の諸性質及び野外でのこの因子の密度について報告する。

定常期にある膜口類の一種の培養 2ml に、KF を含む液 ($2\sim 4 \times 10^4$ cells/ml の密度の膜口類の一種が KF によって死滅した液) 100 μ l を加えたところ膜口類の一種の密度は 4 日で 1/100 以下に減少した。(温度 20°C) KF を入れない培養では数の変化は認められなかった。

KF を含む液を 0.2 μ m, 1 μ m, 3 μ m のポアサイズのフィルターでろ過したろ液を膜口類の一種の培養に入れたところ、0.2 μ m のろ液では減少が起らなかった。このことから KF は 0.2 μ m 以上の大きさであることがわかった。また抗生物質ペニシリンとストレプトマイシンが KF にどのような影響を与えるかを調べたところ、ストレプトマイシンは 1 μ g カ価/ml で KF による膜口類の一種の死滅を完全におさえることがわかった。これに対しペニシリンは 1 \sim 1000 unit/ml の濃度で調べたが死滅をおさえることは全くなかった。次に膜口類の一種が死んでいく過程で KF が実際に増加しているかどうかを、MPN 法を用いて測定した。KF は膜口類の一種の減少と伴に増加し、膜口類の一種の一細胞あたり 28 の KF ができた。その後 KF は一定の値を示したが約 2 週間後には減少した。以上の結果から KF は細菌であると思われた。

KF が他の種に対しても効果を持つかどうかを、多摩川から分離した *Tetrahymena* sp., *Uronema* sp., *Glaucoma* sp. *Colpidium colpoda*, *Colpidium campylum*, 及び他のところから得た *Colpoda* sp., *Tetrahymena*

thermophila について調べたが、KF によって死滅した種は一つもなかった。このため KF の効果はかなり種特異性が強いといえた。

多摩川及びその支流の野川の河川水と河床の泥中の KF と膜口類の一種の密度を、1982年10月23日と11月10日に調べたところ、KF は両河川水中に 14 \sim 130/ml 存在した。泥の中の KF の数は肉食性繊毛虫やワムシ、アメーバなどによって過大評価になっていると考えられるが、泥 1ml 中に数百から数千存在することがわかった。また膜口類の一種は河川水中に約 0.1/ml, 泥中に約 100/ml 存在した。

多摩川や野川に KF 及び膜口類の一種が同時に存在することから、KF が膜口類の一種の密度を制限している可能性は大きいと思われた。

質問 重中 義信 (広島大・総科・情報)

1) Killing factor が *Colpidium* や *Glaucoma* に効かないとすれば、この繊毛虫は他にどのような繊毛虫が考えられますか。

2) Killing factor (KF) が細菌類であるか否かについて、KF を加えて繊毛虫が死んで行く過程を走査電顕で追究してみられることをおすすめします。

回答

1) 口部構造からは *Glaucoma* に近いと思われましたが、はっきりとはわかりません。

2) 是非やってみたいと思います。

質問 岡 好万 (徳島大・教育)

1) Killing factor が種特異性であり、増加する。又、size が 0.2 μ 以上という性状から bacteria に基づくという結論は出し難いと思うが。

2) bacteria であるという証拠は具体的に何により決定されたのか。

回答

1), 2) Killing factor が増殖性の因子であって、大きさが 0.2 μ m 以上であること、また原核生物の蛋白合成を阻害するストレプトマイシンによって KF の働きがおさえられるために Bacteria であると考えました。

質問 山高 里盛 (大分医大)

Streptomycin 以外の抗生物質たとえば Chloramphenicol, tetracyclines. さらに sulfa 剤などでテストされましたか。

Rickettsia または Chlamydia の可能性を検討できませんか。

回答

やっておりません。是非やってみたいと思います。

5. 連続培養系における数種の原生動物の挙動

鈴木 孝男, 栗原 康 (東北大学理学部生物学教室)

In vitro continuous culture of some protozoan populations

Takao Suzuki and Yasushi Kurihara (Department of Biology, Faculty of Science, Tohoku University, Sendai)

ポリペプトンを含む塩類溶液を培地として原生動物, *Cyclidium* sp., *Tetrahymena pyriformis*, *Vorticella microstoma* を単一に種もしくは2種を組み合わせて細菌を餌として連続培養を行なった (希釈率, $D=3 \text{ day}^{-1}$, 6 day^{-1}). 2種を組み合わせた連続培養の場合, これらの原生動物を *Cyclidium* の次に *Tetrahymena*, *Tetrahymena* の次に *Cyclidium*, *Cyclidium* の次に *Vorticella*, *Vorticella* の次に *Cyclidium*, *Tetrahymena* の次に *Vorticella*, *Vorticella* の次に *Tetrahymena*, という順序で接種した。

単一種の原生動物の連続培養においては, 各生物密度はそれぞれ定常状態を示した。この際, 細菌は分散状態とフロック状態に区別され, 原生動物は自由遊泳しているフリー状態のもと細菌フロックに付着している状態のもとに区別できる。

原生動物が自らの最大の比増殖速度 (μ_{max}) よりも高い希釈率の培養槽内に定着できるのは, フロックに付着することによって培養槽内に滞りやすくなることによると考えられたが, この場合, フロックに対する付着の程度には種によって差がみられ, 培養槽内の密度と流出液中の密度の比は, *Vorticella* > *Cyclidium* > *Tetrahymena* の順に大きかった。

あらかじめ細菌だけを前培養してから連続培養槽に流入させる2段連続培養において, 培養槽に原生動物を接種した場合には, *Cyclidium* だけが培養槽内に定着することができた。このことは, 原生動物の餌となる分散細菌の密度が2段連続培養において低かったため, 餌に対する親和性の低い原生動物が定着できなかったものと考えられる。また, 大きなフロックがほとんど形成されな

かったことも一因と考えられる。

連続培養槽内において *Cyclidium*, *Tetrahymena*, *Vorticella* がそれぞれ単一種で定常状態を保っている時に別種の原生動物を接種した場合には, 先住者と侵入者の立場や, 希釈率の高低によって共存できる場合とできない場合とが認められた。これらの結果から, 原生動物を2種組み合わせた連続培養においては原生動物間に定着に関して優劣の関係が存在し, 希釈率が 3 day^{-1} の場合には *Cyclidium* > *Tetrahymena* > *Vorticella*, 6 day^{-1} の場合には *Cyclidium* > *Vorticella* > *Tetrahymena*, の順に優位であることが示された。つまり, 最大の比増殖速度の値が最も大きい *Cyclidium* が最も優位であったが, *Tetrahymena* と *Vorticella* の順位は希釈率によって逆転したことになる。

原生動物による, フロックの肥大成長を促進する働きや, フロックへの付着数を調べた結果, *Cyclidium* と *Vorticella* にはフロックの肥大成長を促進する働きのあることが認められ, 培養槽から流出していきにくい大きなフロックが多くなることにより, 自らの付着の場を増やし, ますます培養槽内に滞留しやすい条件をつくりだしていることが示された。

一方, *Tetrahymena* においては, フロック肥大成長を促進する働きは小さく, フロックへの付着率も低いことから, 希釈率の高い条件下では定着に関する優位性が低くなるものと思われる。

また, 先住者と侵入者の立場が逆になった場合に共存できたり, 共存できなかったりするものは, 分散細菌に対する親和性や最大の比増殖速度の値の大小が関係しているものと考えられる。

以上のことにより、2種混合して連続培養した場合の原生動物の挙動には、各原生動物に固有の最大の比増殖速度 ($\mu_{max.}$)、飽和定数 (K_s) の他に、希釈率 (D) やフロックへの依存性が大きく関与していると考えられた。

質問 末広 誠一 (都立大・理・生物)

2種が共存するかどうかについて、系内に入れる順番を変えたときにどちらが残るかが異なるのはどのような

理由によるのですか。

回答

各原生動物の最大の比増殖速度、餌に対する親和性、フロックの肥大成長促進効果については差があるので、先住者が異なることによって培養槽内の細菌密度、フロックの大きさとその分布等が異なることにより、そのことが少量接種された侵入者の定着に影響を及ぼすことになると考えられる。

6. 繊毛虫異毛類における LMS の微細構造

与 五 沢 令 子, 重 中 義 信 (広島大学総合科学部情報行動科学教室)

Ultrastructure of the LMS in heterotrichous ciliates

Reiko Yogosawa and Yoshinobu Shigenaka (Department of Information and Behavioral Science, Faculty of Integrated and Sciences, Hiroshima University)

異毛類に属する繊毛虫は、程度の差こそあれ、収縮性を有することで良く知られている。そのために、この収縮に関与する機構については、古くから興味を持たれ、数多くの形態学的かつ生理学的な研究が行なわれてきた。しかしながら、この問題については未だに明らかな解答が得られていないのが現状である。

本研究において、われわれは3種類の異毛類 (*Spirostomum ambiguum*, *Stentor coeruleus*, および *Blepharisma japonicum*) を用い、細胞体の収縮と伸長に関与していると考えられる2種類の繊維系すなわち糸筋 (myoneme) と LMS (longitudinal microtubular sheet) に注目して、比較超微形態学的な観察を行なった。その結果、LMS に付随して存在し、かつ、それぞれの繊毛虫に特有な構造体を発見したので、これらの立体的構築を検討し、それらの機能について考察してみた。

観察方法としては、従来通りの超薄切片法による観察と、McIntosh *et al.* (1980) の方法を改良して単離した繊毛・LMS 複合体 (cilium-LMS complex) の全載標本による観察の2通りを採用した。

まず、超薄切片法による虫体横断面の観察では、糸筋は *Spirostomum* と *Blepharisma* において環状配列を示すが、*Stentor* では LMS と 1 : 1 の対応を示して配置していることが判った。ただし、*Blepharisma* では、*Spirostomum* や *Stentor* に比べて糸筋の発達が悪く散慢であり、このことは後二者が瞬間的かつ顕著な収縮を

行なうのに対し、前者は緩慢な収縮運動しか示さないことに関係しているものと考えられる。また、虫体横断面を観察した結果では、3種類の繊毛虫のいずれにおいても、二つの並列する繊毛基粒体の一方の側面から LMS が伸び出しているのが観察された。さらに、LMS の横断面を詳細に観察すると、*Spirostomum* と *Blepharisma* については LMS の内側に櫛形構造がみられ、*Stentor* についてはその代りに電子密度の高い顆粒状構造が観察された。

繊毛・LMS 複合体の全載標本を観察すると、二つの並んだ繊毛基粒体の一方からそのまま繊毛が伸び出し、他方の繊毛基粒体の側面からは LMS が伸びているのが確認された。そこで、それぞれの繊毛虫においてこの複合体を比較検討してみると、繊毛基粒体の側面から出ている LMS の根元の部分に、それぞれの繊毛虫に特有な構造体が認められた。それは、*Spirostomum* の場合では笹の葉構造とその上面に存在する斜走構造であり、*Stentor* の場合では雑草に似た構造であり、*Blepharisma* の場合ではススキの葉に似た構造であった。

以上の観察結果から、LMS の特に基部付近の立体的構築を考慮し、それぞれの機能について推論してみた。その結果、*Spirostomum* と *Blepharisma* の場合には、笹の葉構造やススキの葉構造から LMS を構成する各微小管に向かって夥しい数の突起を出して連絡しているのに反し、*Stentor* ではこのような構造が存在しないこ

とから、これらの構造体が *Spirostomum* と *Blepharisma* の収縮ならびに伸長時の捩れに関係していることが、予想された。すなわち、LMS に対して笹の葉構造やスキの葉構造が、その基部で繊毛基粒体に固定されているにもかかわらず、これらの突起を介して互いに滑り合うために僅かな屈曲を生じ、それらが虫体におけるすべての LMS で生ずるために、全体的な虫体の捩れが誘起されると考えられた。

本研究において、われわれは純粋に超微形態学的な観察結果に基づいて *Spirostomum* と *Blepharisma* の捩れ運動に関する仮説を提唱したが、この仮説については、さらに生理学的・生化学的な立場から明らかにしていきたいと考えている。

質問 渡辺 良雄 (筑波大・生物科学系)

大変興味をもって拝見しましたが、次のことをうかがいます。

1. スライド中にあった LMS は収縮時のものでしょうか、伸長時のものでしょうか？両者に差がありますか？
2. 収縮はマイオネームによるもので LMS によって

force generation は起らぬのではないかと思うのですが、LMS の function をどうお考えですか。

回答

1. すべて収縮時のものです。伸長時と収縮時の LMS の変化は *Spirostomum* についてのみ詳しく観察しております。その結果、横断面で観察致しますと、伸長時では収縮時より LMS の重なり合いが少なくなっております。よって、収縮の際には LMS 同志が滑り合うということがわかります。

2. LMS が *Spirostomum* と *Blepharisma* の「ねじれ」に関与していると考えており、能動的な「収縮」に関与するとは考えておりません。ただし、隣の LMS に向かって存在している anterior fiber sheet により LMS どうしが滑り合い収縮するという可能性もあるとは思いますが。

質問 丸山 正 (都立大・理・生物)

単離 LMS は reactivate できますか。

回答

まだそのことについては実験しておりません。

7. 太陽虫の食物摂取における輔足の役割

重中 義信, 山口 美穂, 与五沢令子 (広島大学総合科学部情報行動学教室)

Role of axopodia on food capture and ingestion in Heliozoa

Yoshinobu Shigenaka, Miho Yamaguchi and Reiko Yogosawa (Department of Information and Behavioral Science, Faculty of Integrated Arts and Sciences, Hiroshima University)

太陽虫の軸足は、その内部に細胞骨格としての軸糸微小管 (axonemal microtubules) を有し、独特な針状突起として細胞体表面から放射状に出ている。従って、太陽虫が食物を摂取する際には、この軸足が極めて有効となっており、軸足膜表面での食物の捕獲と、それによって誘発される軸足膜の移動または軸足自体の収縮によって食物を細胞体表面へと運搬している。これら一連の現象は、われわれのグループすなわち *Suzaki et al.* (1980) によって報告されているが、食物選択・捕獲およびそれに続く摂取過程などについて幾つか不明な点が残されていた。そこで、本研究では、太陽虫の一種 *Echinospaerium akamae* (Shigenaka *et al.*, 1980) を材料として、特に食物の選択性と捕獲能について詳細に追究して

みた。その結果を総括すると次の通りである。

(1)食物の選択性と捕獲能:

この問題については、(i) 各種の原生動物 (*Chilomonas*, *Tetrahymena*, *Colpidium*, *Blepharisma*, *Paramecium* など) は選択することなく、すべて餌として認識し捕獲すること、(ii) 活性炭粒子、卵白で被覆したカーミン粒子、ポリ・リジン (poly-L-lysine) で被覆したガラス粒子も同様に捕獲すること、(iii) 何も処置を施していないカーミン粒子、ガラス粒子、ポリスチレン粒子などは捕獲しないこと、などが確認された。この結果から、軸足膜表面には有機物に対する受容部位が広汎に存在し、かつ、投与されたものの表面荷電が食物の選択性に関係していることが示唆された。ついで、ルテニウム赤

(0.5mg/ml) を含む固定液の使用により、電顕的に表層糖タンパク質 (glycocalyx) の分布を調べたところ、(i) コントロールの太陽虫では、軸足の基部から先端部にかけて、この糖タンパク質で一様に被われていること、(ii) このタンパク質はトリプシン処理 (0.3mg/ml, pH7.5) で容易に消失することなどが判った。また、トリプシン処理によって太陽虫の食物捕獲能が低下することから、軸足膜表面を被う糖タンパク質が食物の認識ならびに捕獲の現象に大きく寄与していることが暗示された。さらに、実際に餌としてテトラヒメナ (*Tetrahymena thermophila*) やゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) を太陽虫に与え、軸足がこれらを捕獲するのを確認して固定し、超薄切片法またはネガティブ染色法で調べてみた。その結果、軸足膜表面からのフィラメント様突起の形成ならびに電子密度の高い軸足内顆粒の放出が観察された。特に、前者のフィラメント様突起は夥しい数にのぼり、それらがゾウリムシの細胞体ならびに放出された毛胞 (trichocysts) を取り囲む像が顕著に認められた。このような現象は、コントロールの太陽虫では認められないことから、食物の認識または接着刺激によって誘発された二次的かつ有効な現象であり、依然として運動能力を有する餌虫のより強い捕獲能に寄与していると考えられる。

(2)食物の取り込み：

軸足膜表面にトラップされた餌虫は、軸足膜表面の流動と軸糸微小管の崩壊による軸足の短縮によって細胞体表面へと運搬されていく。細胞体表面では、原形質膜の

活発な隆起運動もしくは突起形成によって食物盃を形成し、最終的に突起の先端部を閉じることによって食胞を形成する。これは、餌が細胞体表面に到着してから数分以内に完了する迅速な過程である。この時期における電顕観察から、このように活発な運動を行なう原形質膜突起内に、細胞質顆粒と混在して夥しい数のアクチン様繊維 (actin-like filaments) が認められた。このことは、原形質膜突起の形成、伸長、ならびに運動にとって、このアクチン様繊維が主導的役割を演じていることを強く示唆するものである。さらに、この時期の軸糸微小管は典型的な二重螺旋配列の崩壊ならびに微小管自体へのC字型小管への転換を示した。この現象は、高濃度 (20mM前後) のカルシウム処理の際に認められる現象と同様であることから、食物摂取時には原形質膜 (軸足膜を含む) のイオン透過性が変化し、外液から著しいカルシウム・イオンの流入があったことを示唆するものである。

以上、太陽虫における食物の選択性と捕獲能について軸足の役割を中心に調べたが、今後はさらに食物消化過程について研究を進めていきたいと考えている。

質問 渡辺 良雄 (筑波大生物科学系)

餌をとるときにでてくる細い突起状のものの中にはアクチン様の filaments が電顕でみえますか？

回答

細い突起には2種類ありまして、第一の軸足表面から出てくる細いフィラメント状突起にはアクチン様 filament はありませんが、第二の food cup を形成するときの原形質膜突起には、この filament が沢山出現します。

8. 原生動物の示す菌類的諸性質

宮田 善雄 (京都府立大学農学部植物病理学研究室)

Fungal characteristics in some protozoa

Yoshio Miyata (Laboratory of Plant Pathology, Kyoto Prefectural University)

演者は、かつて、藻菌類の一種 *Phytophthora* が示す原生動物的諸性質について報告した。例えば、この菌の遊走子嚢から遊走子の遊出には、ある種の微小管作用にもとづく極めて動的な送り出し機構が存在することや、遊走子は体内に収縮胞をもち、また、鞭毛による活発な遊泳活動をなすことなどである。今回は罹病植物根などに生棲する原生動物が示す2~3の菌類的性質につ

いて、幾つかの観察結果を述べてみたい。

溶液栽培 (土を用いず、養分を溶かした水で育てる方法) は作物を多くの病害や蓄積物質の害などから回避するために発達したものであるが、なお、*Phytophthora* や *Pythium* など根からの病気の発生はまぬがれ難い。本病に罹った植物根では、その腐敗にともない、多くの腐生性糸状菌やバクテリアのほか、原生動物類が発生

し、そのフロラにも変遷がみられ、病状の検定指標になり得ると考えられる。しかし、これらの原生動物類が罹病植物根上で、様々の形態のシストを形成すると、菌類胞子との区別がむつかしくなる。そこで、植物や菌類の細胞壁と特異的に結合する蛍光色素カルコフルオールホワイト (Calcofluor White) による染色を行なって区別しているが、この色素により染色されるシストが存在することがわかった。このシストは *Vorticella* の一種であり、植物性細胞壁 (β -1.4 グルカンあるいはそれに近い物質からなる) を形成している可能性が高い。一方、原生動物と菌類を区別するためのもうひとつの手段として、抗菌性物質による選択的分離方法が考えられるが、いくつかの原生動物は菌類とよく似た抗糸状菌剤に対する感受性を示し、とくに、*Vorticella* は、*Phytophthora* がいくつかの代表的殺菌剤に対して示す抗菌スペクトラムと極めてよく一致を示す。すなわち、Streptomycin や Metalaxyl (Ridomyl) に対しては高感受性であり、PCNB や Benomyl (Benlate) には感受性が低い。また、織毛虫類に存在する交配型は菌類のそれと類似するものであり、例えば、*Phytophthora melonis* においては、異なる交配型 A₁ と A₂ の菌株間においてのみ融合がみられ、有性生殖の結果、卵胞子が形成される。さらに、この卵胞子は、*Colpoda steini* などの抵抗型シストと微細構造的に類似点が多く、いずれも外層と内層からなる厚い細胞壁を有し、その細胞質内においては核と脂質に富むと思われる胞囊を残して、他のほとんどすべてのマイクロオルガネラは消失する。この他、培養におけるチアミン要求性や、ある種のステージにおけるステロールの必要性なども、菌類とくに藻菌類と共通する点が多

い。両者のこれらの諸性質の共通点を探り出してゆくことは、微生物の分化や進化の道すじを解くひとつのカギを与えてくれることになるかもしれない。

質問 重中 義信 (広島大・総科・情報)

1) Calcofluor は cellulose に specific に結合するので、細胞が生きている状態でも死んでいる状態でも染色能は同様であると考えた方がよいのではないのでしょうか。

2) *Vorticella* が calcofluor で染色されるのは面白いと思いますが、Cellulose の分布の特徴について知見がありましたら御教示下さい。

回答

Cellulose 性の細胞壁が保存されているかぎりおっしゃる通り染まると思います。*Vorticella* の cyst 壁のどの部分が染まっているのか細かいことはわかりません。

質問 安達 六郎 (三重大・水産)

染色剤でセルオール染色していますが、原形質の生細胞と死細胞を染色して区別しています。メチレンブルーその他ありますが、判別には染色剤で異なりますか？

回答

Vorticella の cyst などとくに殺してから染めたことはございませんのでわかりませんが、ともかく、生きている胞子や菌糸がよく染まります。

質問 川上 久子 (鈴峯女子短大)

Colpoda の cyst wall に関しては、タンパク質とセルロースを含んでいるという結果が報告されています。

回答

私がこの色素で染めてみました場合は染まりませんでした(よく洗えば染ったかもしれませんが)。その文献を存じませんでしたが、後ほど調べさせていただきます。

追加1. 緑紅色ラッパムシと緑色ツリガネムシ

福井 啓二, 浅井 博 (早稲田大学理工学部物理学科)

Green *Vorticella* and Green-Red *Stentor* with Endosymbiotic *Zoöchlorella*

Keiji Fukui and Hiroshi Asai (Waseda Univ. Department of Physics)

長野県北志賀高原にある高層湿原で、緑色の単細胞藻類 (*Zoöchlorella*) を共生させている *Stentor* と *Vorticella* を発見し採集した。採集は春、夏、秋 (降雪前) の3回行った。この期間、水温は10℃~17℃の幅がある

が、池水の pH は約7.0で一定である。冬期には冠雪する。池にはミツガシワ等の水草が多く、小型水生昆虫やサンショウウオ等が生息している。池水は周囲の山地からの湧水が流入し、池の一端から流出している。

Stentor は水草の根等に高密度に付着している他、自由遊泳のものも可成りな量にいた。細胞膜には、赤紫色の色素顆粒が縞状に縦走しており、外観は共生藻類による緑色と、この色素顆粒によるあざやかな赤紫色を呈する。共生藻類は細胞内全体に分散している。また色素顆粒は周口部に特に密に存在するが、全体にも及んでいる。大きさは300~500 μm 程度である。顕微分光法によりこの赤紫色物質の性質を調べたが、密に存在する緑色藻類に妨げられる等の原因で、明確な分光測定が出来なかった。ラップムシ属の種を判別する目安となる核の形状を、染色法(酢酸カーミン、酢酸オルセイン)及び位相差検鏡法を用いて調べた。細胞をそのまま染色しようとすると共生藻類が染色され核の判別が困難である為、細胞を押しつぶして壊してから染色した。その結果じゅず状、棒状に染色される物がなかったため、核の形状は円形であると推察している。詳しくは切片像の観察によって明らかにする予定である。現在までの観察知見によれば、この *Stentor* は *Stentor amethystinus*, LEIDY, 1880であると思われる。日本の図鑑等に記載はない。

Vorticella は同じ池から採集された *Stentor* のように大量にはいない。細胞が10~20程度のコロニーが2, 3発見される程度の生息状態である。大きさは頭部が~30 μm 程度、柄部の長さが200~800 μm である。頭部のみ共生藻類が存在し、柄部にはツリガネムシ特有のスパスモネームが存在し、収縮運動をする。頭部に共生する藻類のため、外観は緑色を呈する他は *Vorticella convallaria* に良く似ている。共生藻類を持つ *Vorticella* には *V. chlorostigma*, Ehrenberg, *V. fasciculata*, Müller が知られているが、今回採集された *Vorticella* に関しては分類上の情報が少ないため、種が判別できない。日本の図鑑に記載はない。

Stentor の培養は成功していないが、*Vorticella* は大量に培養し得る状態である。また、この池に関する詳しい生態調査等を行いたいと考えている。

分類に関して、ていねいな指導をして下さった柳生亮三先生に対し、ここに感謝の意を表します。

質問 小山 力(予研・寄生虫)

1. ラップムシの核にはじゅず状になったものもありますが、この種は如何でしょうか。
2. 同じラップムシに紅色の顆粒をお認めになっておられますが、それは紅色の色素をもった藻類が共生しているのではありませんか。

回答

1. 十分な観察が出来ないところですが、円形であるようです。
2. 紅色顆粒は膜のセン毛列線にそって膜にくみこまれて存在するようです、したがって藻類ではないと考えています。

追加 盛下 勇(環境調査技研)

Vorticella sp. の方は2~3年前から千葉県木更津市付近の水田に発生している。

種名については *J-Stiller* が1940年代に報告同定しているので必要な情報提供しますが新種ではないと思います。

回答

どうもありがとうございます。

質問 重中 義信(広島大・総科・情報)

- 1) *Stentor* の赤紫色の色素の分布については、是非共、超薄切片を電顕的に観察されることをおすすめします。
- 2) *Stentor* の分類では核の形態と数が重要な factor なので *Chlorella* が邪魔しても、試料作成法を考慮し位相差などで観察されるようにおすすめします。

回答

御助言どうもありがとうございました。

質問 川上 久子(鈴峯女子短大)

この *Stentor* は短い fun-shaped ではなく、細長いラップ状の形態であること、大核が Oval であること、および色調から *S. amethystinus* ではなく、*S. igneus* であると思われます。

また、私も広島市近郊で同じものを採集しています。

回答

はいわかりました。

追加2. ディディニウムの *excystment* 誘発物質

福井 啓二, 前島 太郎, 浅井 博 (早稲田大学理工学部物理学科)

Excystment Inducing Substance for the Cyst of Didinium nasutum

Keiji Fukui, Taro Maejima and Hiroshi Asai (Waseda Univ. Department of Physics)

ディディニウム (*Didinium nasutum*) のシストは麦ワラ煮出液中で良く *excyst* する。我々は麦ワラ煮出液中に存在する *excystment* 誘発物質の分離精製を試みている。

種々の分画法によって得られた物質は、シストに加えられて *excyst* させる活性を持つかが調べられた。シストは大量培養されたディディニウムを緩衝液中でスターブすることにより同調して *encyst* したものをを用いた。

麦ワラ (乾重量100g) を蒸溜水 (1000ml) 中で120℃, 20分間煮出す。この煮出液はろ紙でゴミ等を除かれた後、限外ろ過膜に通され、分子量が5000以上及び以下の分画に分けられる。そのうち分子量が5000以下の分画に *excyst* させる活性があることがわかった。さらに分子量500を境に限外ろ過すると、分子量500以上及び以下の両方の分画にほぼ同等の活性が認められたため、*excystment* 誘発物質の分子量は約500程度であることが判明した。

つぎにこの分画に含まれる物質の化学的性質を調べた。分子量 5000 以下の分画を減圧蒸溜で濃縮 (30 ml) し、Sephadex G-25 (4cm×40cm) でゲルろ過して分画した。それぞれの分画 (5ml) を蒸溜水で100倍に稀釈してシストに作用させたとこ 3 フラクション (30フラクション中) に大きな *excystment* 誘発活性があった。同時に各フラクションについて糖の定量 (Anthrone 法) を行ったところ、*excystment* 誘発活性を有するフラクションのみに糖が検出された。糖の量は、*excystment* 誘発活性に比例している。

これらの結果から *Didinium nasutum* のシストを *excyst* させる物質は分子量500程度の糖質であることが判った。また、この分画は、*Vorticella*, *Stylonychia* のシストを *excyst* させることも判った。現在、この分画の精製を継続して行っている。

質問 末広 誠一 (都立大・理・生物)

Didinium nastum は *Paramecium* だけを捕食するといわれていますが *Paramecium* を入れたときには *excystment* は起こるのでしょうか。

回答

○「STRAW の煮出液 + *Paramecium*」では STRAW 煮出液と同等に *excyst* します。

○*Paramecium* を Buffer にサスペンドして加えても *excyst* しません。以上のことから

○*Paramecium* の存在は *excyst* に必要ではないと考えています。

質問 丸山 正 (都立大・生物)

イオン交換クロマト等をやりますといかがでしょうか。

回答

①DEAE sephadex A-25 で、かんたんに処理した STRAW 煮出液にも糖がありました。Bioassay をしていませんが、おそらく、*excyst* すると考えております。

質問 宮田 善雄 (京都府大・農)

excystment は日本語ではどういのでしょうか。私共のカビの胞子などでは発芽とか出芽とか申しますが。

回答

脱包のう、脱シストなどと言われているようです。

9. 熱帯地域における牛および水牛のルーメン内繊毛虫の分布

今井 壯一, 木下 正保, 志水 政徳 (日本獣医畜産大学寄生虫学教室)

藤田 溥吉 (日本獣医畜産大学寄生虫衛生研究所)

扇元 敬司 (東北大学家畜衛生学教室)

Distribution of the Rumen Ciliate Protozoa of the Ruminants in Tropical Area

Soichi Imai, Masayasu Kinoshita and Masanori Shimizu (Department of Parasitology, Nippon Veterinary and Zootechnical College, Tokyo.)

Jinkichi Fujita (Institute of Parasitology and Hygiene, Nippon Veterinary and Zootechnical College, Tokyo.)

Keiji Ogimoto (Department of Animal Science, Tohoku University, Sendai.)

演者らは、かねてより種々の反芻動物種間や、それらの生息地域間、特に東南アジア地域の反芻動物におけるルーメン内繊毛虫相について調査を進めており、これまでに本邦産および韓国産の牛、タイ産のコブ牛 (zebu)、台湾産、タイ産の水牛、さらにニホンカモシカ、ニホンシカなどのルーメン内繊毛虫相について報告してきた。今回はフィリピン産およびケニア産コブ牛と、フィリピン、マレーシア産水牛における繊毛虫構成を調査した結果について報告する。

材料は、ほとんどのものは屠場において屠殺された個体から採取したものであるが、一部のものはルーメンカテーテルを用いて採取した。採取後ただちに10%フォルマリン液または MFS 液で固定して持ち帰ったのち鏡検を行なった。

検索の結果、4科14属50種が検出され、これらのうち、従来本邦の牛から検出されていない種類は半数以上の27種存在した。また、これらの中には新属新種と思われる *Buetschliidae* の2種、新種と思われる *Diplodinium* 属の1種、および新型と思われる *Enoploplastron triloricaum* の2型を含んでいた。

また検出された種のうち、*Oligoisotricha bubali*, *Entodinium chatterjeei*, *Eremoplastron bubalus*, *Ostracodinium nucleolobum* の4種は、今回調査した4種の検体のうち、3検体以上に認められたが、本邦産の牛からは全く見られないものであったことから、これらの種は熱帯産の反芻家畜に特徴的に広く分布している種であると考えられる。さらに *Entodinium fujitai* と *E. tsunodai* がそれぞれフィリピン産、ケニア産コブ牛から検出されたが、これらは水牛以外から初めて認められたも

のであった。また *Enoploplastron* 属繊毛虫は、本邦の牛には全く認められないものであるが、今回の調査ではコブ牛より、かなり高い出現頻度で検出された。

一方、これらの種に対して、本邦産牛から普通に見られる *Entodinium bursa*, *polyplastron multivesiculatum*, *Diploplastron affine*, また本邦産牛と共にニホンカモシカからも高率に出現する *Elytroplastron* 属繊毛虫は、今回の調査では全く認められなかった。

各宿主における出現種 (型を含む) は、マレーシア産水牛18, フィリピン産水牛13, フィリピン産コブ牛41, ケニア産コブ牛58で、コブ牛では明らかに出現種数が豊富であった。

調査した各々の宿主における出現種を本邦産牛の出現種と比較すると、水牛ではマレーシア産、フィリピン産がそれぞれ77.8%, 69.2%であり、コブ牛ではフィリピン産のものが73.2%で、本邦産牛の繊毛虫構成と比較的類似していたが、ケニア産コブ牛では50.0%で、本邦産牛の構成とはかなり異なっていた。

一方、各宿主1頭あたりの平均出現種数は、水牛ではマレーシア産7.3, フィリピン産10.5に対し、コブ牛ではフィリピン産16.5, ケニア産27.1であった。これらの値は、本邦産牛における10.3に比較し、コブ牛では出現種が variety に富んでいることを示すものである。これに対して、繊毛虫数では本邦産の牛と比べ、水牛、コブ牛とも1~2オーダー低い値が得られた。このことは宿主の栄養条件によるものと考えられる。

今回得られた各宿主と、本邦産牛とのルーメン繊毛虫の属別構成比を比較すると、特にケニア産コブ牛ではかなりの相違が認められた。すなわち、本邦産牛では *En-*

toad 属繊毛虫が全体の86.5%を占めるのに対し、マレーシア産水牛では47.8%、ケニア産コブ牛では14.3%と極めて少なく、これに対してこれらの宿主では、セルロース分解能をもつことが知られている、*Diplodinium*, *Eremoplastron*, *Ostracodinium* などの大型繊毛虫が多く認められた。これらの宿主は多くは粗飼料のみで飼育されており、このような繊毛虫構成をもつことは宿主にとって極めて有利であろうと考えられる。

質問 小山 力 (予研・寄生虫)

牛類の輸入によって国内の牛類のルーメンプロトゾアの種構成が変わってきているというような具体例がございましたら教えて下さい。

回答

ルーメン内繊毛虫の定着様式は宿主相互間の接触によ

ることが知られておりますので、輸入牛と在来牛が同じ場所で飼育されているような case では、日本の他の地域では出現しない種が在来牛のルーメン内にみられる例がございます。また、動物園などで本来異なった地域に生息する反芻動物でも接触の chance さえあれば繊毛虫構成が変わる可能性があると思います。

質問 浅井 良紀 (環境調査技術研)

講演に出た共通度、出現率について、算出方法を簡単に教えて下さい。

回答

共通度は調査した宿主と本邦産牛との共通種数を調査宿主における出現種数で割ったもの、また出現率につきましては当該種が出現した宿主数を調査宿主数で割ったものでございます。

10. ミドリゾウリムシ (*Paramecium bursaria*) における負の走光性

松岡 達臣 (広島大学理学部動物学教室)

Negative phototaxis in Paramecium bursaria

Tatsuomi Matsuoka (Zoological Institute, Faculty of Science, Hiroshima University)

正の走光性は、共生藻のクロレラを明るい場所に運び、光合成をさせるために非常に重要である。一方、負の走光性は正の走光性とは異なった意味で重要であると考えられる。すなわち、野外では細胞は強い紫外線に直接さらされているため、負の走光性は紫外線からの防御機構の一つとして、ミドリゾウリムシだけでなく多くの運動性をもつ原生動物に共通したものであると考えられるからである。ここではミドリゾウリムシを用いて、負の走光性の日周期リズムの有無、負の走光性をひきおこす行動、それらの行動とクロレラとの関連性の有無、またその行動の一つである光強度依存の速度変化のメカニズムなどについて述べる。

まず、負の走光性の程度は、ガラス容器の明るい場所 (15×10^4 ルクス) から暗い場所 (5×10^2 ルクス) に移動した細胞数の割合として表した。この方法によって負の走光性を1時間ごとに24時間測定した結果、ほとんど日周期リズムは認められず常に顕著な負の走光性が観察された。

この負の走光性をひきおこす行動を調べるために、ガラス容器中の細胞の運動を軌跡写真に撮ってみたところ

2種類の行動が観察された。一つは、ガラス容器の light area と dark area とにおける細胞の遊泳速度のちがいである。細胞は light area では非常に速く泳いでいるが、dark area ではゆっくりと底をはっているか運動を停止している。もう一つは、dark area から light area に細胞が泳いできたときにひきおこされる回避反応である。dark area にいる細胞はほとんど遊泳を停止しており、light area に泳いでくる細胞はごくまれである。したがって、ミドリゾウリムシの場合は回避反応よりも速度変化の方がより重要な要因であるように思われる。

正の走光性では共生クロレラが重要な役割を担っていることが報告されている。一方、負の走光性にクロレラが関与しているかどうかについて、クロレラをもたない白色系統と正常系統において、上述の2種の行動を比較することによって検討した。まず、遊泳速度の比較をした。 5×10^2 ルクスに15分放置したとき、100細胞の平均遊泳速度は、正常系統で $132 \mu\text{m}/\text{sec}$ 、白色系統で $139 \mu\text{m}/\text{sec}$ であった。この状態の細胞に 15×10^4 ルクスの光を加えると、両系統ともに一時的な繊毛打逆転の後、1分までに急激な速度上昇がみられた。5分後には、正

常系統において $448\mu\text{m}/\text{sec}$ 、白色系統では $418\mu\text{m}/\text{sec}$ にまで達した。光を加えてから5分後に、光強度を 5×10^2 ルクスに下げると両系統において急激な速度の減少がおこり、2分後までにもとのレベルにまで回復した。この結果は、遊泳速度の変化はクロレラとは無関係であることを示唆する。次に両系統を用いて、光強度の上昇に伴う回避反応を調べた。両系統ともに、光を加えて (15×10^4 ルクス) 1秒以内に90%以上の細胞が反応を示した。両系統の間に有意な差はなく、この反応もまたクロレラに依存しないことが考えられる。

次に、2種の行動のうちの特に重要であると考えられる速度変化について詳しく調べた。まず、細胞を 1mM NiCl_2 で2分間処理し、繊毛打を停止させた後、繊毛の光に対する反応を観察した。 10^3 ルクスでは、このような処理をした細胞の繊毛の基部は前方を向いていたが、先端部は後方を向いていた。すなわち、繊毛は弓なりに曲がって定位している。この時、細胞表面に対する繊毛のなす角度(細胞の後方から前方に向けて測った角度)は、基部では平均 122° 、先端において 63° であった。この状態の細胞に 7×10^4 ルクスの光を加えると、繊毛は一時的に前方に定位した後、平均13.9秒後に後方に向かって倒れ、細胞表面に平行に定位した。 Ni^{2+} 麻酔が不完全な場合繊毛の前方や後方への定位に伴って小刻みな繊毛打が観察された。これらの結果は、遊泳速度の上昇が

繊毛打頻度の上昇や有効打の角度変化に依存することを示唆している。メチルセルロースを含む液に、 Ni^{2+} 処理しない細胞を入れて繊毛運動を観察すると、上述の示唆を支持するような結果が得られた。今後は、正常なコンディションで繊毛の角度変化及び頻度を定量的に測定する必要がある。

質問 樋渡 宏一(東北大・理・生物)

温度のコントロールはどのようにされましたか

回答

温度の上昇をさけるために熱吸収フィルターをタングステンランプと glass chamber の間に置き、一定温度に保った水を chamber の下部を循環させました。しかしながらわずかの温度上昇 ($0.1 \sim 0.2^\circ$ 程度) はあるようです。この温度の影響を検討するために $1 \sim 2^\circ$ 温度を上昇させてみましたが、ciliary reversal も swimming velocity の上昇もほとんどおこりませんでしたので今回の場合温度の影響はほとんどないと思います。

質問 浅井 良紀(環境調査技術研)

本実験において波長特性はどう考慮しているか。

回答

本実験では、光源としてタングステンランプを用いました。波長特性に関してはこれから実験するつもりです。

11. 繊毛虫 *Euplotes woodruffi* 同胞種群の有性生殖と分布

小 阪 敏 和 (広島大学理学部動物学教室)

Sexual reproduction and distribution of Euplotes woodruffi complex (Ciliophora)

Toshikazu Kosaka (Zoological Institute, Faculty of Science, Hiroshima University)

形態種 *Euplotes woodruffi* は、淡水から海水まで広く分布している。しかし、本種には生息場所と有性生殖の方法を異にする3同胞種群 (syngen 1-3) と1グループ(オートガミーグループ)が存在する。これらの同胞種群とグループの日本国内における生息場所と地理的分布及び有性生殖の方法と特徴について報告する。

syngen 1の株は、塩分2.2-21%の海に面した溝や川、汽水の池や湖から採集された。これまでに約400株を単

離培養して研究を行ったが、すべての株は有性生殖として接合だけを行い、オートガミーは観察されていない。13の接合型からなる繁殖系をもつ。調べた株のうちの7%は自系接合 (selfing) を行うが、連続的に自系接合で維持された系は近交弱勢を示し、F6 までには死滅する。同一産地(同一塩分)の株間あるいは異産地(異なる塩分)の株間の交雑は、80%以上の高い生存率を示す。outbreeder と考えられる。鳥取県: 東郷池, 島根県:

中海・宍道湖・神西湖・江川，広島県：広島湾周辺・向島・倉橋島・厳島，山口県：屋代島他2箇所，愛媛県：内海，高知県：浦戸湾，熊本県：八代市，東京都：東京湾から採集されている。

syngen 2の株は，河口付近あるいは海岸近くの塩分0-1.3%の溝，湖から採集された。有性生殖はオートガミーと接合であるが，前者がはるかに優先的に生じ，株の維持繁殖に有効である。接合は低率（0.1%以下）でしか生じない。異産地株間，同一産地株間，あるいは同一株からのクローン間の接合はすべて致死的で，多くの場合，接合完了体は低い生存率（10%以下）を示し，少数の生存したクローンもオートガミーを未熟期なしにくり返して，F6までにはすべて死滅する。このことは本 syngen が分化中で，接合能を失う過程にあることを示唆する。5接合型をもち，inbreeder と考えられる。青森県：姉沼，島根県：松江市・太田市・斐伊川河口付近から採集されている。本 syngen に非常に類似した特徴を示す株が，北海道の小沼と大沼から採集されたが，これについては現在研究中である。

syngen 3の株は，平地の淡水の池と川から採集された。有性生殖は接合だけで，4以上の接合型をもつ。自系接合はほとんどの株で観察される。分布は局地的で，これまでのところ熊本県の水前寺公園の池，江津湖，白川，緑川から採集されている。inbreeder と考えられ

る。種々の特徴についての詳細は研究中である。

オートガミーグループの株は，淡水の水量の豊富な河川や湖の貧腐水性から β 中腐水性の水中から採集される。約600株を単離培養して詳しく調べたが，有性生殖はオートガミーのみで，同一産地の株間あるいは異産地の株間の混合でも，生活環のいかなる時期でも接合は観察されない。当研究室ではオートガミーの連続で10年以上培養された株もある。極端な inbreeder と考えられる。青森県：小川原湖・奥入瀬川，秋田県：八郎潟・雄物川・玉川，宮城県：北上川・広瀬川，山形県：馬見崎川，茨城県：北浦・霞ヶ浦，静岡県：天竜川，滋賀県：余呉湖・琵琶湖，京都府：桂川，鳥取県：多鯉ヶ池，岡山県：旭川・湯原湖，鳥取県：宍道湖・斐伊川・神戸川・三刀屋川・田饒川，広島県：上野池・可愛川・黒瀬川・太田川，山口県：錦川・常盤池，高知県：竜河洞，愛媛県：重信川，福岡県：室見川・筑後川，熊本県：緑川・白川・球磨川から採集されている。本グループ内の株間の関係については，今後の研究を必要とする。syngen 2は，種々の特徴から本グループに近縁なもので，本グループと syngen 1の間に位置すると推定される。

これまでに，オートガミーグループと syngen 1が島根県宍道湖布志名（塩分2.2%）で，オートガミーグループと syngen 3が熊本県白川と緑川で，それぞれ同所的に生活していることが確認された。

12. *Euploes patella* (syngen 2) における接合時の溶液による selfing pairs の誘導

佐藤 勝 幸（広島大学理学部動物学教室）

Induction of selfing by cell-free fluid from crosses in Euploes patella syngen 2

Katsuyuki Sato (Zoological Institute, Faculty of Science, Hiroshima University, Hiroshima)

株間交雑を行い，そのまま $24 \pm 1^\circ\text{C}$ で維持すると接合対が離れて4日後から再接合対が現われる。再接合する接合完了体は交雑時の溶液に浸ったままであるので再接合対形成に交雑時の溶液が関連することが示唆される。今回交雑の3時点からの細胞および接合対除去液を使って自系接合の誘導に関する実験を行ったので，その結果について報告する。

使った株間の交雑では相補的な接合型細胞を混合すると混合してから2.5時間後接合対が出来初め3時間後80

%以上の細胞が対を作り20~22時間後対が分離する。細胞および接合対の除去液を交配活性のある各接合型細胞の培地から，相補的な接合型細胞の混合後接合対が形成される時点および対が離れた後の時期にそれぞれ採取し，CFF 1, 2, 3と名づけた。それら除去液に各接合型細胞を100ずつ加え自系接合の誘導率を求めた。接合型IとIVを混合し除去液に加える細胞として接合型Iを使用した場合(I×IV, I)では，除去液に細胞を加えてから24時間後においてCFF 1は2%，CFF 2は33%，

CFF 3は60%の誘導率を示した。CFF 1は接合型IVの細胞の培地から得た。同様に(I×IV, IV)ではCFF 1は0%, 2は5%, 3は56%であった。CFF 1は接合型Iの培地から得た。さらに(II×III, I)でもCFF 3で21%であった。自系接合対は除去液に細胞を加えてから8時間後から現われ始め、いずれの場合でも20時間後までにはほとんど現われた。これらの結果は交雑過程が進むにつれて新たな細胞の自系接合を誘導する要因が混合液中へ放出されることを示唆する。また誘導された自系接合対の小核は減数分裂を行い、対も分離した。次に自系接合を誘導する要因の熱に対する安定性について調べた。特に自系接合を高率で誘導するCFF 3を使用した。CFF 3を沸騰した水に30分間つけ6時間室

温で冷やし接合型IまたはIVの細胞を加えると熱処理しないコントロールに比べて47%から55%へ、23%から3%へと誘導率が低下した。この結果は自系接合を誘導する要因が熱に不安定であることを示唆する。

質問 種渡 宏一(東北大・理・生物)

昔 Kimball が報告した selfing 誘導物質との関係はどのように考えられますか。

回答

Kimball の実験結果は今回の実験の CFF 1 の結果にあたると思いますが、使用している株では CFF 1 による Selfing 誘導能力は不安定で、waiting period を縮めることはあっても Selfing の誘導は出来ないと考えたほうがよいと思います。

13. ゴウリムシ (*Paramecium tetraurelia*) の融合接合完了体の交配型決定

小泉 貞明, 染谷 悦男 (宮城教育大学理科教育研究施設)

Mating type determination in multiplex exconjugants of Paramecium tetraurelia

Sadaaki Koizumi and Etsuo Someya (Institute for Science Education, Miyagi College of Education, Sendai)

Paramecium tetraurelia にはOとEの2つの交配型があり、一般には有性生殖後も親細胞と同じ交配型を発現する。この交配型決定には小核決定因子、E細胞質決定因子あるいは小核前決定などの働きが考えられている。従来、E細胞質決定因子に関しては、受精核が大核原基に分化するさいに作用しその存在下で分化した大核はEとなり、存在しない場合はOを発現するとされてきた。本研究は、このE細胞質決定因子の量的な問題について検討するため融合接合完了体をトリプシン処理により作り考察した。

初めに融合体を高率に作るため、接合対を処理するトリプシン濃度および処理時間を検討した。その結果、接合後4時間経った接合対を1時間、0.025%のトリプシン溶液で処理すると、処理した接合対の約40%が融合体となることがわかった。

この処理方法を用い、種々の融合体を作りその交配型を調べた。二細胞融合体(O+E)ではOが17%、Eが80%、Selfが3%現れ、O:E=1:5となった。三細胞融合体のうち、O+2EではOが8%、Eが92%で

きた融合体のうちほとんどがEを示した。また逆に2O+Eとした場合はOが49%、Eが47%、Selfが4%となり、O:Eはほぼ1:1となった。以上の結果から、OとEの細胞質量が1:1ではE細胞質決定因子は希釈されてしまい、常時Eを発現する量の閾値には達していない。作られた融合体が100%Eを発現するためには、融合体一個体の少なくとも2/3がE細胞由来の細胞質でなければならぬと思われる。

質問 小阪 敏和(広島大・理・動物)

融合接合完了体を用いて影響を調べた場合には、細胞質だけでなく、旧大核の影響も考えられるのではないのでしょうか。

回答

旧大核の影響や融合後の大核原基の位置などいろいろな要因が関係していると思えますが、もっとも大きく交配型を決定しているのはE細胞質決定因子で今回はE細胞質のみに注目して研究しました。旧大核などの影響は今後やっいていこうと思っています。

質問 福間 利英(兵庫医大・医動物)

Type O と E の接合後の個体は O を発現する可能性も E を発現させる可能性もあると考えます。片方しか発現されないメカニズムを考えてみると、片方の発現が抑えられて Silent になっているという可能性はありませんか。

回答

接合を完了した2つの個体は、それぞれ同じ遺伝子型をもつ受精核をつくる。それが大核原基へ分化するさい、E 細胞質決定因子の作用をうけるかどうかで O を発現するか、E を発現するかがまぎります。しかし、この作用の仕方についてはいまのところわかっておりません。

14. テトラヒメナ・ミクロソームの電子伝達系

福島 弘文, 竹田 智雄, 渡辺 武仁, 梅木 茂宣, 佐々木 昇, 野沢 義則
(岐阜大学医学部生化学教室)

Electron Transport System in Tetrahymena Microsomes

Hiroyumi Fukushima, Tomoo Takeda, Takehito Watanabe, Shigenobu Umeki, Noboru Sasaki, and Yoshinori Nozawa (Department of Biochemistry, Gifu University School of Medicine, Gifu)

テトラヒメナ細胞は、高等動物と同様な内膜系を有するため、膜の形成あるいは環境適応などの機構解明には好都合なモデル系として種々の報告がなされている。温度変化に伴う脂質変化は膜機能の恒常性維持のための適応反応であり、低温シフトの際にはミクロソームの電子伝達系酵素量に依存してリン脂質アミル鎖の不飽和脂肪酸の増大が認められている。ところで、テトラヒメナ・ミクロソームの電子伝達系酵素に関する知見はきわめて少ない。そこで今回は、電子伝達系酵素阻害剤による脂肪酸不飽和化反応への影響を検討するとともに、不飽和化反応に関与する b 型ヘムタンパクの精製を試みた。テトラヒメナ・ミクロソームのバルミトイル CoA 不飽和化反応には NAD (P) H と酸素が必要であり、この反応は KCN で完全に阻止される。電子受容体のチトクロム C やフェリシアナイドによってもほぼ90%以上の阻害効果が得られた。さらに SH 基阻害剤の PcMB, HgCl₂ 等では NAD (P) H チトクロム C 還元性及び、NADH フェリシアナイド還元活性も阻害され、同時に不飽和化酵素活性も低下した。また、NADPH と還元酵素の結合を阻害する 2'-AMP は NADH-不飽和化活性に対して全く阻害効果を示さないのに対して、NADPH-不飽和化活性は阻害された。以上の阻害実験から、(i) NADH → フェリシアナイド還元酵素 → ヘムタンパク → CSF (ii) NADPH → チトクロム C 還元酵素 → ヘムタンパク → CSF の2つの経路が推測される。また、低温スペクトルによって P-450 のピークが確認されず、チトクロム P-

450 の存在する可能性は少ない。しかしながら、スペクトルから b 型ヘムタンパクの存在が推測されるため、ミクロソームを Triton X-100 とコール酸ナトリウムで可溶化し、DEAE-セルロース、Sephadex G-100 カラムを用いて b 型ヘムタンパクの精製を試みた結果、SDS ポリアクリルアミド電気泳動から、22,000 の分子量を有するヘムタンパクであることが判明した。酸化還元スペクトルでは、酸化型 414nm, 還元型 560, 528, 425nm に極大吸収を持ち、しかも α 帯の 556nm に肩を持つスペクトルを示した。酸性アセトンには可溶性であり、ピリジンフェロヘモクロムの吸収スペクトルでは 557, 524, 418nm に極大吸収が認められたことから b 型ヘムタンパクであることが確認された。低温スペクトル測定によると α 帯に 558, 551nm の二つのピークと β 帯には 4 つのピーク、さらに γ 帯には 423 nm の極大吸収スペクトルが認められ、チトクロム b₅ に特有な波長を示している。CO, NaN₃, KCN などとの結合スペクトルは観察されず、Na₂S₂O₄ を用いて還元し、ついで透析を行ない Na₂S₂O₄ によって再度還元されたことは自動酸化型のヘムタンパクであることを示唆している。さらに、ラット肝ミクロソームから精製された NADH-チトクロム b₅ 還元酵素と精製された b 型ヘムタンパクに NADH を添加することにより、ヘムタンパクが還元された。したがってヘムタンパクはテトラヒメナ・ミクロソームのチトクロム b₅ であることが確認された。

質問 尾崎 文雄 (高知医科大)

分子量に関してもう一度お聞かせ下さい。

回答

テトラヒメナ・チトクロム b_5 の分子量は22,000です。

質問 渡辺 良雄 (筑波大・生物科学系)

テトラヒメナの cytochrome b_5 が rat の cytochrome b_5 と分子量がちがうのはとても興味あることに思えま

す。両者のトリプティックフラグメントなどは検討されておりますか。

回答

大変重要な点と思いますが、現在のところまだ検討しておりません。

15. テトラヒメナ細胞の低温シフトにおける膜リン脂質アシル鎖の変換機構

吉岡 史郎, 亀山 泰永, 野沢 義則 (岐阜大学医学部生化学教室)

Modification Mechanism of Phospholipid Acyl Chain Composition during Thermal Adaptation in Tetrahymena pyriformis

Shiro Yoshioka, Yasunaga Kameyama, and Yoshinori Nozawa (Department of Biochemistry, Gifu University School of Medicine, Gifu)

テトラヒメナ細胞は外的環境の変化に際し、その脂質組成を変化させることによって巧みに適応している。環境変化の1つとして生育温度低下時には、膜リン脂質の特に C-1 位に不飽和脂肪酸を増加させ、至適な膜流動性を保持することによってその環境に適応していることが知られている。不飽和脂肪酸の増加にはアシル-CoA 不飽和化酵素が重要であるが、一方、この細胞は、真核細胞に高い活性が認められるリン脂質再アシル化酵素系の存在も知られている。今回は、生育温度シフト時に観察されるリン脂質不飽和脂肪酸の増加をもたらすのが *de novo* 合成酵素系によるのか、あるいは、再アシル化酵素系によるのかを明らかにすることを試みた。

[^{14}C]-パルミチン酸、又は、[^{32}P]リン酸で前標識した細胞を温度シフトした場合、両ラベルとも各リン脂質における両放射活性の分布は変化しない。このことは、リン脂質及びそのアシル鎖が、温度シフト後新しく合成されることもなく、又、分解もほとんど起こっていないことを示す。[^{14}C]酢酸、及び [^{32}P]リン酸の脂肪酸、及びリン脂質への取り込み能を検討したところ、温度シフトによって脂肪酸合成能は約 1/10 に、又、リン脂質合成能は 1/20 以下に低下した。更に、温度シフト時に増加するリン脂質不飽和脂肪酸と、新たに合成される脂肪酸とが互いに対応しないことから、低温適応時のリン脂質アシル鎖変化は新たに合成される脂肪酸によるので

はないことが示唆された。一方、[^{14}C]パルミチン酸と、[^{32}P]リン酸で同時に前標識した細胞の温度シフト後の両ラベルの比を経時的に観察したところ、培地中に不飽和脂肪酸(リノール酸、 γ -リノレン酸)を添加することによって [^{14}C]脂肪酸の放射活性の選択的な減少がみられた。

以上の結果から、テトラヒメナ細胞の温度シフト時におけるリン脂質不飽和脂肪酸の増加は、新たなリン脂質、及び、脂肪酸の合成を必要とせず、既存のリン脂質アシル鎖が脱アシル化 \rightarrow 不飽和化(及び、鎖長伸長化) \rightarrow 再アシル化のプロセスによることが示唆された。

そこで、ホスファチジルコリン(PC)、ホスファチジルエタノールアミン(PE)の再アシル化酵素系を検討したところ、1-リゾPC、1リゾPEのみでなく、2リゾPC、2リゾPEに対しても再アシル化系が存在することが明らかとなった。しかしながら、それらの酵素は、生育温度シフト及びインキュベーション温度変化においても、種々のアシル-CoAに対する基質特異性は変化しないことから、温度シフト時に再アシル化酵素系でリン脂質に導入される不飽和脂肪酸は、アシル-CoA不飽和化酵素によって調節されていると考えられる。なお、この細胞ではリン脂質アシル鎖を直接不飽和化する酵素活性の存在も見い出されており、両経路の協調作用によって膜リン脂質の不飽和脂肪酸が増加すると考えられる。

質問 尾崎 文雄 (高知医大)

2-acyl transferase などの浸透圧について何かお教え
いただければ。

回答

酵素自体が膜結合性でありますので、その膜状態によ
って変化することが考えられます。その時、膜変化によ
って浸透圧変化も十分に考えられますが、私どもは直接
の変化は測定致しておりません。

質問 丸山 正 (都立大・生物)

これらの Enzyme の働く場合は membrane の中と
考えてよろしいでしょうか。

回答

これらの Enzyme の localization をみてみますと、
microsomes 画分に最も高いことから、membrane bound
enzyme として存在しております。したがって、その
biomembrane の場で反応が行なわれていると考えてお
ります。

質問 渡辺 良雄 (筑波大・生物科学系)

^{14}C パルミチン酸と ^{32}P 磷酸をとりこませて phospho-
lipides の中の $^{14}\text{C}/^{32}\text{P}$ 比をみておられ、低温シフトダ
ウンの結果を示されました。他の data からお考えは正
しいと思いますが、温度シフトによって ^{14}C パルミチ
ン酸、 ^{32}P 磷酸の細胞内への uptake そのものに差があ
るようなことはありませんでしょうか？その点おうかぶ
います。

回答

^{14}C -パルミチン酸に関しては、温度シフトしても、
取り込みに変化はありませんが、 ^{32}P -リン酸、 ^{14}C -酢酸
においては、御指摘のように低温培養細胞において取り
込みが低下致します。これは、細胞の形質膜をとおして
取り込まれる機構の相異によると考えられます。ところ
が、高温から低温へのシフト時の両者の脂質への取り込
みは、低温培養細胞の時よりさらに低下することから、
この相対的な差は脂質合成能の差によるのではないかと
考えております。

16. 臨床用麻酔剤による原生動物の停止

柿市 徳英, 小栗 一樹, 藤原 深雪, 小林 茂, 鎌田 信一, 内田 和夫

(日本獣医畜産大学獣医衛生学教室)

今井 壮一 (日本獣医畜産大学寄生虫学教室)

新井 昌栄 (エーザイ株式会社)

Effect of Anesthetics to Motion of Free-Living Protozoa

Norihide Kaki-ichi, Kazuki Oguri, Miyuki Fujiwara, Shigeru Kobayashi, Shin-ichi Kamata and
Kazuo Uchida (Department of Veterinary Hygien, Nippon Veterinary and Zootechnical college)

Soichi Imai (Department of Parasitology, Nippon Veterinary and Zootechnical College)

Haruyoshi Arai (Eizai Co., Ltd.)

自由遊泳型の原生動物、特に動きの速い種は、その同
定観察あるいは撮影に困難を窮めることが多い。そこ
で、臨床用麻酔剤等を数種使用し、原生動物の停止を試
みた。

使用した薬剤は、臨床用麻酔剤 (エーテル, ハロタ
ン, ソムノペンチル, ラボナール, ケタラール, キシロ
カイン), 筋弛緩剤 (セラクタール), 消毒防腐剤 (ホル
マリン) の計 8 剤であり、対象とした原生動物は *Para-*
mecium, *Tetrahymena*, *Colpidium*, *Chilomonas* の 4 属
である。

その結果、ケタラール (5% Ketmine) が最も有効
で、次いでラボナール (2.5% Thiopental) であった。
その他の薬剤は、0.005 (ml/ml) の低濃度でも 30~60 秒
で破壊してしまうもの (主に揮発性剤) や、高濃度添加
でも効果の見られないものであった。

ケタラールの効果: *Paramecium* への有効量は、0.2
(ml/ml) 添加と思われ、遊泳停止 (以下、停止) が 3
分後に始まり、約 5 分間繊毛運動等が観察でき、次いで
繊毛運動停止 (以下、完全停止) に入る。その後、約 18
~20 分で膨張変形が認められる。以上の如く、約 15 分間

の停止時間が得られた。しかし、0.4 (ml/ml) では、停止が直に見られ、変形が早まる。一方、0.1, 0.05 (ml/ml) では、停止が遅れ、観察時間が短縮する傾向を認めた。

Tetrahymena への有効量は、0.2 (ml/ml) 添加と思われ、添加とほぼ同時に停止し、約5分後に完全停止を認める。膨張変形は、完全停止後約30~60秒後に始まる。0.4 (ml/ml) では、添加と同時に完全停止が見られ、約15分後に、膨張変形を認める。一方0.1 (ml/ml) では停止せずに変形破壊が見られた。

Colpidium では、0.05 (ml/ml) 添加が有効で、遊泳停止と同時に完全停止し、その1~2分後には変形膨張、破壊が短時間(1~2分)に見られる。0.1 (ml/ml) では、停止、破壊を1分以内に認め、0.03 (ml/ml) や0.02 (ml/ml) では停止せずに変形、破壊を起こした。

Chilomonas では、0.1~0.2 (ml/ml) 添加が有効と思われるが、前述の *Paramecium*, *Tetrahymena* に比較し、停止時間(完全停止のみ)は20~40秒と短かく、変形、破壊も早い。一方、0.05 (ml/ml) 以下では、停止せずに遊泳中に変形あるいは破壊した。また、0.3 (ml/ml) 以上では停止、変化破壊がほぼ添加と同時に起こる。

ラボナールの効果：*Paramecium* への0.2 (ml/ml) 添加では、30分間変化を認めず、0.35 (ml/ml) では、25分後に膨張変形し、停止とほぼ同時に破壊した。さらに、0.5 (ml/ml) では、4分後に停止と膨張変形がほぼ同時に起こり、その後約30秒で破壊が始まる。以上の如く、*Paramecium* へのラボナールの効果は期待できなかった。

Tetrahymena への有効量は、0.2 (ml/ml) 添加と思われ、6分後に停止し、約6分間の観察が可能で、その後変形破壊をほぼ同時に認めた。0.4 (ml/ml) では、約3分後に停止し、約3分間の観察が可能である。一方、0.1 (ml/ml) では、30分間変化を認めなかった。

Colpidium への有効量は、0.07~0.1 (ml/ml) 添加と

思われるが、約7分後に完全停止し、観察時間が30~40秒と短い。一方、0.05 (ml/ml) 以下では、変化なく、0.15 (ml/ml) 以上で、停止と変形をほぼ同時に認めた。

Chilomonas では、停止せずに膨張変形が認められ、破壊も急であり、ラボナールの効果は期待できなかった。

以上のことから、ケタラールやラボナールによる遊泳性の原生動物の停止が可能であるとともに、同定観察あるいは撮影が容易になろうと思われた。さらに、多動の生物に試みるとともに、麻酔効果のみの調査を目的に、薬剤との接触時間をコントロール、一定時間停止させた後復帰させる実験を行う予定である。

質問 小山 力(予研・寄生虫)

観察のためには、良い状態での麻酔時間が長いほうが良い筈ですので、表示されたもの以上に濃度を低下させてみた場合には如何でしょうか。全く影響が無いということでしょうか。また収縮性の強いラツパムシやツリガネムシの顕微鏡標本作製の場合における麻酔—固定の操作にお使いになった薬剤が使えるかどうかお教え下さい。

回答

今回の実験では、汚泥中の Protozoa の計数を目的に行なったので、30分以内に停止しない場合は無効とした。さらに、多種に対する効果とともに長時間の観察をしようと思っております。

質問 福井 啓二(早大・理工・物理)

1. 完全停止時に Cilia はどのような向きでしょうか。reversal していますか。
2. 完全停止時から、醒めさせることが可能でしょうか。

回答

1. Cilia の方向については、調査しませんでした。麻酔から復帰に関する実験をさらに行い、そのあたりのことも同時に観察してみたいと思います。

17. 嫌気性発酵汚泥と好気性汚泥の混合による嫌気性発酵での原生動物の経時的变化の一考察

鎌田 信一, 柿市 徳英, 小林 茂, 内田 和夫 (日本獣医畜産大学家畜衛生学教室)

新井 昌栄 (エーザイ株式会社)

今井 壮一 (日本獣医畜産大学寄生虫学教室)

Chronological changes in protozoa by mixing of anaerobic sludge and aerobic sludge in anaerobic fermentation

Shin-ichi Kamata, Norihide Kaki-ichi, Shigeru Kobayashi, Kazuo Uchida
(Department of Animal Hygiene, Nippon Veterinary and Zootechnical College)

Haruyoshi Arai (Eisai Co, Ltd)

Soichi Imai (Department of Parasitology, Nippon Veterinary and Zootechnical College)

Bütshli (1887) 以来, 多くの研究者により, 原生動物の地理的な分布および河川, 湖沼, 海洋などの水域における種類とその量的な報告がなされている. 特に汚水生物系列中の原生動物については Kolkwitz & Marsson (1908), Liebmman (1951) 等により, 指標生物リストの作製および体系化が進められ, 日本では津田, 須藤等により研究が報告されている.

汚水生物系列の中で, 人工環境下つまり廃水処理過程一活性汚泥法, 散布戸床法一における原生動物に関しては, Barker, Curds, 盛下らの報告があり, 種々の条件等により, 出現頻度, 種類により優勢指標原生動物のリストを作製し, 管理業務の一方法として利用している.

一方, 嫌気性条件下における原生動物については, 無加温のインホフタンクを用いて, Lackey, Liebmman 等により報告されている. 彼らの報告より, 嫌気性消化の状態に18種観察され, それらは大体同量の *Flagellates*, *Ciliates* と *Amoeba* であり, *Flagellates* には *Treponomas*, sp. *Tetramitus*, sp. *Trigomonas*, sp. *Amoeba* には *Vahlkamfia*, sp. *Hartmanella*, sp. が *Ciliates* には *Metopus*, sp. *Trimyema*, sp. *Saprodictum* sp. が観察されている.

筆者らは, 数年来嫌気性の中温発酵 (35~37°C) 領域に生存する原生動物の種類および出現頻度について調査を進めている. 今回は曝気式ラグーン, つまり好気性下に生存する原生動物の嫌気性下における消長を調べた.

実験材料は豚ふんで培養した嫌気性発酵汚泥と曝気式ラグーン汚泥を用いた. 汚泥の調整には遠心機を用い, 1500rpm, 5分間の回転条件で遠心し, 嫌気性汚泥と好

気性汚泥の比率を 1:1, 1:5, 1:11, 好気性汚泥のみの4段階とした. 実験装置は酸化還元電位を -300-400 mv に保てる嫌気性発酵装置とし, 発酵槽には 1l の三角フラスコ (有効容量 600ml) を加温水槽中にセットし, 実験を開始した. ゼンプリングは一定時間ごととし, 実験に使用した各汚泥に生存する原生動物については, その種類, 数量についてあらかじめ調査した. 一定時間のたびに原生動物の種類と数量を観察, 測定したが, その他に酸化還元電位 (ORP), pH, ガス発生量, COD, TOC, メタンガス濃度も測定した.

結果として, 以下の事柄が認められた.

1. 豚ふんを原料とした混合前の嫌気性汚泥に確認できた原生動物は *Bodo*, sp., *Amoeba* sp., *Euglypha* sp. であった.
2. 豚ふんを原料とした混合前の好気性汚泥に確認できた原生動物は *Small flagellate*, *Peranema* sp., *Chlamydomonas* sp., *Aspidisca* sp., *Colpoda* sp., *Vorticella* sp., *Centeropyxis* sp., *Euploetes* sp., *Colpidium* sp., *Hyalosphenia* sp., *Small amoeba*, *Monocercomonas* sp., であった.
3. 鞭毛虫である *Small flagellate* は各汚泥の混合直後は確認できたが, 4時間後は確認できなかった.
4. 鞭毛虫である *Peranema* sp. は4時間までの生存を確認できたが, 8時間後は確認できなかった.
5. 繊毛虫である *Aspidisca* sp., *Colpoda* sp., *Colpidium* sp., *Vorticella* sp., *Euploetes* sp. は各汚泥混合直後は確認できたが, 4時間後は確認できなかった. また遊泳性の *Vorticella* (Telotroch) は16~48時間後に出現

した。

6. 肉質虫である *Centeropyxis* sp. は実験の最後まで生存を確認できた。 *Hyalosphenia* sp. が実験開始後8～12時間後に出現し、その後も増加した。 *Euglypha* sp. は実験が進むにつれて減少したが、 *Small amoeba* は実験が進むにつれて増加した。

以上の事柄より、繊毛虫の生存は全く確認できず、低い酸化還元電位の中での生存はできないと思われる。

好気性汚泥中の *Aspidisca* sp., *Colpoda* sp., *Colpidium* sp., *Vorticella* sp. 等の繊毛虫 *Small flagellate*, *Peranema* sp., 等の鞭毛虫は嫌気性汚泥との混合直後から4時間経過の間に死滅したものと思われ、Lackey や Liebmann が無加温のインホフタンク内から分離した繊毛虫、鞭毛虫はほとんど確認できなかった。この理由は温度差、嫌気度、サンプルの違い、馴化等の条件の違いによると思われる。また、この実験のある時期に遊泳性の *Vorticella* (Telotroch) が出現したことは、遊泳性の *Vorticella* (Telotroch) が嫌気性状態のある時期における生存の可能性を示唆していることも考えられる。

また一方、好気性汚泥中に生存していた肉質虫の *Centeropyxis* sp. は最後まで生存し、好気性、嫌気性の両状態での生存を示したが、今後とも、嫌気性状態における鞭毛虫と肉質虫の種類と出現頻度を調査する必要があると思われた。

18. *Tritrichomonas muris* 偽嚢子の生残性について

小山 力, 黒木 俊郎, 久保チエリ, 菊地 浩真 (国立予防衛生研究所寄生虫部)

The viability of Tritrichomonas muris pseudocysts

Tsutomu Koyama, Toshiro Kuroki, Chieri Kubo and Hiromi Kikuchi
(Department of parasitology National Institute of Health)

マウス、ラット、ハムスターなどの実験小動物の消化管内に寄生する *Tritrichomonas muris* の生活環を検討し、偽嚢子の存在及びそれが感染型であることやその他偽嚢子の諸性質に関して明らかにし、第14回及び第15回日本原生動物学会大会において報告した。これらの報告の中でとりあげた、偽嚢子は嚢子と異なるとする論拠は1)脱嚢現象が見られず、栄養体への形態変化後空殻が観察されない、2)栄養体移行型に phagocytosis が認めら

質問 福井 啓二 (早大・理工・物理)

1. 酸化還元電位とpH の変化の様子に、周期的変動があるように見えたが、サーカディアンリズムなどのような要因は考えられませんか。

回答

サーカディアンリズムの事に関しては解析していませんが、ORP とpH の変化との間に向動の要因があるかないか細かく調べてみます。

質問 小山 力 (予研・寄生虫)

この実験の目的をお聞かせ下さい。汚泥処理の問題と関連があるのでしょうか。

回答

好気性汚泥中に生存する原生動物が嫌気の場合ではどの程度まで生存できるかを調べることである。

質問 角田 清 (家衛試)

1. 汚泥内の原虫が消失したと判断するとき、増菌培養はしましたか。
2. 汚泥単位当たりどれ位以下の原虫数となるとO、または消失と判定するのか。

回答

増菌培養は実施していないが、次の実験で調査したい。

プロトゾア計算盤の72本の線と線の間を5～10本をアトランダムに選んでカウントしたがその間にみられなかったものはOまたは消失とした。

れる、3)光顕的にも電顕的にも偽嚢子に嚢子壁が観察されないなどである。

これに対して Selyukaite (1977) は、ラットの消化管内で *T. muris* の栄養体と偽嚢子を認め、偽嚢子は体外に排出された後、2～4週間内に嚢子になると報告した。さらに嚢子は、乾燥糞中で0℃以下では4ヶ月、4℃では6ヶ月以上、20～22℃の室温では3ヶ月生存するとし、外界に対する耐久性の大なることを強調し、本種

の伝播は主として嚢子によるとした。

この報告の真偽を探るために、糞とともに排出された *T. muris* の偽嚢子が外界で嚢子となるか否かを検討するとともに、その生残性についても調べたので報告する。

偽嚢子の生残性は6条件を設定して調べた。シャーレの底に乾燥した漏紙又は湿った漏紙を敷くことによって乾室と湿室を作成し、それに *T. muris* の偽嚢子を大量に含むゴールデンハムスター(日生研, CB・CN, Conv., ♂, 1—12月令)の糞を入れて保存した。両室にはさらにそれぞれ4℃, 18℃及び37℃の3種の保存温度を設定した。偽嚢子の生残性は、毎日観察し、生存偽嚢子が検出されなくなるまで調べた。生存の確認は1)常法通りのトリパンブルー染色による生死判別法, 2)人工消化液への投入による形態変化と運動性の確認による生死判別法, 及び3) SPF マウス(静動協, ddY, ♀, 4週令)への経口投与による感染性の確認による生死判別法の3法によった。この実験に先立って、排出直後の糞の中の *T. muris* 偽嚢子の生死を、トリパンブルー染色法により調べた。その結果、その死滅率は糞により5%前後から60%に達するものまであり、極めて大きなばらつきのあることを知った。従って生残率をトリパンブルーに法により定量的に扱うことは意味がなく、当面定性的な検討にとどめることとした。

乾燥下に保存した場合には、18℃及び37℃のいずれの温度でも、実験開始1日後にはすでに生きた偽嚢子は検出されなかった。4℃での生存日数は、前記温度のいずれよりも延びるが、3—4日目以降では生きた偽嚢子は観察されなかった。

湿潤下保存の場合には、生存日数は、乾燥下の場合に比べて全般にいずれの温度においても延長した。また低温下では高温下に比べ、生存日数がより延長される傾向があった。すなわち、4℃で20日前後、18℃で1週間前後、また37℃で1—2日であった。

なお上記の観察期間中、いずれの条件下でも嚢子の出現は認めなかった。

以上の結果をまとめると、Selyukaite (1977) が報告したような、糞とともに排出された *T. muris* の偽嚢子の嚢子化は観察されず、また排出後の偽嚢子の生残性は、彼女の主張するほど長いものではなく、室温で感染性が維持されるのはよくてもせいぜい7日間であった。これらの事実から、Selyukaite の主張するような伝播の主役が嚢子であるという考えは受け入れ難く、演者らは目下、*T. muris* の主要感染ルートは、糞排出後早期に偽嚢子を糞とともに摂取する、いわゆる糞食によるものと考えている。彼女のデータとの食い違いについては現在明らかではない。今後さらに検討したい。

質問 佐伯 英治(日獣大)

1. 人工消化液の感作条件(温度・時間など)についてお教え下さい。また偽嚢子の運動性の再現性について、お教え下さい。

2. *Pentatrachomonas* の偽嚢子というものを観察されたことがありますでしょうか。

回答

1. 偽嚢子を人工消化液に入れ、37℃で1時間静置した後には観察を行ないました。排出直後の偽嚢子は人工消化液中でしばらくして移行型となり運動を開始し、1時間後には栄養体になるものが出現してきます。

保存日数が長くなるにつれて栄養体になる時間は延びますので、その場合は移行型の運動性により生死の判定を行ないました。

2. *Pentatrachomonas* の偽嚢子を観察したことはありません。

質問 角田 清(家衛試)

Pseudocyst は本原虫の life cycle の1部として periorical に排泄されるものですか。

回答

Tritrichomonas muris の栄養体は宿主の盲腸内容とともに結腸へ運ばれますが、糞の形成に伴い、栄養体は移行型を経て偽嚢子となります。正常な宿主から排出された糞中から栄養体を見出したことはございません。

19. *Tritrichomonas muris* の細胞化学的研究

小山 力, 黒木 俊郎, 菊地 浩真 (国立予防衛生研究所寄生虫部)

Cytochemical studies on Tritrichomonas muris

Tsutomu Koyama, Toshiro Kuroki, and Hiromi Kikuchi
(Department of Parasitology National Institute of Health)

Tritrichomonas muris の生活史について不明な点を明らかにするための研究を続けており, 第14回および第15回本大会において, すくなくとも宿主体内において見出される原虫体 stage に関する限り, 嚢子を発見しえなかったことを報告してきた. しかしながら, Selyukaite (1977) は, ラットの *Trichomonas muris* (恐らく *Tritrichomonas muris* であろう) で, 栄養体, 偽嚢子を認めるとともに, さらに後者は, 外界で2~4週後嚢子に変化し, その嚢子は外界諸要因に対してかなり抵抗性の強いことを報じた. 一方, 本大会演題18番において述べたように, 著者らの研究結果では, 偽嚢子の外界での生残性は極めて低く, しかも保存中に嚢子壁の形成される形跡も認めなかった. そこで, 演者らは, さらにこの問題を細胞化学的にも追究することを考え, とりあえず宿主体内での各 stage, 即ち, 栄養体, 偽嚢子および移行期原虫などにおける光顕レベルでの物質の証明並びに嚢子形成の証拠獲得を目的として検討を行った.

〔材料と方法〕

栄養体のためには盲腸の, また移行期原虫のためには結腸上部の, さらに偽嚢子のためには同下部のそれぞれ内容をスライドガラス上に塗抹し, 各種固定液で固定後, 細胞化学的染色を施し, 各 stage 原虫体につき, 体表, 核, axostyle, Costa, 鞭毛, 細胞質, 細胞質内顆粒などの各部位毎の一般的な物質の検索を試みた.

〔成績と考察〕

1. 脂質, 中性脂質や磷脂質はほとんど検出されなかったが, Sudan black B 染色および Nile blue 染色で, 細胞質内に時に顆粒状に染着する物質が存在した. Wantland et al. (1962) が, *Trichomonas tenax* で, 細胞質内に脂質を顆粒状態で認めているが, これとの異同は不明である.

2. 核酸 Pyronin-methylgreen 染色および Feulgen 反応によって, 核に DNA が, また細胞質および細胞質内顆粒に RNA が型通りに証明され, 特に目新しいものはなかった. Malyszko (1975) が, *Trichomonas*

vaginalis で, 核のほかに blepharoplast にも DNA を認めているが, 本研究では確認できなかった.

3. 多糖類, 細胞質および細胞質内顆粒に, PAS 反応陽性で amylase や diastase で消去される glycogen 様の多糖類が存在したが, 消去されないタイプの多糖類も存在した. また, axostyle にも同反応強陽性の多糖類が存在した. axostyle における多糖類については Joyon (1964) は, *Trichomonas lacertae* で, また, Selyukaite (1977) は, *Trichomonas muris* で同様に存在を認めている.

4. 蛋白質 使用した Mercury-bromphenol blue 染色, および Ninhydrin-Schiff 反応とともに, 一般的な蛋白質をほぼ全面的に染め出す点で類似し, 核, costa, 鞭毛, 細胞質, 細胞質内顆粒などがすべて陽性反応を示した. costa に蛋白質の存在することは, Goodwin & Samuels (1972) も, *Tritrichomonas augusta*, *T. foetus*, *T. suis* などで証明している. trichomonad では, 一般に, 専ら costa には蛋白質が, また axostyle には多糖類が豊富に含有されているようで, これらの構造体にこのような物質が存在するという事は, その機能との関連で興味深い.

問題の原虫体表面には, 特別な物質の存在も, また嚢子壁形成を思わせるような形跡も認められなかった. 以上の成績は, 今まで明らかにしてきた宿主体内での各 stage 原虫体のほかに, 嚢子の存在する証拠は見当たらないとする演者らの見解を改めて支持するものである. 今後はさらに, 同じ物質的な検討を, 宿主体外に保存した原虫体上にも適用する予定である.

質問 角田 清 (家衛試)

トリコモナス体内の PAS 陽性物質は何ですか. geypogen ですか, amylopectin ですか.

回答

未だ良くわかりません. PAS 陽性物質があり, その中に amylase や diastase で消去されるものも存在するということがわかったところです.

20. *Trichomonas foetus*-ribosome 刺激マウスの免疫応答におよぼす Freund's complete adjuvant と dextran sulfate 500 の効果

林 弘三, 岡 好万 (徳島大学教育学部保健科学教室)

Effects of Freund's complete adjuvant and dextran sulfate 500 on immune responses in mice immunized with Trichomonas foetus ribosomes

Hiroshi Hayashi and Yoshikazu Oka (Department of Health Science, Faculty of Education, The University of Tokushima, Tokushima)

Trichomonas foetus (Tf) の実験的感染症に対するマウスの特異的抵抗性は、原虫に直接傷害作用を示すリンパ球及び活性化マクロファージ (Mφ) の働きに依存している。この種の防御活性を宿主に誘導するには、Tf-ribosome (Tf-R) 上にある抗原決定基が不可欠である。しかしながら、Tf-R の抗原性を宿主に認識させるためには、完全 adjuvant の同時投与が必要であり、Tf-R 単独投与は、防御能増強に結びつかない。そこで今回は、Freund's complete adjuvant (FCA) 添加、あるいは食食性 Mφ の機能傷害剤 (dextran sulfate 500; DS) の前処置が免疫応答に与える効果を観察し、宿主の抗原認識について若干検討を加えた。

35日齢の ddY 雌マウスを、遠心分画法によって得た Tf-R 1mg で免疫した。更に、2週後一部のマウスに二次免疫 (Tf-R 1mg) を施し、一次及び二次免疫後2週目に下記項目について免疫応答を観察した。すなわち、Tf 4×10^7 個生虫感染後の生存率から特異的防御能を、foot pad に $50 \mu\text{g}$ Tf-R を注射後4, 24及び48時間後に即時型及び遅延型の過敏反応を、及び血清中の凝集抗体価と原虫の運動能阻止活性 (IPM) の存在を観察した。

FCA 効果の観察は、一次免疫時に Tf-R 溶液と等量 (0.1ml) の FCA で、二次免疫は Tf-R 単独で投与して行った。前処置の影響は、一次及び二次免疫処置の約1時間前に、マウス当たり2mg を投与して調べた。

特異的防御能誘導の結果：(1)Tf-R のみによる1回又は2回免疫宿主は、いずれも抵抗性の増強は認められなかった。(2)一次免疫時に FCA を添加した場合には、1回免疫群において有意に高い抵抗性が出現した。しかるに2回免疫群では、抵抗性が少し低下した。(3)DS 前処置 Tf-R のみ免疫群のマウスでは、1回及び2回免疫群共に有意の防御能を誘導しなかったが、2回免疫群

でやや増強した抵抗性が認められた。(4)DS 前処置 FCA 添加 Tf-R 免疫マウスでは、1回免疫群の特異抵抗性は、DS 無処置群に較べてやや低下する傾向が見られたが、2回免疫群ではむしろ増強した防御能が認められた。

即時型及び遅延型過敏反応：(1)Tf-R のみ投与マウスでは、1回免疫で弱い即時型反応は見られたが、他の即時型及び遅延型反応は、対照群との間に有意差はなかった。(2)FCA 添加 Tf-R 免疫群では、1回及び2回免疫群共に即時型の反応が少し現れたが、遅延型の反応は認められなかった。(3)DS 前処置 Tf-R のみ免疫群では、2回免疫群で4及び24時間の反応がわずかに見られる傾向を示した。(4)DS 前処置 FCA 添加 Tf-R 免疫群では、いずれのマウスにも、対照群と比較して有意な反応は見られなかった。

凝集抗体価及び原虫運動阻止活性 (IPM)：(1)Tf-R のみ免疫群では、抗体産生も IPM も観察されなかった。(2)FCA 添加 Tf-R 免疫群では、1回免疫で認められた抗体価と IPM が、2回免疫では、IPM は更に強化したが、抗体価は低下の傾向を示した。(3)DS 前処置 Tf-R のみ免疫群では、1回免疫の場合、抗体も IPM も証明できなかったが、2回免疫後は両者共に強く出現した。(4)DS 前処置 FCA 添加 Tf-R 免疫群では、凝集抗体は、2回免疫後のみ出現し、IPM は、1回及び2回免疫後共に認められた。しかしながら、IPM は、対照の DS-前処置 FCA 投与群でも出現した。

以上の結果、Tf-R の抗原決定基を認識した防御能力の獲得には、FCA 添加が必須であるが、DS 前処置によって、FCA なしでもわずかの防御能が出現したこと及び FCA 添加2回免疫群での DS 前処置が強い防御能を誘導したことから、免疫感作時の Mφ の関与を modify することが、防御免疫能誘導に影響を与えているように

思われる。また、DS 前処置は、FCA 添加の有無に関係なく、一次免疫後の応答を低下させるが、二次応答では foot pad reaction を除いて、いずれの反応も増強する傾向を導くことから、初回免疫時の Tf-R の抗原性の memory を誘導しているものと思われる。

IPM の出現については、DS 前処置 FCA 投与のみのマウスでも出現することから、Tf-R に対する特異性は今の段階では論じ難いが、凝集抗体の出現とは拮抗的に現れる傾向にあることから、マウスの特異的防御能獲得機序の分析に役立つ反応と考えている。

質問 渡辺 良雄 (筑波大・生物科学)

免疫が成立する、しない時の Killer T-cell の活性などをはかられておりますか？

回答

in vitro の Killer 活性は測定していませんが、*in vivo* の観察で *T. foefus* に傷害作用を持つ免疫リンパ球の存在を認めています。更に、免疫動物の防御能を調べる際に Mφ に機能傷害をます DS 500 を投与しても防御能力が存在することから、原虫に直接傷害作用を示す細胞が腹腔滲出細胞中にあるように思います。

21. 螢光色素 Hoechst 33258 を使用した *Trypanosoma cruzi* および *Trypanosoma gambiense* の K-DNA 並びに N-DNA の *in situ* microfluorometry の試み

猪 木 正 三 (奈良県立医科大学寄生虫学教室)

尾 崎 文 雄 (高知医科大学)

古 谷 正 人 (徳島大学医学部寄生虫学教室)

Preliminary study on in situ microfluorometry of K-DNA and N-DNA in Trypanosoma cruzi and Trypanosoma gambiense by using a fluorescent dye, Hoechst 33258

Shozo Inoki (Department of Parasitology, Nara Medical University, Kashihara, Nara-ken)

Humio Osaki (Kochi Medical School, Nankoku, Kochi-ken)

Masato Furuya (Department of Parasitology, Faculty of Medicine, University of Tokushima, Tokushima)

DNA の塩基対 A-T (アデニン・チミン) に特異的に結合する螢光色素 Hoechst 33258 (bisbenzimidazole) は、核酸の塩基対間に intercalate する螢光色素 ethidium bromide と全く性質を異にしている。従って、演者らが進めている *Trypanosoma* の K-DNA および N-DNA の *in situ* microfluorometry に関する研究に本色素を利用する目的で、*Trypanosoma cruzi* (Trahuen strain) および *Trypanosoma gambiense* (Wellcome strain) の血流型 (trypomastigote) を用いて予備実験を行った。

まず、感染マウス血液から Lanham 法または分画遠心法によって比較的純粋に集めた原虫細胞をいわゆる Half-dry 法 (原生動物誌, 15巻, 1号, 17頁, 1982年

参照) に従って処理し、その標本を 1 mM Tris-buffer (pH7.2) で 1 μg/ml の濃度に稀釈した Hoechst 33258 液をもつて 10 分間染色した。螢光測光は猪木らの報告 (Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A 250: 182, 1981) に準拠して行ったが、ただ励起光の強度を 1/10 に弱める必要があった。本実験では RNase 処理は不要である。なお、本色素の稀釈に食塩水を使用すると沈殿が起こり、また色素の濃度を少し高くして 2 μg/ml にすると螢光の減弱が強く現われ、正しい測光値が得られないことを経験したので、種々改良の結果上記のような測定法に到達し、それを使って Hoechst 33258 色素による実験が可能になったと思っている。

22. *Trypanosoma cruzi* の K-DNA および N-DNA の *in situ* microfluorometry —抗シャーガス病剤 Ro 7-1501 (Radanil®) 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 (高知医科大学)

古谷 正人 (徳島大学医学部寄生虫学教室)

In situ microfluorometry of K-DNA and N-DNA in Trypanosoma cruzi —Effect of Ro 7-1501 (Radanil®), anti-Chagas disease drug—

Shozo Inoki (Department of Parasitology, Nara Medical University, Kashihara, Nara-ken)

Humio Osaki (Kochi Medical School, Nankoku, Kochi-Ken)

Masato Furuya (Department of Parasitology, Faculty of Medicine, University of Tokushima, Tokushima)

1980年、演者らは、核酸の base pair 間に intercalate する蛍光色素 ethidium bromide と感度の高い Photon Counter for Cell Fluorescence (Yamada and Shono) を使用して、1個の *Trypanosoma cruzi* (Turahuen strain) に含まれる極めて微量の K-DNA および N-DNA を原虫細胞内にあるままの状態で顕微蛍光測光することに成功し (原生動物誌, 13巻, 33頁, 1980年), その後、更に標本作製法に改良を加え、比較的安定な測定値が得られるいわゆる Half-dry 法を導入して *Trypanosoma cruzi* の K-DNA および N-DNA に対する抗シャーガス病剤 nifurtimox (Lampit®) の影響を検討し、その成果を昨年の本学会に報告した (原生動物誌, 15巻, 17頁, 1982年)。

今回は、この確立された方法に従って、イミダゾール系新シャーガス病剤 Ro 7-1501 (Radanil®) の両核酸に及ぼす影響を観察したところ、nifurtimox 同様、薬剤投与後4時間目および6時間目の測定値はいずれも減少を示さなかった。ただ、DNA 値は6時間目には2倍に増量していたことが注目された。

この現象は本薬剤によって原虫の宿主細胞内への侵入が阻害され、分裂不可能な血流型 (trypomastigote) 原虫が血管内に残留し、虫体の DNA のみが倍加した結果ではないかと思っている。今後、一旦薬剤によって障害された DNA の repair の問題も考慮して、薬剤投与直後および投与後更に早い時期に測定を行ってみることを計画している。

23. *Trypanosoma gambiense* micronemata の発現と条件

伊藤 義博, 長沢 秀行, 岡 三希生, 古谷 正人 (徳島大学医学部寄生虫学教室)

Conditions of micronemata formation of Trypanosoma gambiense

Yoshihiro Ito, Hideyuki Nagasawa, Mikio Oka, Masato Furuya

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

血流型トリパノソーマ原虫を磷酸緩衝食塩液のような生理的溶液に移すと原虫細胞に付随して糸状構造物が出現する。この構造物は filopodia (Kudo, 1966), filopodium-like processes (Wright *et al.*) と呼ばれたが、そ

の後 Paulin (1979) により micronemata と呼称されたのでこの名を使用することにした。micronemata (M) は本原虫特有の surface coat を有し、その抗原性は由来する原虫細胞のそれと同じであることが Vickerman

(1969)により証明された。また、先にわれわれは DEAE カラムで分離した *T. gambiense* (血流型) に多くの M を認め、表層と内層からなり、表層は細胞構造上膜の構造であり、由来する原虫膜ときわめて共通する性質の表層であることを認めた (Ito *et al.*, 1981)。しかし、多くの研究者がその発生に注目し、*in vitro* のみならず *in vivo* で形成した場合の宿主に対する影響にまで予測したにもかかわらず、原虫自身の産生によるか、人工産物かは未だ意見の一致を見ない。そこで M 形成の機序と宿主に対する影響を調べる基礎実験として、発現のための溶液の条件を求めた。

T. gambiense 感染マウス (雌, 25 ± 2 g, ddY) の尾端よりパスツールピペットで採血し、所定の溶液中に入れ、20分のインキュベーション後、等量の 2.5% グルタルアルデヒドで反応を止め、その遠心沈渣をポリリジン処理の約 1 cm 角のガラススライド上に固着させ、金蒸着後走査型電子顕微鏡で観察した。各溶液と形成の関係は、走査電顕下で 50~100 の原虫を調べ、その中の M を所有する原虫の 100 分率で求めた。溶液は 1% glucose 加磷酸緩衝食塩液 (PBSG), medium 199 (Hanks' balance salts), 子牛血清, 正常マウス血清の 4 種について試験した。その結果、どの溶液中においてもこの条件 ($22 \pm 2^\circ\text{C}$, 20min) では約 50% の原虫が M を所有し、各溶液相互の間で M 所有率の明らかな差 ($p < 0.05$) は見られなかった。次に M 形成を経時的に PBSG と正常マウス血清で調べた。その結果、測定 of 最短時間 3 分の反応で両液中の原虫が M を形成し 15 分から 30 分までは、いずれも約 50% の原虫が M を所有し、経時的にも両液の M 形成に対する差異は見られなかった。また PBSG に 1

mM EGTA, 1 mM Ouabain 及び 1 mM Colchicine を加えて同様の条件で比較したが、いずれも無添加の場合と差異を認めなかった。

一方、走査電顕下の形態観察で、M の長さを経時的に比較すると、30 分反応までは時間の経過と共に長くなる傾向にあった。しかし、溶液による大きな差異は認められず、この所見は透過型電顕による切片の観察でも同様のことが見られ、形態的变化は無いものと考えられた。

別に宿主内における抗体応答と M 形成の関係を調べるため 10% の抗血清 (1:250) の存在下 (in PBSG) で前と同じ条件で試験した。その結果、多くの原虫は凝集しその中心に M が存在した。遊離の原虫 (非凝集) の M 所有率は 10% 程度と低かったが凝集の中心に M が多数見られたことより考えて、抗体と反応したほとんどの原虫は M を形成し凝集した、と考えられ M の強い粘着性 (Wright *et al.*, 1970) から凝集反応と関係深いと思われた。

今回の実験で、数種の異なる溶液で処理しても、共に M を形成し相互の差異を見なかったことは、M の形成が溶液の性質に依存しないことを示唆している。むしろ、水素イオン濃度や温度条件等の基礎的とも言ふべき条件設定をあらためて検討する必要があると考えられた。

質問 丸山 正 (都立大・生物)

micronemata はリポソームの一種と考えられますでしょうか。

回答

micronemata が原虫細胞膜に由来しており管状ですので liposome (通常球状と思いますが) との共通点は形態からは考えられず、人工産物という見地からですと否定できません。

24. トキソプラズマ原虫の自動運動の誘導

遠藤 卓郎, 朝日 博子 (国立予防衛生研究所寄生虫部)

石山 治 (日本獣医畜産大学寄生虫学)

Studies on the motility of Toxoplasma trophozoite

Takuro Endo, Hiroko Asahi (Dept. of Parasitol. National Institute of Health, Tokyo)

Osmu Ishiyama (Dept. of Parasitol. Nippon Veterinary and zootechnical College, Tokyo)

Toxoplasma gondii は代表的な細胞内寄生性原虫であり、マクロファージなどを好適な宿主細胞としている。このため異物に対する生体の防御機構を解明する上

で重要な研究対象となっている。本原虫が個々の運動性を有していることはよく知られるところであるが、これに関し宿主細胞との相互作用のなかで興味ある現象が観

察される。すなわち、トキソプラズマ原虫は寄生に先立ち宿主となるべき細胞の表面に接着するが、これを期にその後分裂増殖を終えるまでの間、全く運動性を示さなくなる。このトキソプラズマ原虫は一旦分裂を終了すると突然運動を再開し、速かに遊出しはじめる。一方、分裂途中の原虫もその運動性を機能的に失っているわけではなくたとえば Ca^{2+} -ionophore, A23187, などの処理により容易に運動性を回復し、宿主細胞から遊出させることができる。これらのことをふまえ、我々は本原虫の運動の制御機構を検討しているが、トキソプラズマ原虫が外液の pH の変動に非常に敏感であることを見出した。

実験に用いた生理的塩類溶液は以下のような組成である (mM): NaCl, 109.5; KCl, 5.4; CaCl_2 , 1.8; MgSO_4 , 1.0; NaH_2PO_4 , 1.0; glucose, 5.6; HEPES, 10.0. さらにこの液に牛血清アルブミンを 3.5mg/ml となるように加えトキソプラズマを浮遊させた。用いた液の pH は 8.0 から 6.6 までで、その間を数段階に分けて調整した。トキソプラズマ原虫の運動はノマルスキー型微分干涉顕微鏡を用いて観察した。厚さ 80 μm 程度のガラスチャンパーにトキソプラズマ浮遊液を入れ、顕微鏡下でさらに pH の異なる液を加え刺激し、その後の原虫の運動の様子を観察した。観察中は 37°C とした。

トキソプラズマ原虫は pH の変動に非常に敏感でおよ

そ 0.1 程度の pH の低下が刺激となり静止状態から突然運動を始め、その運動は 4 分程度続いた。その後動きは次第に鈍り、やがて静止状態にもどった。この静止状態にもどった原虫に、さらに低い pH 液を作用させると再度運動を励起することができた。このことは刺激に対する慣れの現象のあることを示すものと思われる。また運動中の原虫に低い pH の液を作用させてもそれ以上の運動を励起するような刺激とはならなかった。一方、液の pH を上昇させた場合は、静止状態の原虫の運動は起きなかった。逆に pH の上昇は運動中のトキソプラズマを停止させた。pH の上昇に対しても慣れの現象がみられた。すなわち静止状態の原虫は外液の pH の上昇に対しては運動を起こすことはないが、pH を上げてから数分後に実験開始時の pH との中間値にまで pH を低下させるとこれを刺激として感知し運動を開始する。

トキソプラズマ原虫の運動は刺激に対し応答としてみられるが、その行動様式から、pH の差 (水素イオン濃度差) に対する走化性を有するとは考えられない。また、ある至適 pH 範囲があり、その範囲に入ると運動性を示すと云うこともなかった。今回の結果からトキソプラズマは外液の pH により運動・停止がコントロールされ得ることが明らかとなった。今後この機構が寄生現象とどのように結びつくのかさらに検討したいと考える。

25. CSP-II (Obioactin) の抗トキソプラズマ作用について

出雲 章久, F.M. Espinas, 鈴木 直義 (帯広畜産大学家畜生理学教室)

Effect of CSP-II (Obioactin) on Toxoplasma.

Akihisa Izumo, Fem M. Espinas, Naoyoshi Suzuki

(Department of Veterinary Physiology, Obihiro University of Agriculture & Veterinary Medicine)

Obioactin—Toxoplasma (以下Tp) 高度免疫牛血清加水分解物質一は、各種培養細胞内の原虫・細菌・ウイルスに対して増殖抑制効果を持つが、その作用は不明である。そこでその原虫増殖抑制効果が、A) 虫体への直接作用、B) 細胞への賦活作用、のいずれによるものかを Tp を用いて検討した。

1) Tp 虫体は、0%, 0.5%, 1%, 2%, Obioactin 含有 P. B. S. TC-199 培養液 (以下 TC-199)、或は 10% 熱非働化仔牛血清添加 TC-199 (以下 TC-199-10% CS) で、30分・1時間・2時間・4時間の各時間培養された。0.2% トリパンブルー色素排除試験によって求めら

れた虫体の生存率は、すべてのグループに差を認めず、Obioactin の直接的な殺原虫作用はないものと思われる。

2) Obioactin 添加培養をうけた Tp の、細胞への穿入性、穿入後の分裂速度、そして 24・48 時間後の増殖性が検討された。すなわち、0% と 0.5% Obioactin 含有 TC-199 と TC-199-10% CS で 2 時間培養された Tp 虫体が、*in vitro* におけるマウス腹腔マクロファージ (以下 M ϕ) 及びマウス腎臓初代培養細胞 (以下 MKC) monolayer への感染に用いられた。感染 1 時間後、遊離の虫体は洗浄除去され、両細胞 monolayer は TC-199

-10%CS で培養された。

感染終了時の細胞への侵入率は、MKC 及び Mφ の双方とも、CS の有無にかかわらず、Obioactin 添加と非添加処置の間に差を認めなかった。従って Obioactin は Tp の細胞内穿入、あるいは Mφ への易貪食性に影響を与えないものと思われた。Obioactin 添加と非添加処置 Tp の細胞への侵入後の分裂速度は、Mφ 及び MKC の双方に於て、CS の有無にかかわらず、ほぼ同一の誘導期 (5-6 時間) と世代時間 (6-7 時間) を示した。一方、感染後 24・48 時間で固定染色された Mφ 及び MKC が、含有虫体数 0 個・1-5 個・6 個以上の 3 群に分けられ、その百分率が求められた。両細胞内 Tp の増殖性は、CS の有無にかかわらず、Obioactin 添加と非添加処置の間に差を認めなかった。従って Obioactin は細胞侵入後の Tp の分裂速度及び増殖性に影響を与えないものと思われた。

3) 0%と0.5% Obioactin 含有 TC-199-10%CS で 2 時間培養された虫体が、Mφ と MKC への感染に用いられ、感染 1 時間後、遊離の虫体は洗浄除去された。その後感染細胞は、虫体処置に用いたものと同一培養液で 48 時間培養され、虫体の増殖性が検討された。感染後 48 時間における 1 個以上の虫体を含有した感染細胞の割合は、Mφ の Obioactin 添加及び非添加処置群では、それぞれ 3% 及び 66% を示した。また MKC の添加及び非添加処置群では 30% 及び 41% を示し、Tp 増殖抑制効果が認められた。

4) 無処置の Tp が Mφ と MKC への感染に用いられ、感染 1 時間後に遊離の虫体が洗浄除去された。その後感染細胞は 0% と 0.5% Obioactin 含有 TC-199-10% CS で 48 時間培養され、虫体の増殖性が検討された。含有虫体数 6 個以上の細胞の割合は、Obioactin 添加処置群と非添加処置群で、Mφ の 24 時間後にそれぞれ 3% と 19%・48 時間後に 8% と 28% を、そして MKC の 24 時間後にそれぞれ 5% と 28%・48 時間後に 4% と 37% を示し、共に Tp 増殖抑制効果が認められた。

5) 0%と0.5% Obioactin 含有 TC-199-10%CS で 36 時間培養された Mφ に、無処置の Tp 虫体が接種され、

1 時間後遊離の虫体が洗浄除去された。その後感染細胞は TC-199-10%CS で培養され、感染終了時から 12 時間毎に固定染色されて虫体の増殖性の検討に用いられた。感染後 0 時間での含有虫体数 1 個以上の感染細胞の割合は、Obioactin 添加処置群 (27%) が非添加処置群 (10%) の 2.5 倍値を示した。しかし、12 時間後にその割合は約 1/2 に減少して非添加処置群とほぼ同じ値 (14%) を示し、24 時間後には、添加処置群 (14%) は非添加処置群 (21%) よりも低い値を示した。その後、Obioactin 非添加処置群では感染細胞の著しい増加と細胞破壊が観察された。(36 時間で 78%・48 時間で細胞脱落) 一方、添加処置群における感染細胞の増加は、軽度ながら遅延する傾向が認められた。(36 時間で 50%・48 時間で 80%) しかし 60 時間後には大部分の Mφ が Tp 虫体増殖によって破壊され脱落した。

Obioactin 添加培養による Mφ の異物貪食性亢進の有無を 検討するために、同様な 36 時間の前処置を受けた Mφ にマウス赤血球が投与された。投与後 1 時間での赤血球含有細胞の割合は、Obioactin 添加及び非添加処置群で、それぞれ 20% 及び 10% であった。このことから、Obioactin 添加処置 Mφ における 0 時間の感染率は Mφ の貪食能の亢進によるものと考えられた。そして 24 時間までの感染率の減少は、Mφ の殺原虫作用と消化能力の亢進によるものと推察された。

以上を要約すると、1) と 2) の結果で、細胞外遊離の Tp に対する Obioactin 添加培養は細胞内 Tp 増殖を抑制しなかった。しかし 3)・4)・5) で、Tp 感染後あるいは感染前の細胞に対する Obioactin 添加培養は Tp 増殖抑制効果を示した。特に Mφ に対しては、Obioactin が、その貪食及び殺原虫能力を亢進するものと思われた。以上のことから、Obioactin の Tp 増殖抑制作用は、主として細胞への賦活作用によるものと推察された。しかしながら、Tp 増殖抑制効果は Mφ のみならず、体細胞である MKC に於ても同様に認められたので、Obioactin の細胞賦活作用の機構が、今後さらに究明されるべきであろうと思われた。

26. 熱帯熱マラリア原虫の cyclic AMP による生殖母体形成に対する電子顕微鏡的観察

小野 忠相, 中林 敏夫 (大阪大学微生物病研究所原虫学部門)

Kenton J. Kramer, Wasim A. Siddiqui (ハワイ大学医学部熱帯医学教室)

Electron microscopic observations on the gametocytogenesis of Plasmodium falciparum induced by cyclic AMP.

Tadasuke Ono, Toshio Nakabayashi (Department of Protozoology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University Yamada-oka, Suita Osaka)

Kenton J. Kramer and Wasim A. Siddiqui (Department of Tropical Medicine and Medical Microbiology, School of Medicine, University of Hawaii, Honolulu, Hawaii)

熱帯熱マラリア原虫の生殖母体の形成はその率が低く、また内臓血管中で行われるため、形成過程の形態的観察は従来ほとんど行われていなかった。1980年 Kauschal et al. は *in vitro* で培養した熱帯熱マラリア原虫の培地中に cyclic AMP を加えることによって高率に生殖母体が形成されることを見出した。この研究では彼等の方法を用いて生殖母体の誘発を試み、cyclic AMP の効果、生殖母体が形成される過程を電顕的に調べた。

熱帯熱マラリア原虫は患者から分離後、赤血球と人血清をそれぞれ10%の割合で含む RPMI 1640培地を用いて約18ヶ月間、*in vitro* で培養した *Plasmodium falciparum* FCH-1 株を用いた。この株の原虫は実験に使用した時にはすでに knob の形成がみられなかった。原虫を新しい培地に移してから4日後、原虫寄生赤血球が全赤血球の約15%に達した時、cyclic AMP を最終濃度 1mM/ml の割合で培地に加えた。24時間後、cyclic AMP を含む培養液をとり除き、新しい培養液を加えた。以後、培養液を毎日、新しいものと交換し、9日後および14日後に標本をとって電顕観察に供した。固定はグルタルアルデヒド、オスミウム酸による2重固定によって行い、エタノール系列による脱水後、Spurr (1969) の方法を用いて包埋した。超薄切片は酢酸ウラニールおよび Reynold の硝酸鉛によって染色した。

電顕観察の結果、cyclic AMP によって処理された原虫感染赤血球の細胞質内に2種類の膜状構造物が出現することがわかった。この中の1つは multilaminate stru-

cture (Sinden et al., 1978) であり、これは multilaminate whorl と multilaminate capsule とから成っている。もう1つは今まで報告されていない capsule であり、我々はこれを multistrandlayered-like membranous structure と仮称するが、この機能は未だ明らかでない。multilaminate capsule は虫体の近くにわずかに現われ、次第に大きくなると共に虫体を包む parasitophorous vacuole membrane の外側をとりまくように伸展する。その後、原虫の内側の原形質膜および pellicular microtubulus が形成され、生殖母体が成熟してくると parasitophorous vacuole membrane の近くを離れる。multilaminate structure は赤血球膜およびこれに由来する parasitophorous vacuole membrane に膜の構造が似ている。multilaminate structure はすでに Sinden et al. (1978) によって見出されているが、cyclic AMP はこれを誘出させるように思われる。

質問 遠藤 卓郎 (予研・寄生虫)

多層膜様構造が見られるわけですが、その origin は何でしょうか。またすべてのガメートサイトに同様の構造が見られるのでしょうか。

回答

parasitophorous vacuole membrane, 赤血球膜, 赤血球膜成分よりの合成, などが考えられますが、現在の所、断定的なことを申し上げるデータがありません。すべての生殖母体にみられるものではありません。

27. *Babesia rodhaini* に対する実験小動物の感受性について

韓 相燮, 佐伯 英治, 石井 俊雄 (日本獣医畜産大学寄生虫学教室)

Susceptibility of small laboratory animals to Babesia rodhaini infections.

Sang Seop Han, Hideharu Saeki and Toshio Ishii

(Department of Parasitology, Nippon Veterinary and Zootechnical College, Tokyo.)

B. rodhaini はアフリカの tree rat (*Thamnomys surdaster surdaster*) の赤血球から分離されて以来、実験室内で研究あるいは教育を目的としてマウスで継代されてきている原虫である。マウスの他にコットンラットとハムスターなどにも感受性のあることは知られているが、詳細は明らかでない。

そこで、著者らはまず、目的を異にする実験に適合する実験動物を選択すべく、*B. rodhaini* に対する7種類の実験小動物の感受性を比較し、次いでマウスにおいては週齢および性に関し、さらにラットについては摘脾の感受性に及ぼす影響に関して検討した。

用いた *B. rodhaini* は農林水産省家畜衛生試験場より分与された豪州株である。

実験方法は次に述べる通りである。すなわち、各供試動物の腹腔内に感染マウス血液、すなわち、原虫寄生赤血球（以下PE）の所定量を接種し、接種後、経口的に末梢血液塗抹標本を作り、常法によりギムザ染色を施し、寄生赤血球を確認した。陰性の検体については50視野（赤血球数として約20,000個）を鏡検して判定した。また、最も顕著に現われる臨床症状としての血色素尿を毎日観察した。

(1)*B. rodhaini* に対する実験小動物の感受性について…供試動物はマウス (dd系, ICR, BALB/c/nu/nu), ゴールデンハムスター, スナネズミ, ラット (SD), ハタネズミ, モルモット (Hartley), のいずれも6~7週齢の雌であり、さらに10日齢の雌ウサギをも供試して、*B. rodhaini* に対する感受性について比較検討した結果、次の4つのグループに分けられると考えられた。すなわち、第1グループはマウス (dd系, ICR, ヌード) で最

も感受性が高く、1頭当り $1.5\sim 2.4\times 10^4$ PE 接種で全頭が急性感染をおこし斃死した。第2グループはハムスター, スナネズミ, ラットが属し、1頭当り $1.5\sim 2.4\times 10^9$ PE 接種で全頭に寄生赤血球, 血色素尿が認められ、かつ、斃死するものがある一方、耐過するものも認められた。第3グループはハタネズミで、1頭当り $1.5\sim 2.4\times 10^9$ PE 接種により寄生赤血球の末梢への出現のみが認められるに止まった。第4グループはモルモットおよびウサギで感受性は全く認められなかった。

(2)マウスの週齢および性による感受性の差……一般に病原体の感受性は宿主の週齢と性にしばしば密接な関係があるとされている。そこで、*B. rodhaini* に関して感受性の最も高いマウス (dd系) を用いてその週齢および性による感受性の差について検討した結果、4~5週齢 (若齢期), 10~11週齢 (性成熟期) および23~24週齢 (壮齢期) での感受性の差は殆ど認められなかった。また、性成熟に達した10~11週齢のマウスの雌雄間には感受性の差は認められなかった。

(3)摘脾ラットと非摘脾ラットとの感受性の差……5週齢のSD雌ラットを摘脾し、摘脾後2週目 (生後7週齢) にPEを接種し、同週齢の非摘脾ラットを対照とし、*B. rodhaini* に対する感受性の差について検討した結果、摘脾により感受性はかなり高くなった。

以上の結果からマウスは継代や虫体の分離などを含む急性感染実験および治療、予防試験に適し、ラットは接種量により耐過するものとならないものをコントロールできることと摘脾手術が比較的容易であることなどから、免疫学的研究を含む慢性感染実験に適するものと考えられた。

第1回大会以来の開催地及び大会長

	開催地	開催年度	大会長			
第1回	小平市	昭和42年	藤田壽吉	第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	第15回	広島市	昭和56年 重中義信
第8回	東京都	昭和49年	石井圭一	第16回	東京都	昭和57年 石井俊雄

ニ ュ ー ス

1985年 ケニアにおいて開催される 第7回国際原生動物学会の 組織委員と
国際原生動物学会委員との合同会議に出席して

猪 木 正 三

国際原生動物学会は4年毎に開催されるが、その学会の間に少くとも1回、次期学会の組織委員と国際原生動物学会委員 (Members of the International Commission of Protozoology) が集って来るべき学会のプログラムなどについて討議し、それを証認する会合をもつことになっている。

今回は、本年(1983年)7月25日から29日に至る約5日間、1985年ケニアにおいて開催される第7回国際原生動物学会のための会合がケニアの首都ナイロビ市で行われ、私は国際委員会の1人として組織委員会からの招待をうけ出席しましたので、そこで決議された事項の中で重要と思われるものを拾ってここに報告致します。

まず申し上げなければならないことは、第7回原生動物学会は East African Society of Parasitology (EASP) の Protozoology Section の方々が中心となって準備を進めていますが、ケニア政府、とくに保健省 (Ministry of Health) が主となり、Ministry of Development, Science and Technology, Ministry of Livestock Development および Ministry of Agriculture も全面的に援助するといった、いわば国を挙げての学会といってもよいほどの張切りようです。会長を務める International Centre of Insect Physiology and Ecology (ICIPE) の所長の Professor Thomas R. Odhiambo も今回の会合の冒頭「このような大きな学会がケニアで開催されるのは最初のことであり光栄だ」と挨拶していました。

会期中には保健省、市庁、国連機関への儀礼訪問の外、ICIPE, International Laboratory for Research on Animal Diseases (ILRAD), Kenya Medical Research Institute (KEMRI), Kenya Trypanosomiasis Research Institute (KETRI) などの見学があり、その上、夜はパーティ攻めといった多忙な毎日でした。

今回の会合に出席した国際委員は案外少なく、下記の10名だった。

Dr. St. Dryl (Poland)
 Prof. S.L. Kazubski (Poland)
 Prof. L. Kuzunicki (Poland)
 Prof. J. Lee (U.S.A.)
 Prof. B.M. Honigberg (U.S.A.)
 Dr. B.A. Newton (U.K.)
 Prof. J.R. Nilsson (Denmark)
 Prof. R. Nobili (Italy)
 Prof. J.H. Teras (USSR)
 Prof. S. Inoki (Japan)

組織委員は次の通り発表されたが、出席者は●印を付した方々だけであった。

- President : Prof. T.R. Odhiambo (Director, ICIPE)
 Vice President (Scientific Programme): Dr. R. A. Gray (Director General, ILRAD)
 Vice President (Administration) : Dr. W. Masiga (Director, Veterinary Research
 Division, Kenya Agricultural Research Institute (KARI))
- Secretary General : Dr. H. Otieno (ICIPE)
- Assist. Secretary General : Dr. D. K. Koech Director, Clinical Research Centre,
 Nairobi
- Treasurer : Dr. A. R. Njogu (Director, Kenya Trypanosomiasis Research Institute)
- Assist. Treasurer : Dr. J. K. Omuse (Science Secretary, National Council for Science
 and Technology, Kenya)
 Editor : Dr. P. M. Tukei (Director, Virus Research Centre, Kenya Medical Research
 Institute)
 Assist. Editor : Ms Heren Van Hourten (Project Adviser, International Development
 Research Centre, Nairobi)

その他の委員

- Dr. F. Kamunvi (Director, Malaria and Other Parasitic Diseases Research Centre
 Kenya Medical Research Institute, Kisumu)
- Dr. J. Mutinga (ICIPE)
 - Miss E. A. Opiyo (KETRI)
 - Dr. T. K. Arap Siongok (Director, Division of Communicable Diseases, Ministry of
 Health, Kenya)
 - Dr. Igor Mann (Consultant, UNEP/FAO/UNDP)
 - Miss M. H. Bugembe (ICIPE)

また会期、会場、学術プログラムは次のように決定した。

会期 1985年8月24日～30日

会場 Kenyatta International Conference Centre, Nairobi

本会議場はナイロビ市の中央にある立派な建物である。

会費

It was *agreed* the Registration fees will be as follows :

(a) *Fees Received Prior to 31st January 1985*

Delegates	US\$ 100
Accompanying Persons	US\$ 40
Student Rates	US\$ 25

(b) *Late Registration*

Delegates	US\$ 125
Accompanying Persons	US\$ 50
Student Rates	US\$ 30

(c) The Congress brochure will indicate the benefits to be derived from the Registration fee payable by accompanying persons.

(d) It was proposed that the Organising Committee explore Possibilities to enable wide participation from Socialist countries whose delegates are likely to have difficulties in obtaining hard currency. One such possibility is use of UNESCO coupons.

学会プログラム

A. OPENING SESSION

1. Official Opening of the VII International Congress of Protozoology by H. E. The President of the Republic of Kenya
2. Welcome Addresses

B. PLENARY LECTURES

1. Pattern Formation and Ciliary Regeneration Ciliates :
 - (a) Dr. L. A. Hausfager (U.S.A.)
 - (b) Dr. Joseph Frankel (U.S.A.)
 - (c) Dr. Gary W. Grimes (U.S.A.)
2. Immunisation Using Antigens :
 - (a) Dr. Lysenko
 - (b) Dr. Sidney Cohen (U.K.)
 - (c) Dr. Ruth S. Nussenzweig (U.S.A.)
3. Evolution of nuclear phenomena in Protozoa
 - (a) Professor Igor B. Raikov (U.S.S.R.)
4. Environmental Management for the Control of Parasitic Protozoan Diseases
 - (a) Dr. A.O. Lucas (Switzerland)
 - (b) United Nations Environment Programme (Kenya)
5. Protozoa of the Digestive Tract of Herbivores Animals :
 - (a) Dr. R. E. Hungate (U.S.A.)
 - (b) Dr. C. Noirot-Thimothe
6. Functional Aspects of Calmodulins in Protozoa :
 - (a) Dr. Yoshinori Nozawa (Japan)
 - (b) Dr. Birgit Satir (U.S.A.)

C. SYMPOSIA

1. Mechanisms of Pathogenicity among Protozoa
 - (a) Professor B.M. Honigberg (U.S.A.)

2. Relationship between Cytoskeleton and Motility
(a) Professor Andrzej Grebecki (POLAND)
3. Fibrillar Systems in Protozoa : Structural and Phylogenetic Implications :
Co-Chairmen
(a) Dr. Denis H. Lynn (CANADA) (b) Dr. Christian F. Bardele (GERMANY)
4. Zoonoses of Protozoa :
(a) Dr. Igor Mann (KENYA)
5. African Trypanosomiasis (Chemotherapy, Pathology, Ultrastructure, Transmission)
Co-Chairmen
(a) Dr. A.R. Njogu (KENYA) (b) Dr. Poltera (SWITZERLAND)
6. Leishmaniases (New World, Reservoirs, Vaccine Development, Chemotherapy)
Co-Chairmen
(a) Dr. Mutuku J. Mutinga (b) Dr. L. Schnur (ISRAEL)
7. Antigenic Variation among Protozoa (Plasmodium)
Dr. Jerome Vandenberg (U.S.A.)
Antigenic Variation among Protozoa (Salivarian Trypanosomes, Ciliates)
Co-Chairmen
(a) Dr. R. Gray (KENYA) (b) Dr. Sally Lyman Allen (U.S.A.)
8. Nuclear Divisions and their Mechanisms
Co-Chairmen
(a) Dr. Jean Pierre Mignot (FRANCE) (b) Dr. A. Yudin (U.S.S.R.)
9. The Role of Micro and Nanozooplankton in Marine Food Webs
Co-Chairmen
(a) Mme M. Laval-Peuto (FRANCE) (b) Dr. John F. Heinbokel (U.S.A.)
10. Protozoa as Indicators of Ecosystems
Co-Chairmen
(a) Professor Hartmut Bick (WEST GERMANY) (b) Dr. John J. Lee (U.S.A.)
11. Endocytosis of and by Protozoa
Co-Chairmen
(a) Profesesor Jytte R. Nilsson (DENMARK) (b) Dr. K. Vickerman (SCOTLAND)
12. Interaction of Protozoa with Viruses and Virus-like Particles
Co-Chairmen
(a) Professor Juri H. Teras (U.S.S.R.) (b) Dr. Carl F.T. Mattern (U.S.A.)
13. Intercellular Regulators in Sexual Phenomena
Co-Chairmen
(a) Dr. Koichi Hiwatashi (JAPAN) (b) Dr. Pierangelo Luporini (ITALY)
14. Production of Inter- and Intra-Cellular Regulators in Cell
Co-Chairmen
(a) Dr. Jesse Roth (U.S.A.) (b) Professor Dr. Guenter Cleffman (WEST GER-

MANY)

15. The Trophic Dynamics and Life Histories of Larger Marine Protozoa

Co-Chairmen

(a) Dr. Roger O. Anderson (U.S.A.) (b) Dr. Rudolf Rottger (WEST GERMANY)

D. *ROUND TABLE DISCUSSION*

1. Phylogeny and Evolution of Protozoa

Dr. John O. Corliss (U.S.A.)

2. Application of New Technologies in Identification of Protozoa

Co-Chairmen

(a) Professor Bruce A. Newton (U.K.) (b) Professor Boss (NETHERLANDS)

E. *CONTRIBUTED PAPERS*

1. (a) Chemotherapy of Protozoan Infections and Pharmacokinetics of Anti-Protozoal Agents

(b) Mechanisms of Drug Action and Drug Resistance

2. Immunobiological Studies of Protozoa

3. (a) Functional Aspects of Protozoan Organelles

(b) Structure and Function of Membranes

(c) Molecular Genetics

(d) Genetics

4. Fine Structure of Protozoa

5. Systematics and Evolution of Protozoa

6. Cultivation, Nutrition, and Preservation

7. Life Cycles of Free-living Protozoa

8. Epidemiology and Transmission Patterns of Protozoal infections

9. Physiological Adaptations of Protozoa

10. Endobionts of protozoa

11. Ecology of Free-living Protozoa

12. Motility and Behaviour

13. Pathological Manifestations in Protozoal Infections

14. Protozoa of Fish

15. Protozoa as Tools for Monitoring Various Environmental Factors

16. Chagas Disease

17. Miscellaneous Topics

F. *SATELLITE CONFERENCE*

1. MALARIA

• Metabolic Pathway

• Epidemiology

• Vaccines

• Cytology

• Relapse Phenomenon

- Culture
- Strain Speciation

Co-Chairmen

(a) Sir Ian McGregor (U.K.) (b) Dr. Luzzati (ITALY)

2. Terminology, Taxonomy and Life Cycles of Coccidia (Epicomplexa)

Co-Chairmen

(a) Dr. Eric Scholtyseck (WEST GERMANY) (b) Dr. Peter Long (U.S.A.)

3. Trichomonads and Trichomoniasis

Organiser

(a) Dr. Jaroslav Kulda (CZECHOSLOVAKIA)

C. *POST CONGRESS WORKSHOPS*

(a) *Marine* :

• Dr. Gottram Uhlig (WEST GERMANY) • Dr. J. Cachon (FRANCE)

(b) *Freshwater*

• Dr. Stuarth Bamforth (U.S.A.) • Dr. Colin R. Curds (U.K.)

H. *POSTER SESSIONS*

To be organised in concert with symposia and contributed papers

I. *CLOSING PLENARY SESSION*

Cooperation in research and communication towards the solution of global problems in protozoan infections.

追記：日本からケニアまでは BA(英国航空)でシェーンフェルまで飛び、ケニア航空に乗継いで行くのが最も経済的である。大体、航空運賃は団体割引にすると往復23万円前後(現在)であるから、できる限り多数の方の参加をお勧めしたい。

第7回国際原生動物学会の詳細につきましては、猪木正三博士にお問合せ下さい。

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4,500円を前納するものとし、会の主催する各種の会合に参加し、幹事を互選し、会誌に投稿し、会誌の無料配布をうけることができる。賛助会員は本会の主旨に賛同し、会の維持発展のため1口10,000円以上を納入するものとし、会誌の無料配布をうけることができる。名誉会員は幹事会の推薦により総会において決定する。
- 第5条 本会運営のため、会長1名、幹事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、岐阜大学医学部生化学教室におく。
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16巻第1号をお届けします。原生動物学会事務局は本年1月より岐阜大学医学部生化学教室に移りましたが、本年度の学会誌は旧事務局で従来通り、編集、発行しました。

第7回国際原生動物学会準備委員会が本年7月ケニアで開かれ、猪木正三博士が国際原生動物学会委員として会議に招待、出席されました。そこで猪木博士に会議の内容と今までにきました学会プログラムを記事にいただきニュース欄に掲載しました。

本学会新事務局の運営に今後とも協力いただくと共に原生動物学会発展のため新入会員の勧誘にご尽力下さるようお願いいたします。

(小野)

原生動物学雑誌 第16巻第1号

The Japanese Journal of Protozoology Vol.16 No.1

昭和58年9月15日 印刷

昭和58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