

ISSN 0388-3752

昭和61年 6月
June 1986

原生動物学雑誌

第19巻 第1号

*the Japanese Journal
of Protozoology*
Vol. 19 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19巻第1号

目 次

第19回日本原生動物学会大会概況

講演目次

特別講演「太陽虫における細胞骨格と細胞運動」 重 中 義 信

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

藤 田 潯 吉 (会長)

石 井 圭 一 尾 崎 文 雄 小 山 力 重 中 義 信 鈴 木 直 義

鈴 木 実 高 田 季 久 中 林 敏 夫 野 沢 義 則 樋 渡 宏 一

盛 下 勇 渡 辺 良 雄

Committee of the Japan Society of Protozoology

Jinkichi Fujita (President)

Keiichi Ishii, Humio Osaki, Tsutomu Koyama, Suehisa Takada, Yoshinobu Shigenaka,
Naoyoshi Suzuki, Minoru Suzuki, Toshio Nakabayashi, Yoshinori Nozawa, Koichi Hiwatashi,
Isamu Morishita, Yoshio Watanabe

原生動物学雑誌 編集委員

野 沢 義 則 (委員長)

鈴 木 直 義 高 田 季 久 中 林 敏 夫 樋 渡 宏 一 渡 辺 良 雄

Editorial Board

Yoshinori Nozawa (Chief)

Naoyoshi Suzuki, Suehisa Takada, Toshio Nakabayashi, Koichi Hiwatashi, Yoshio Watanabe



ありし日の浅見敬三博士

故浅見敬三博士略歴

大正10年11月8日生

本籍 東京都杉並区和田1丁目40番地
現住所 東京都杉並区和田1丁目36番地29号

昭和22年9月 慶応義塾大学医学部卒業
昭和24年1月 慶応義塾大学医学部助手（寄生虫学）
昭和27年4月 慶応義塾大学医学部専任講師（寄生虫学）
昭和29年11月 三代会賞（慶応義塾大学医学部）受賞
昭和30年6月 慶応義塾大学医学部助教授（寄生虫学）
昭和32年4月 医学博士
昭和32年11月 三代会賞（慶応義塾大学医学部）受賞
昭和35年12月 米国留学
昭和36年4月 日本寄生虫学会評議員
昭和39年4月 桂田賞（寄生虫病学奨励会）受賞
昭和46年4月 日本寄生虫学会総務幹事
昭和46年4月 日本医学会評議員
昭和48年4月 慶応義塾大学医学部教授（寄生虫学）
昭和48年4月 財団法人寄生虫病学奨励会評議員
昭和50年5月 日本寄生虫予防会理事
昭和50年7月 日本熱帯医学会幹事
昭和50年10月 慶応義塾大学医学部副学部長
昭和52年10月 慶応義塾大学医学部長
昭和53年11月 第21回日本熱帯医学会会長
昭和54年4月 日本感染症学会評議員
昭和55年8月 国際協力功労者（国際協力事業団）表彰
昭和56年10月 第2回日中寄生虫病セミナー委員長
昭和57年8月 ブラジル国立ペルナムブコ大学訪問教授
昭和58年11月 紫綬褒章受章
昭和58年11月 Professor Honoris Causa 号（ブラジル国立ペルナムブコ大学）受位
昭和59年4月 第54回日本寄生虫学会会長
昭和59年10月 第18回日本原生動物学会大会長
昭和59年11月 福沢賞（慶応義塾大学）受章
昭和59年11月 第4回日中寄生虫病セミナー委員長
昭和60年11月 逝去 正五位勲三等旭日中受賞

浅見敬三先生を悼む

本学会幹事、慶応義塾大学医学部教授、浅見敬三先生は昭和60年11月22日、肝不全のため逝去されました。先生は同年1月に病を發せられてからも、入退院を繰り返しながら大学教授、学会幹事、あるいは学会長として最後まで積極的な活動を続けておられました。学者として、国際医学交流の推進役として我々にとって大きな存在であり、常にスケールの大きな視野で将来を見詰めておられ、人間的にもユーモアに溢れた暖かい人柄で周囲から慕われておりましただけに、先生の御逝去は誠に大きな損失であり、驚きと悲しみは言葉に尽くし難いものがあります。

浅見先生は大正10年11月8日現在の北朝鮮平壤市で生をうけられ、昭和16年慶応義塾大学医学部予科に入学、同22年同医学部本科を卒業、インターン終了後、昭和24年当時小泉丹教授が主宰されていた慶応義塾大学医学部寄生虫学教室に助手として入室、同27年専任講師、30年助教教授、35年米国留学を経て、昭和48年医学部教授（寄生虫学）に就任されました。この間36年にわたり、慶応義塾大学医学部に於いて医学生への教育に携わり、常に国際的観点に立脚した斬新な講義を行ない視野の広い医師の養成に尽力されました。

先生の情熱は学問研究に於いても遺憾なく發揮され、人体寄生原虫類の研究に優れた業績を残されました。なかでも浅見培地の名で知られる如く、腫トリコモナスの無菌的試験管内培養法の確立、それに引き続いた腫トリコモナス症の発症メカニズムについての研究は、我が国での以後の原虫学研究的な大きな流れを示した先駆的業績とされております。またトリコモナスのみならずアニサキス等、他種の寄生虫についての研究にも精力的にとりくまれ、特にこれらの研究分野に生化学的手法をいち早く導入され、研究の発展に大きな足跡を残されました。これらの業績に対して慶応義塾大学医学部同窓会より2回にわたり三四会賞、日本寄生虫学振興会より桂田賞、慶応義塾大学より福沢賞、及び政府より紫綬褒章が授与されております。

学会関係において先生は日本寄生虫学会総務幹事、日本原生動物学会幹事、日本熱帯医学会幹事を長期にわたって務められ、さらに日本寄生虫学会長、日本熱帯医学会長、日中寄生虫学セミナー委員長、昭和59年には日本原生動物学会大会長として重任を果たされ、寄生虫学及び原虫学研究的な発展と奨励に努力されました。また、文部省、厚生省および各種委員会あるいは審議会のメンバーとして大学設置、医師国家試験制度改善、医学教育改善、私学振興等に活躍されております。以上、先生の活躍された領域は多方面にわたりますが、特筆すべきは国際的な医学協力への貢献であります。先生は開発途上国を再々にわたり歴訪し、その医学、医療水準の発展向上に寄与されましたが、なかでもブラジル国訪問は10回以上にも及び、我が国とブ

ラジル国間の2つの大きな医学協力プロジェクトを主宰された業績は高く評価されており、この功績によって国際協力事業団より国際協力功労者表彰を受けられ、またブラジル国立ペルナムブコ大学より名誉博士号 (Professor Honoris Causa) が授与されております。

先生は慶応義塾大学医学部運営についても医学部長として率先関与されましたが、医学部新病棟の竣工およびブラジル国立ペルナムブコ大学免疫病理学センターの開設という2大事業の直前に病を得られ、逝去されたことは残念至極であります。国際的な医学協力は将来とも益々活発になると予想されているだけに先生を失ったことは惜しまれてなりません。

御逝去に際し、正五位勲三等旭日中綬章を以上の御功績によって受けられたことを御報告申し上げます、先生の生前の御偉業を称え、謹んで御冥福を御祈り申し上げます。

昭和61年3月12日

竹内 勤

日本原生動物学会大会概況

大会長 山 高 里 盛

会 場 大分医科大学
大分県大分郡挾間町医大ヶ丘1-1506

会 期 昭和60年12月1日(日)

日 程	8:55	開	会
	9:00~11:50	一 般 講 演	(1~15)
	11:50~12:40	昼	食
	12:40~13:20	総	会
	13:20~14:00	特 別 講 演	
	14:10~15:50	一 般 講 演	(16~34)
	18:00~	懇 親 会	

講演目次

特別講演

太陽虫における細胞骨格と細胞運動…………… 重中 義信 (広島大・総合科学部)

一般講演

1. 膜過性陽イオン性蛍光色素の抗マラリア効果
……………出雲 章久, 田辺 和祐, 高田 季久 (大阪市大・医・医動物)
2. 人工ルーメンによる多種類のルーメン原生動物の連続培養について
…………… 安倍 正史 (昭和大・医・医動物), 栗原 康 (東北大・理・生物)
3. メトロニダゾール低感受性を示したヒト由来 *Entamoeba coli* の微細構造について
……………浅見 敬三, 竹内 勤, 三浦左千夫, 田辺 将信,
小林 正規, 奥沢 英一, 金子 信明 (慶大・医・寄生虫),
藤原 達司 (慶大・電頭)
4. *Filipodium ozakii* HUKUI の微細構造……………星出 一巳 (山口大・教育・生物)
5. 透過電顕によって認められる *Trypanosoma evansi* の特異な分裂像
……………比留木武雄 (島根医大・免疫)
6. 樹脂割断法によるウマ大腸内繊毛虫 *Cycloposthium* spp. の SEM 観察
……………山崎 裕代, 今井 壮一, 石井 俊雄 (日獣大・寄生虫)
7. ゾウリムシの Tsb (Temperature-shock-behavioral) 突然変異体における
K⁺ 刺激の致死効果……………小森 誠, 高橋三保子 (筑波大・生物科学)
8. ゾウリムシの大核内寄生バクテリア *Holospora obtusa* の感染過程
……………藤島 政博, 永原 和三 (山口大・理・生物)
9. テトラヒメナの接合対形成に先立つ細胞形態の変化
……………三上 賢能, 藤島 政博 (山口大・理・生物)
10. 太陽虫の表層剝離と回復のメカニズム
……………重中 義信, 石亀 勝義, 石田 秀樹 (広島大・総・情報行動)
11. 太陽虫の細胞融合に伴なう形態変化
……………磯村 真美, 石田 秀樹, 重中 義信 (広島大・総・情報行動)
12. 太陽虫軸足の収縮力について…石亀 勝義, 石田 秀樹, 重中 義信 (広島大・総・情報行動)
13. 繊毛虫 *Spirostomum* の収縮と弛緩
……………石田 秀樹, 石亀 義, 重中 義信 (広島大・総合・情報行動)
14. ツリガネムシ：グリセリン処理スパスモネームの収縮性に及ぼす Mg²⁺ の影響
……………落合 勉, 長谷川健司, 浅井 博 (早大・理工・物理)
15. ナベヅル幼鳥にみられた *Hepatozoon* 様原虫……………小山 力 (国立予研・寄生虫),
清水 孜, 安田 宣紘, 河野猪三郎 (鹿児島大・農・家畜病理)

16. テトラヒメナ・リソゾーム酵素の糖鎖構造
 ……坂野 喜子, 佐々木 昇, 野沢 義則 (岐阜大・医・生化),
 谷口 隆弘, 水落 次男, 木幡 陽 (東大・医科学研)
17. テトラヒメナ・リソゾーム酵素の分泌機構
 ……佐々木 昇, 坂野 喜子, 野沢 義則 (岐阜大・医・生化)
18. テトラヒメナ形質膜のカルデュリン依存性グアニル酸シクラーゼの
 部分精製とその性質……………長尾 清治, 野沢 義則 (岐阜大・医・生化)
19. 石手川ダム湖における渦鞭毛藻 *Ceratium hirundinella* の淡水赤潮
 ……川端善一郎, 板坂 努, 金納 英俊, 香川 尚徳 (愛媛大・農・環境保全)
20. 活性汚泥棲原生動物群集の実態について……………角本 正明, 木元 朋子 (環境調査技研)
21. 繊毛虫類の分類および生態に関する研究 II.
 海洋の微生物・原生動物群集内における食物連鎖……………前田 昌調 (東大・海洋研)
22. 海浜における原生動物の動態 XII. 台湾産殻アメーバ類
 ……鈴木 實 (日大・法・生物研)
23. アメーバの遭遇行動 (II) ……堀上 英紀, 石井 圭一 (法政大・教養・生物)
24. アメーバ・プロテウスの繊毛虫捕食行動について
 ……木原 章, 石井 圭一 (法政大・教養・生物)
25. SH ブロック剤の *Didinium* の捕食に対する影響
 ……原 律雄, 浅井 博 (早大・理工・物理)
26. ゾウリムシの負の走地性……………福井 啓二, 浅井 博 (早大・理工・物理),
 香川 浩 (日医大・教養・物理)
27. 膜口類繊毛虫グラウコマ・シンチランスの逆パターンについて
 ……洲浜 幹雄 (広島大・理・動物)
28. コルヒチン処理により得られた *Euplotes woodruffi* の同極双体
 ……小阪 敏和 (広島大・理・動物)
29. 寄生性原生動物ランブル鞭毛虫の脂質組成……………金田 良雅, 合津 都世 (東海大・医・寄生虫)
30. 高速液体クロマトグラフィーによる *Trypanosoma cruzi* の
 ミトコンドリア電子伝達成分の研究
 ……北 潮, 高宮信三郎, 古島理江子, 大家 裕 (順天大・医・寄生虫)
31. 電気泳動法による *Amoeba proteus* 野外株の比較研究
 ……月井 雄二, 石井 圭一 (法政大・教養・生物)
32. *Tetrahymena cdaA1* の変異遺伝子産物の局在性
 ……大場 浩美, 渡邊 良雄 (筑波大・生物科学)
33. テトラヒメナの接合対形成促進物質の研究……………中尾 誠司, 藤島 政博 (山口大・理・生物)
34. テトラヒメナに存在する, カエル卵母細胞の減数分裂再開始誘導物質の研究
 ……崎村 雅憲, 藤島 政博 (山口大・理・生物)

特別講演

太陽虫における細胞骨格と細胞運動

重中 義信

広島大学総合科学部情報行動科学教室

Cytoskeletal elements and cell motility in Heliozoa

Yoshinobu Shigenaka

*Department of Information and Behavioral Science, Faculty of
Interated Arts and Sciences, Hiroshima University*

太陽虫は、球形の細胞体表面から放射状に多数の針状突起すなわち軸足 (axopodia) を射出し、それによって細胞接着・細胞融合・細胞運動・食物摂取など様々な細胞機能を営んでいる。軸足自体は基部の直径が数 μm 、長さが 200~300 μm という極めて細長い細胸突起物であり、その形態維持には軸系 (axoneme) と呼ばれる細胞骨格が是非共、必要となってくる。そして、逆に考えれば、このような軸系が消滅したり再形成したりすることによって、太陽虫の細胞機能が正常に遂行され、生命を維持しているともいえる。軸系自体は高感度偏光顕微鏡 (レクティファイアー) 下で正の複屈折性を示すが、これは軸系が 1,000 本近くにも達する微小管 (microtubules) の束で構成されていることを反映している。さらに、軸系の横断面を電子顕微鏡で観察すると、見事な幾何学的配列を示した二重渦巻き構造であり、しかも全体として 12 辺形の形状を示していることが判る。このような微小管配列を軸系パターン (axonemal pattern) と呼んでいるが、それは長短 2 種類の微小管連結構造によって維持されている。

このように整然とした微小管配列も、様々な物理的・化学的さらには生物的刺激によって容易に崩壊する。また、そのような破壊要因が除去されれば、再び軸系パターンが形成され、その結果として新しい軸足が伸長してくる。このような変化は、超薄切片法の応用により電子顕微鏡で追跡できるが、特に軸系パターンの再形成の状態は、その極く初期の状態で見られる微小管集合の像より類推せざるを得ない。そこで、軸系を構成する微小管の 1 本 1 本に座標を与え、その配列についてのシミュ

レーションを試みてみた。そして、軸系パターンの再形成について X-Y プロッターで描画した結果、主軸系より剝離した微小管束の中心部に近い微小管を中核として渦巻き配列が再現し、小軸系が形成されていくことが判明した。このことは、実際に電子顕微鏡像でも確認された。

さらに、微小管の崩壊現象には、上述の場合と違って細胞融合・細胞接着・細胞運動などの細胞機能発現に伴う緩慢な微小管の脱重合過程が観察される。このような現象は、低温 (4 $^{\circ}\text{C}$) やコルヒチン (5 mM) による極くマイルドな処理でも人工的に誘導される。いずれにしても、これらの場合には直径 30~40 nm のマクロチューブル (macrotubules) や直径 13~15 nm の小管状繊維 (tubular filaments) が微小管と崩壊過程で直径 25 nm の微小管と共に出現し、最終的にチューブリン・ダイマー (tubulin dimers) にまで崩壊してしまうことが判明した。しかしながら、これら 3 種の繊維状構造体の相互関係については、従来の超薄切片法に頼る限りでは実態を把握することが不可能であった。そこで、われわれの研究室において独自の微小管単離法を開発し、それを応用したネガティブ染色標本の電顕観察によって、微小管自体の形態変化を追跡することに成功した。その結果、微小管からマクロチューブルへ、マクロチューブルから小管管繊維へ、そして最後に小管状繊維からチューブリン・ダイマーへと連続的な形態変化を起こすことが判明した。さらに、このような変化は微小管を構成するチューブリン・ダイマー相互間の滑りによって簡単に説明できるようになってきた。また、この過程を逆方向

へ迎れば容易に微小管自体の再構成が誘導されることも判ってきた。

太陽虫の細胞運動をその要因別に分類してみると、(1) 微小管の重合・脱重合によるもの（回軸運動、細胞融合、細胞分裂、大型食物の摂取など）、(2) 収縮性要素によるもの（小型食物の摂取、食物盃の形成など）、(3) 細胞膜裏打ち構造との相互作用によるもの（軸足内顆粒の跳躍運動）、(4) 細胞膜の流動性によるもの（滑走運動、軸足膜表面に付着した粒子の運搬など）が挙げられよう。これらの中で、微小管の重合・脱重合による現象については、上述のようなメカニズムが考えられる。また、第2の収縮性要素に関しては、最も有力な候補としてX小体（X-body）が挙げられ、最近のX線マイクロアナライザーによる解析でも、軸足収縮時においてX小体に著しいCa²⁺の取り込みのあることが発見されている。なお、軸足が収縮する際には、細胞骨格的要素である軸糸微小管は折れ曲がるか、または、瞬時にして折りたたまれ、その後で徐々に微小管脱重合が起こることが判っている。このことから、軸糸微小管が軸足収縮を能動的に惹起する要素であるとは到底考え難い。第3の細胞膜裏打ち構造も一種の細胞骨格と考えてよいが、軸足内顆粒特に原形質膜によって包まれた電子密度の高い粘着性物質は、このような細胞膜裏打ち構造との相互作用によって特有の跳躍運動が誘発されているようである。さらに、このような軸足内顆粒の運動は、ダイニンATPase 活性阻害剤によって特異的に抑制されることも判っている。第4の細胞膜の流動性については、特に軸足膜表面にラテックス粒子やカーミン粒子をマーカーとして付着させることによって解明され、これらの粒子は常に軸足基部より軸足先端部に向かって一定の速度(1.6~1.9 μm/秒)で流動し、最終的に軸足先端部より破棄されることがわかっている。このことは、太陽虫自体の圧迫実験でみられた滑走運動によっても確認されている。さらに、細胞膜の流動性に関しては、太陽虫のコンカナバリンA処理によって培養細胞系でみられるパッチ形成並びにキャップ形成に似た現象も発見されている。

以上述べてきた実験結果の他にも、幾つかの面白いデータもあるが、いずれにしても太陽虫の細胞骨格特に軸糸微小管が、細胞運動を伴う様々な細胞機能発現にと

って重要な働きをもつことは間違いなさそうである。しかしながら、細胞膜裏打ちタンパクの形態とその挙動、細胞膜の流動性の実態とその制御、収縮要素の形態変化と収縮機構などについては、今なお不明な点が数多く残されたままである。今後この方面における精力的な研究を期待したいものである。

質問 落合 勉（早大）

1) 軸足の膜表面の動きは、ルテニウムレッド処理によっても止まらないのですか？

2) 軸足の膜表面の動きやその停止という現象と表層剝離現象の関係はどうですか？

回答

1) 軸足膜表面に付着させたポリスチレン粒子(0.3 μmφ)は、ルテニウム・レッドやコンカナバリンAのような細胞表面修飾剤によって停止することは見られませんでした。現在のところ、コルヒチンのみ有効です。

2) 表層剝離現象そのものは、軸足膜自体の流動性の停止や軸糸微小管の崩壊を前提としています。

質問 木原 章（法政大・教養・生物）

太陽虫の軸足テトラヒメナが付着した様子をもう少し詳しくお教え下さい。

回答

軸足表面にテトラヒメナが付着した時の超薄切片像を電子顕微鏡で観察しますと、軸足膜からの絨毛様突起と、軸足内顆粒が exocytotic に放出されたものの両方でテトラヒメナの繊毛が保持されているようです。

質問 鈴木 實（日大）

太陽虫類にみられるグラニュールと似たものが、殻アメーバ類や有孔虫類にも観察できます。とくに、有孔虫類のなかで偽足が網目状になっているものでは、まったく自由な方向にグラニュールが移動している。これらの類は系統分類学的にはかけはなれていますが、グラニュールの性質は同じものなのでしょうか？

回答

有孔虫類の reticulopodia に見られる顆粒も、電子顕微鏡で観察する限り太陽虫類の axopodia の場合と同様です。その運動様式も両者共に類似していますので、これらのグラニュールの性質は似たものであると考えられます。

 一 般 講 演

1. 膜透過性陽イオン性蛍光色素の抗マラリア効果

出雲 章久, 田辺 和裕, 高田 季久
 大阪市立大学医学部医動物学教室

Inhibition of in vitro growth of Plasmodium falciparum by a brief exposure of the cationic permeant fluorescent dyes.

Akihisa Izumo, Kazuyuki Tanabe and Suehisa Takada
 Department of Medical Zoology, Osaka City University Medical School

マウスのマラリア原虫 *Plasmodium yoelii* では、原虫が虫体内の電位を負に保ち自己の成長増殖に利用していることがすでに明らかにされている。演者らは、連続培養中のヒトマラリア原虫 *P. falciparum* においても同様の現象が存在するか否かを明確にするため、各種の膜透過性の蛍光色素で処理した *P. falciparum* の増殖性と、虫体の持つ電位及び色素の持つ荷電との関係を検討した。*P. falciparum* は GGG strain で、5% D-sorbitol で同期化し ring stage の虫体を実験に使用した。感染血球の割合を 0.2~0.3% に調整した後 Mg^{2+} , glucose 添加 PBS で 5% の suspension を作成し、これに蛍光色素を添加して 37°C で 30 分間 incubate 後 4°C で 3 回遠心洗浄を行い通常の培養の系にもどして培養を継続し、以後 24 時間毎に感染血球の割合を算定して色素による増殖抑制効果の有無を検討した。

陽イオン性色素である Rhodamine 123 (R123) による処理後 96 時間での色素の濃度と増殖抑制率は R123 2 μM で 0%, 5 μM で 38.5%, 10 μM で 94.6%, 25 μM 以上では 100% と、色素の濃度に依存した増殖抑制効果が認められ 50% 有効濃度 (EC50) は 6 μM であった。また蛍光顕微鏡下の観察によって虫体内の R123 の取り込みが確認された。

この R123 の取り込みが何によるものかを見るため、10 μM の R123 で処理された原虫を proton ionophore CCCP (carbonyl cyanide-m-chlorophenylhydrazone) で 37°C 30 分間処理したところ、色素による 96 時間後の増殖抑制率は CCCP 0 μM で 100%, 1 μM で 84.1%, 10 μM で 64.1% であり、CCCP の濃度に依存して増殖抑

制効果が減少した。この事は CCCP によって負電位を失った原虫から陽イオン性の色素が流出してしまいその増殖抑制効果が減少したものと思われた。

Ring stage 以後の発育段階の trophozoite および schizont の stage の原虫を 10 μM の R123 で処理し、処理虫体が分裂し娘虫体が新しい赤血球に浸入して形成される ring stage の虫体数の増減で色素の増殖抑制率を見ると、ring stage 100%, trophozoite stage 89.8%, schizont 39.7% と、発育の若い原虫ほど R123 に対して高い感受性を示した。R123 以外の膜透過性の蛍光色素 10 種の抗マラリア効果を見るため、10 μM の色素で 37°C 30 分間処理し、96 時間後の増殖抑制率を求めた。使用した色素は Rhodamine B (RB: 色素の荷電は中性), Rhodamine 3B perchlorate (R3BP: 陽性), Rhodamine 6G (R6G: 陽性), Rhodamine 6G perchlorate (R6GP: 陽性), Rhodamine 19 perchlorate (R19P: 中性), Rhodamine 110 (R110: 中性), Fluorescein (F1: 陰性), Merocyanine 540 (M540: 陰性), 3,3'-diethyloxadycarbocyanine iodide (Dio-C2: 陽性), 及び 3,3' dihexyloxadycarbocyanine iodide (Dio-C6: 陽性), で、その増殖抑制率は陽性の荷電を持つ色素が 100% (R123 のみ 99.7%) 中性及び陰性の色素は 0% (F1 のみ 2%) と、色素の持つ荷電によって抑制効果の有無が分れ、陽イオン性の色素のみが抑制効果を示した。

これらの色素の分子構造を見ると、同じローダミン系の色素の中でも R123, R110, F1 の 3 種, R6G, R6GP, R19P の 3 種, RB, R3BP の 2 種は各々酷似した構

造を持っており、M540, Dio-C2, Dio-C6 はローダミン系の色素とは全く異った構造を持っている。この事は、いかに構造が酷似していても陽イオン性色素でなければマラリア原虫増殖抑制効果を持たず、構造が全く異っていても膜透過性の陽イオン性の色素であれば抑制効果を持つ事を示しており、原虫への増殖抑制効果がひとえに色素の荷電によっている事を表している。また蛍光顕微鏡下の観察からは、陽イオン性の色素はすべて原虫の細胞質内に取込まれていたのに対して、中性及び陰イオン性の色素では虫体への取込みが認められなかった。

一般に細胞膜内外に形成される電位差は、能動輸送をはじめとする細胞の基本的な生理機能に大きく関与している。今回の実験においても、陽イオン性の色素を取り込んだ虫体、つまり自己の持つ負電位を相殺された虫体はその利用して行っている生理機能が低下し、通常の発育・増殖を行えなくなり、結果としてその増殖が抑制されたものと思われた。

質問 遠藤 卓郎 (国立予研)

CCCPにより膜電位を消すと、かえって原虫の増殖が上がるような data をお示されました。一方 R123 を

お使いになった目的は膜電位を消すことにより原虫の増殖を抑制することだとお聞きました。この2つは互いに背反していませんか？

回答

実験は R123 の取込みとその retention が虫体の持つ負電位によっている事を確認するため、CCCP の使用が、虫体からの色素の遊離、ひいては増殖性の回復につながるかを見たものです。

膜電位の構成には、 Na^+ , K^+ , Ca^{++} 等のイオンや H^+ が関与しますが、R123 は total な電位差を消失させ、CCCP は H^+ による電位差を消失させます。両者は全く同一の作用を持つものではないと思われま。事実、CCCP 処理で R-123 の増殖抑制効果は100%は回復しませんでしたし、一過性の CCCP 処理は原虫の増殖をあまり抑制しませんでした。

質問 藤田 潤吉 (日大獣畜)

今後、実験動物 (マウス) に対する治療効果の検討を期待します。家畜の赤血球寄生原虫 (Theileria spp. Balesia spp) の治療薬は現在耐性株の出現で新しい有効な薬剤が期待されております。

2. 人工ルーメンによる多種類のルーメン原生動物の連続培養について

安倍 正史

昭和大学医学部医動物学教室

栗原 康

東北大学理学部生物学教室

Continuous culture of a varied rumen protozoal population in an "artificial rumen" fermenter

Masafumi Abe

Department of Medical Biology, School of Medicine, Showa University

Yasushi Kurihara

Biological Institute, Faculty of Science, Tohoku University

現在までに、「人工ルーメン」と呼ばれる連続発酵装置を用いて牛や羊等の反芻胃 (rumen) 内の protozoa 群集を長期間培養した例がいくつか報告されている

(Rufener et al., 1963; Slyter et al., 1964; Itabashi et al., 1972; Abe et al., 1973; Weller et al., 1974; Czerkawski et al., 1977, 1979; Nakamura et al.,

8 一般講演

1978)。しかしながら大型繊毛虫を含む rumen protozoa の混合群集を長期間 *in vivo* のルーメン内の密度に匹敵する状態で培養した例は少ない。演者等は、今回、人工ルーメンに protozoa の附着基質として bath sponge を取り付けることにより多種類の rumen protozoa, 特に培養困難といわれている大型の繊毛虫を含む混合群集の連続培養を試みたので報告する。

培養装置：本実験に用いた連続発酵装置は、透析型人工ルーメン (Nakamura et al., 1978) であり, protozoa の附着基質として多孔質の polyurethane foam (5-8 mm の厚さで容積が 200cm³ の板状であり以後 “Sponge Wall” と称する。) を発酵槽とその外側の透析膜の間に取り付けた。

inoculum の構成種：実験に用いたルーメン内容物の rumen protozoa は, *Entodinium* 属 (*E. simplex*, *E. longinucleatum*, *E. nanellum* 及び *E. caudatum*), 大型繊毛虫である *Epidinium* 属及び *Diplodinium* 属 (*E. caudatum*, *D. anacanthum*, *D. monacanthum* 及び *D. tetracanthum*) 及び *Dasytricha ruminantium* より成る混合群集であった。

実験条件：Sponge Wall を取り付けた人工ルーメンは、発酵槽内の餌袋の周囲の液相に拌砕大表 (8g/day) 及び sponge 片 (10cm³ のもの 10個) を添加して 21 日間連続運転した。餌袋へは, alfalfa-hay cube, crushed barley 及び hay pellets を 3 : 2 : 1 の割合に混ぜた餌 (72g/day) を入れ, 毎日の feeding の際に, 48 時間経過した餌袋 (Old Bag と称する。) を取り出し, 24 時間経過した餌袋 (New Bag と称する。) を発酵槽の下部に移動し, その上に上述の新鮮な餌袋をのせるという操作を実験最終日までくり返した。発酵槽 (2.31) には人工ダ液を 1.0/day の希釈率で流し, その外側の透析槽 (2.31) にも 2.0/day の希釈率で流した。Sponge Wall は実験終了日に取りはずしその搾汁液を sample とした。コントロールとしては, Sponge Wall を取付けない透析型人工ルーメン (Nakamura et al., 1978) を用い, 他の条件は添加物も含め全て前述と同じであった。

実験結果及び考察：Sponge Wall を取り付けた人工ルーメンにおいては, *Entodinium* 属繊毛虫, *Diplodinium* 属及び *Epidinium* 属なる大型繊毛虫及び *Dasytricha ruminantium* が餌袋内及び sponge 部で *in vivo* に匹敵する密度で実験終了時の 21 日目まで維持培養された。発酵槽内の餌袋及び sponge 部では 8~10% (*Entodinium* spp.) の分裂率が測定され, またこれ等の部位における pH, VFA 及び NH₃-N の平均値は

in vivo で測定される正常範囲内にあり安定していた。

一方, Sponge Wall を用いない人工ルーメンにおいては大型繊毛虫は実験開始後 3 日以内に激減・消失した。また *Entodinium* 属繊毛虫は *in vivo* に匹敵する密度で餌袋及び sponge 片内で維持された。この場合の分裂率は 3~5% であった。これ等の諸事実は, 人工ルーメンへの Sponge Wall の導入が protozoa の付着部位の拡大をもたらし, さらに多種類の protozoa にとって好適な生息環境を提供したことを示唆している。さらに, Sponge Wall 装着の人工ルーメンでは, 透析液と餌袋内の pH 値の差が Sponge Wall 未装着の人工ルーメンより小さく, しかも実験全体を通じて Wall 装着の人工ルーメン内の餌袋内でより高めに pH が保たれていることがわかった。このことは, Sponge Wall の導入が透析膜の透析効率を高め, 発酵槽内の pH 値をひき上げたことを示唆しており, 一般に *Entodinium* 属繊毛虫より高めの pH を好むとされる大型繊毛虫 (Quinn et al., 1962) の密度維持機構を説明する上でも有力な手がかりとなるであろう。

質問 川上 久子 ()

3 週間に亘る連続培養中, 培養液の減少が起ると思われませんが, この間に fresh medium の追加は行なわれたのでしょうか。

回答

inoculation の日に, ルーメン内容物を羊より採取し, 600ml をナイロン袋に入れ, これを発酵槽の下部におき, 実験を開始しました。それ以後にルーメン inoculation の追加は一切行っておりません。人工ルーメン内で効率よく protozoa の維持・増殖が行われた結果, 個体密度が維持されたものと思われま。なお, 人工ダ液及び餌 (72g/day) は, 前者は連続的に, 後者は 1 日 1 回与えております。

質問 今井 壮一 (日猷大)

大型のルーメン繊毛虫を高密度で維持することは, 従来困難と考えられていますので, 今回ご発表の培養装置は大変意義の高いものと思われまますが, 次の点につきましてご教示下さい。

- 1) 培地に添加した栄養素 (特に粗繊維) はどのようなものでしょうか。
- 2) *Diplodinium* などの大型繊毛虫は粗繊維を利用することが報告されておりますが, 鏡検下でそのような像が見られましたでしょうか。

回答

- 1) alfalfa hay cube (crushed), crushed barley 及

び alfalfa hay pellets (uncrushed) を 3 : 2 : 1 の割合に均等に混合したものを, 24g すつ 3 つのナイロン袋にわけて与えました (72g/day).

2) ホルマリン固定を行なった虫体において, 特に, 粗繊維が大量に摂取されている状態は認められませんでした.

3. メトロニダゾール低感受性を示したヒト由来

Entamoeba coli の微細構造について

浅見 敬三, 竹内 勤, 三浦左千夫, 田辺 将信, 小林 正規, 奥沢 英一, 金子 信明
慶応義塾大学医学部寄生虫学教室

藤原 達司

慶応義塾大学電子顕微鏡研究室

Ultrastructural study on Entamoeba coli with a low susceptibility to metronidazole

Kelzo Asami, Tsutomu Takeuchi, Sachio Miura, Masanobu Tanabe,
Seiki Kobayashi, Eiichi Okuzawa and Nobuyuki Kaneko
Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University

Tatsushi Fujiwara

Electron Microscope Laboratory, Keio University

消化器症状を呈し, メトロニダゾールをくり返し投与された婦人より分離した本薬剤低感受性のアメーバの形態学的特徴について報告する.

Balamuth 培地で分離培養されたアメーバ栄養型は約 20-40 μ m の大きさであり, *Entamoeba* 型の核をもち, 糞中或いは培養基内で成熟した嚢子の核が 8 個であること, 又嚢子の大きさは糞便中で $16.4 \pm 1.9 \times 16.0 \pm 1.7 \mu$ m, 培養基内で $20.6 \pm 2.2 \times 20.5 \pm 2.2 \mu$ m と両者いく分異なるが通常みられる大腸アメーバのシストの大きさに匹敵する大型のシストが観察されること, 27°C の様な低温では増殖しないこと, さらに数種の赤痢アメーバ抗血清, 或いは抗原を用いた血清学的検査の結果などからヒトに寄生することが報告されている *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba hartmanni*, *Entamoeba polecki* そして *Entamoeba moshkovskii* の様な *Entamoeba* 型の核をもつアメーバ種とは明らかに異なり, 光顕的には大腸アメーバの性質と一致していた. このことから我々はこのアメーバを大腸アメーバと同定した. 又, 分離されたアメーバ栄養型を抗原として蛍光抗

体法により反応させても, 本アメーバの感染をうけている婦人の血清中には抗体が検出されないことからこのアメーバはこの時点において組織には侵入していないものと考えられた. 固定液として 2% グルタルアルデヒドと 2% タンニン酸の等量混合液及び 1% オスミウム酸を用いた電顕的観察からは, ミトコンドリアは存在せず栄養型の核の周囲には空隙がみられ, 細胞質内には約 200 Å の間隔でリボソームより小さな粒子により形成される格子様構造を示す特異な小器官やゴルジ装置と思われる良く発達した構造物も観察された. 又, 培養基内で被嚢したアメーバ嚢子の核膜周囲には栄養型の場合に空隙としてみられたのとは異なり空隙に相当する部分は均一で密な物質で構成されていることが観察され, 細胞質内には類染色質体を形成するリボソームからなると考えられる集合体, そして豊富なグリコーゲン顆粒が観察された. 又, 嚢子壁の直下には整然と配列した vesicle も認められた.

以上メトロニダゾールに低感受性を示したアメーバの微細構造について検討した結果, 現在微細構造について

10 一般講演

の詳細な記載が存在する赤痢アメーバにはみられないいくつかの小器官を有することが明らかとなった。しかしながら培養の困難さなどの理由から大腸アメーバの電顕的考察を加えた文献は少なく、この点さらに検索し、検討したいと考えている。

質問 尾崎 文雄 (高知医大)

- 1) 示されたシストは1つでしたが、どのシストでもクロマトイドボディは鈍端を呈していましたか。
- 2) 運動性などの生態はどうでしたか。 *E. wli* と同定するのにやや疑点が残るように感じられますか。

回答

- 1) 糞便中にみられたシストはかなり高頻度にクロマトイドボディを有していたが従来の大腸アメーバで報告されている裂片状のクロマトイドボディはみられず観察された限りでは鈍端を呈していた。
- 2) 運動性は糞便中、培養基内とも、赤痢アメーバとはほぼ同様活発であった。又従来大腸アメーバは培養が困難とされていることもおっしゃる通り *E. coli* と同定する

のにやや難点を残しております。私見でありますが一つの可能性として他の動物種の寄生性アメーバが偶発的にヒトに感染した可能性も考えられます。

質問 小山 力 (予研・寄生虫)

- 1) この *E. coli* の病原性についておたずねします。
- 2) 培地内で被囊したとのことですが、特別な条件下で生起したのでしょうか。

回答

- 1) 病原性としては消化器症状を呈しておりましたが当初、OLIVIA 株の他に鉤虫と鞭虫も感染しておりましたことから明らかにアメーバによると考えることは困難でした。しかしながらフルベンダゾールによる駆虫後も消化器症状が改善せず又粘液便の粘液中に多数のアメーバが観察されたことから消化器症状のひとつの原因としてアメーバ (OLIVIA 株) を考えています。
- 2) 培地内での被囊は通常の培養条件下でみられました。

4. *Filipodium ozakii* HUKUI の微細構造

星 出 一 巳

山口大学教育学部生物学教室

Fine structure of Filipodium ozakii HUKUI

Kazumi Hoshide

Biological Institute, Faculty of Education, Yamaguchi University

Filipodium ozakii HUKUI は海産の星口動物スジホシムシモドキ *Siphonosoma cumanense* (KEFER-STEIN) に寄生するグレガリナ (Gregarina, Apicomplexa) である。この種は最初福井により Dactylophoridae 科に分類されていたが、Grassé により Lecudina 科に移された。Lecudina 科は Cephalorina 亜目の中の Aseptata に属し、Acephalorina 亜目と Cephalorina 亜目の中間の形態を示し、両亜目の関係を考察する上で、重要なグループである。また *F. ozakii* は体表面に無数の繊維状突起構造を有し、これはグレガリナ類ではきわめて珍らしい特徴である。この *F. ozakii* を材料に寄生虫と宿主の関係、及びガモントの生長にともなって

変化する核の構造について観察した。

寄生虫と宿主の関係

グレガリナ類がどこからどのような方法で栄養を摂取しているかということについて、これまで種々の議論と仮定がなされてきた。それらの仮定を大別すると2つになる。1. 宿主の体の一部又は体液を寄生虫が体の先端部分より摂取している。2. 宿主が摂取した食物の一部を体表全体を通して摂取している。これらの仮定を確かめるため、消化管壁に懸着しているグレガリナのセファリンを消化管ごと固定し、薄片切片にし、透過型電子顕微鏡で観察した。その結果次の3点がわかった。1) このグレガリナの体の前端部の幅の広い漏斗状のムクロン

になり、ムクロンの前縁部には多数の円錐形の突出が見られる。この突出部が宿主消化管壁の上皮細胞と接触している。接触は表面でのみ行なわれ、宿主の細胞と細胞の間には入っていない。ムクロン、突出部と体の他の部分との間に明確な境界はない。2) 突出部の先端には食作用のような細胞膜の陥入が見られ、その部分に電子密度の高い物質が取り入れられている。取り入れられた物質は宿主細胞の細胞質の一部のように見える。この物質はしばしば2~3の片に分かれ、周辺に電子密度の高い顆粒の集積が見られる。3) 突出部が接触している宿主の細胞では、ミトコンドリアが寄生虫の方へ引き寄せられているのが、観察された。これらの観察より、ムクロンはたんに体の固定に役立っているだけでなく、宿主より栄養を摂取する役割も果していると予想される。従来

核の構造

核は核膜、核質、核小体よりなる。消化管壁に懸着し

ている小さいセフェリンでは、核はほぼ球形で、ゆるやかに波うった核膜に囲まれている。消化管壁を離れた大きなガモントでは核はレンズ状を呈し、核膜に無数の陥入が見られる。陥入はガモントの成熟とともに深くなり、核の中央部まで達するものも見られる。核膜は内外2層の膜より構成され、内膜の方が外膜より厚く電子密度も高い。外膜の外側に沿って多数の電子密度の高い顆粒があり、成熟したガモントではしばしば核膜の陥入した内部にも見られる。核質はほぼ均一で特別な構造は観察されない。しかし若い個体では核膜の内側に100 nm幅の電子密度の低い部分が見られた。核小体は球形で核質より電子密度が高く、周囲には膜構造はない。核小体の中には電子密度の高い網状構造がある。この網状構造は若い個体では1~2個の固まりになっているが、成熟した個体では核小体全体に拡がっている。この部分を高倍率で観察すると、無数の糸状及びびらん状の構造が見られた。

5. 透過電顕によって認められる *Trypanosoma evansi* の特異な分裂像

比留木 武雄

島根医科大学微生物学部免疫学教室

An unique pattern of cell division of Trypanosoma evansi observed by a transmission electron microscope

Takeo Hiruki

Department of Microbiology and Immunology, Shimane Medical University

目的: *T. evansi* は *Subgenus Trypanozoon* に属する Surra disease の病原体である。Trypanozoon に属する trypanosome cell は一般に感染脊椎動物体内に於いては、縦二分裂によって増殖するとする説が今日一般的である。演者は *T. evansi* を透過電顕で観察中に縦二分裂と考え難い分裂像を観察したので、報告した。

材料と方法: *T. evansi* は大阪大学微生物病研究所よりの入手株である。この原虫を接種されたマウスの first flush 時に心臓穿刺術によって採血し血液中の原虫を Lanham 法 (1968 & 1970) により分離し、1% glutaraldehydesol. と 1% osmic acid で固定し、型の如く、アルコール脱水し、propylene oxide で置換後

エポキシ樹脂に包埋して MT-5,000 Sorval ultramicrotome で薄切して得られた切片を lead citrate-uranylacetate 二重電子染色して JEOL 200CX (200KV a. v.) で観察した。

結果と考察: 得られた様々な分裂時期にあると考えられる像を基に演者の考えで経時的順番を付与して考究し次の知見が得られた。

1. 鞭毛の虫体への付着部位の直下で、膜下微小管 subpellicular microtubules (SM) と細胞膜の間で新しい SM が従来の SM と立体交差する形で新生される。この時点では鞭毛の虫体への付着は鞭毛の走行に沿って線状であり鞭毛自体の複製は未だ開始されていない。

12 一般講演

2. 鞭毛の複製は、従来言われていた如く、第二基底小体からの伸長によるものではなく、一本の軸糸 *axoneme* (A) の解体と再組み立てによることを示唆する像が得られた。即ち、Aの解体に先だって複製されたとみなされる傍軸糸桿 *paraxial rod* (PR) を伴って同一の鞭毛包 *flagellar sac* (FS) の中で相対する極に解体した軸糸微小管 *axonemal microtubules* が移動している像が得られた。更に各々の極で完成された一対のAとPRもまた観察された。

3. 従来の二分裂法で言われていた如く、鞭毛の複製が完成してから細胞の分裂が起こるのではなく、ここに観察された分裂像では、これらの鞭毛の複製と同時に鞭毛直下の虫体内部で新たなSMによって囲まれた細胞質部分即ち娘細胞の形成が行われている像が観察された。この娘細胞の中には発達した粗面小胞体が認められた。この娘細胞と母細胞は同一のFSの下部を分け合っているが、娘細胞が発育し、これに伴って、同一のFSの内部における二本のA相互の距離が拡大するに従い、二本のAの間で、而もその走行に沿って、FSと虫体の細胞膜の接触面に溝あるいは空隙を生ずる像が観察された。やがて、二対のAとPRはそれぞれに独立した鞭毛として分離し、一本は娘細胞に一本は母細胞に付置されると考えられる。娘細胞と母細胞の間には、従来に言われていたのとは異なり、Y字状ではなく、“茎”が形成

される。やがてこの部から分離するもの推定される。この部では母細胞と娘細胞の間に“bridging”するSMや既に母細胞と娘細胞の間で、おそらく、酵素の作用を受け、溶解し中断されたと考えられるSMの像も認められた。

以上の知見は培養困難な原虫研究の通弊として、演者が主観的に経時的順番を付与しているという弱点をもつものの、それでも得られた分裂の諸相を示す各個の像自体が、いわゆる、従来、言われている縦二分裂と異なる分裂様式が存在を示唆している。

質問 金田 良雅 (東海大医・寄生虫)

二分裂の時、一般的には鞭毛の基部にある *kinetoplast* が最初に分裂し、そこから鞭毛が派生してくると考えられていますが、この場合 *kinetoplast* の分裂はどうなっているのでしょうか。

回答

その点についてはデータを持っておりません。只、報告致しました如く同一の *flagellar sac* の中で、*axoneme* が *dissociate* して、ついでには *recombine* して *axonemes* の二対 (勿論 *paraxial rods* を伴った) を形成する像は、従来 *second barren body* から細胞膜を押し上げ、別個の鞭毛として新生されていくという記載とは異なると考えます。

6. 樹脂切断法によるウマ大腸内繊毛虫 *Cycloposthium* spp. の SEM 観察

山崎 裕代, 今井 壮一, 石井 俊雄
日本獣医畜産大学獣医寄生虫学教室

SEM observations of the intestinal ciliates of horse, Cycloposthium spp.

Yasuyo Yamazaki, Soichi Imai and Toshio Ishii

Department of Parasitology, Nippon Veterinary and Zootechnical College

馬の大腸内に生息する繊毛虫類のうち、エントディニオモルファ目に属するものは複雑な形態を有し、比較的高度に分化した一群と考えられている。演者らは、先に第15回本学会において反芻動物の第1胃内に生息するエントディニオモルファ目の一つである *Entodinium* 属

の口部繊毛の配列について、スチレン樹脂切断法を用いて SEM 観察を行ない、報告した。今回、同様の手法を用いて馬大腸内に生息する *Cycloposthium* 属について観察を行ない、両者の形態の比較を試みた。

材料は埼玉県大宮市および山梨県石和市の屠場におい

て屠殺されたサラブレッド種の盲腸および前大結腸より採取し、これらをあらかじめ39°Cに保温した2%グルタルアルデヒドに滴下して、口部繊毛を伸長させた状態で固定した。固定材料は、Párducz の固定液で再固定を施したのち、常法に従ってエタノールによる脱水、スチレン樹脂断面法を経て、JEOL JSM-25S III 型 SEM で観察した。

その結果、*Cycloposthium* 属繊毛虫の口部繊毛列は、*Entodinium* spp. において見られたのと同様、明らかに外層、内層繊毛列の2部に区分された。外層繊毛列は pointing brush 様の束を形成し、先端に向かうに従い細くなっていた。束の切り口はほぼ長方形で、一束は約170本の繊毛で構成され、前庭開口周囲にはこれらが約20束配列されていた。内層繊毛列は束状の構造は認められず、内側の繊毛が最も短く、外方向へかうほど長くなる傾向が見られた。またこれらの繊毛は外層繊毛列に比して明らかに短かった。

一方、体腹側にはこれらとは異なるキネトソームの配列が認められた。これらは約5列で構成されていたが、そのうち繊毛の派生が見られたのは中央の1列のみで、その繊毛も極く短く、明らかに他の部位の繊毛とは異なっていた。またキネトソームの中には萎縮していると思われるものも観察されたことから、この繊毛列には機能的な意義はほとんどないものと考えられた。

さらに背側唇状構造の根部にも別の短い1列の繊毛列の存在が認められた。

前庭開口周囲には繊毛の派生は見られず、体中央より馬蹄形の隆起部が存在した。前庭は体中央部から背部にかけて位置しており、やや深い横断面像では、体中央から背側に至る幅広い裂け目として観察された。前庭内には繊毛の派生は認められなかった。

今回得られた所見を、先に報告した *Entodinium* 属繊毛虫のそれと比較した結果、いずれも、(1)内外2層状構造を有すること。(2)口部繊毛列は内外2層に区分され、それらの配列が明らかに異なっていること。(3)内層繊毛列は両属繊毛虫ともほぼ同様の配列を示すこと、などの点で共通点が見られたが、一方、(1)口部繊毛列のうち、外層繊毛列については、*Entodinium* 属では1束が約16本の繊毛で構成されるメンブрана様構造であるのに対し、*Cycloposthium* 属では約170本の繊毛から成る painting brush 様構造を呈すること。(2) *Entodinium* 属の口部繊毛列が前庭内にまで入り込んでいるのに対し、*Cycloposthium* 属の前庭内には繊毛が存在しないこと。(3)前庭開口部が *Entodinium* 属では体左側に位置するのに対し、*Cycloposthium* 属では中央背側よりに存在すること。(4) *Entodinium* 属では見られていない。内層、外層繊毛列とは異なる短い繊毛列が *Cycloposthium* 属では体腹側および背側に存在すること。および(5) *Cycloposthium* 属では、*Entodinium* 属には見られない、深い位置から隆起する細胞丘の形成が見られること、などの相違点が存在することが明らかとなった。

7. ゴウリムシの Tsb (Temperature-shock-behavioral)

突然変異体における K⁺ 刺激の致死効果

小森 誠, 高橋三保子
筑波大学生物科学系

Lethal effect of K⁺ stimulation in Tsb (Temperature-shock-behavioral) mutant of Paramecium caudatum

Makoto Komori and Mihoko Takahashi
Institute of Biological Sciences, University of Tsukuba

Paramecium caudatum の Tsb (Temperature-shock-behavioral) 突然変異体は、温度の急上昇に際

し、野生型が少し方向転換をした後、前進遊泳するだけであるのに対し、長い後退遊泳を高頻度に繰り返す行動

突然変異体である。同様の行動反応は、機械的衝撃を与えた時にも見られ、単純劣性の遺伝子によって支配されていることが明らかにされている。

今回、この Tsb に第3番目の形質、すなわち高濃度の K^+ イオン溶液中で、後退遊泳をしながらしだいに變形し、早いもので1分たらずで死んでしまうという形質が見つかった。高濃度の K^+ イオン溶液は、ゾウリムシの Ca^{2+} チャンネルの機能を調べるためによく使われるイオン刺激の一種であり、野生型の場合、50秒位の後退遊泳が誘発されたのち前進遊泳するだけで死んでいくことはない。

レタスジュースで飼ったゾウリムシを、1mM KCl, 1mM $CaCl_2$, 2mM Tris-HCl (pH 7.2) を含む溶液で洗い、その溶液中に約1時間静置した後、60個の細胞を試験管の中に入れ、 K^+ や Ca^{2+} 濃度をいろいろに変えた刺激溶液を6cc加えた。40分間静置したのち生存個体をカウントした。この系で Tsb の“死ぬ現象”を K^+ と Ca^{2+} の濃度比に注目して検討した。

刺激溶液中の Ca^{2+} を一定にし (1mM) K^+ 濃度を20, 30, 40mM と変化させた時、野生型ではほとんど死ぬ個体は見られなかったが、Tsb では K^+ 濃度が高くなるに従って、生存率はそれぞれ98%, 84%, 41%と減少した。

刺激溶液中の K^+ 濃度を一定 (30mM) にし、 Ca^{2+} 濃度を1, 0.5, 0.25mM と変化させた時、野生型ではほとんど死ぬ個体は見られなかったが、Tsb では Ca^{2+} 濃度が低くなるに従って、生存率は84%, 48%, 4%と減少した。

従って、高 K^+ 濃度、低 Ca^{2+} 濃度の溶液中でよく死ぬことが示唆されるが、 $[K^+]/\sqrt{[Ca^{2+}]}$ と生存率の関係を検討したところ、両者は逆の相関関係にあり、この値が大きくなると生存率は下がり、この値が小さくなると生存率は上がることが明らかになった。

この $[K^+]/\sqrt{[Ca^{2+}]}$ は一般に Ja 値と呼ばれ、ゾウリムシの後退遊泳の時間的長さに最も影響を与える数値である。Ja 値の低い溶液から高い溶液へゾウリムシを移すと、 Ca^{2+} チャンネルが活性化され長い後退遊泳が起こると説明されている。そこで 20 mM KCl, 1 mM $CaCl_2$, 2 mM Tris-HCl (pH 7.2) における後退遊泳時間を測定したところ、野生型と Tsb の間にほとんど差はなかった。従って Ca^{2+} チャンネルが原因で死ぬのではないと考えられる。

質問 樋渡 宏一 (東北大理・生物)

死ぬことは $[K^+]/\sqrt{[Ca^{2+}]}$ に関係するが、 Ca^{2+} の influx による死亡ではないということですか、そうだとすれば死ぬ原因は何ですか。

回答

tsb 遺伝子と cnr 遺伝子の、2重突然変異体と思われるゾウリムシの、 K^+ 刺激に対する反応を調べたところ、溶液に入れた直後は前進遊泳しているが、数分たつと、後退遊泳を始め、その後死んでしまう。

以上の観察から Ca^{2+} の influx は死亡に関係している、しかも、この Ca^{2+} は Ca^{2+} チャンネルを介して入ったのではなく、膜が壊れて Ca^{2+} が入ったのだろうと推測される。

8. ゾウリムシの大核内寄生バクテリア *Holospora obtusa* の感染過程

藤島 政博, 永原 和三
山口大学理学部生物学教室

Infection process of Holospora obtusa, a macronucleus-specific bacterium of the ciliate Paramecium caudatum

Masahiro Fujishima and Kazumi Nagahara
Biological Institute, Faculty of Science, Yamaguchi University

グラム陰性菌 *Holospora obtusa* は、ゾウリムシ *Paramecium caudatum* の大核に寄生する核内寄生細

菌である。この細菌は、宿主の食胞を經由して細胞に入り、大核の核膜を貫通してその中で増殖するが、小核に

は感染しない。*Holospora* 属の細菌は他に 5 種類みつがっているが、いずれも *Paramecium* の大核か小核のどちらか一方の核に感染し、その中で増殖を行なう。したがって、これらの細菌は大核と小核における何らかのちがいを識別する能力を持っていると思われる。我々は、これらの細菌が *Paramecium* の大核と小核の核膜の何を識別して感染するのかを調べるために、単離した細菌と単離した核を用いた *in vitro* の感染システムを作る事を計画している。そのためには、ゾウリムシの核に感染する能力を持った細菌を得る事が必要である。ゾウリムシのホモジネートを Percoll で密度勾配遠心すると、*H. obtusa* を単離する事ができる。単離された細菌は、浮遊密度が 1.16 g/ml で、長さ 15 μm 、幅 1 μm の長い棒状の形態をしており、位相差顕微鏡で観察すると、その半分は白く光り、半分は黒く見える。白く見える部分の末端はわずかに黒くなっていて、核膜の貫通はこの末端でのみ行なわれ、もう一方の末端から核内に侵入する事はない。したがって、この末端部がゾウリムシの大核と小核の核膜のちがいを識別したり、核膜を貫通する機能を持っていると考えられる。4'-6-diamidino-2-phenylindol で染色して蛍光顕微鏡で観察すると、DNA は位相差顕微鏡で白く光った部分に局在している事が明らかになった。この単離した細菌をゾウリムシの外液に加えると、食胞を経由して15分以内に大核の核内に侵入した。しかし、大核の核膜を貫通中の細菌を観察すると、最初に観察された白い部分と黒い部分からなる内部構造は見られず、全体に均一の内部構造をしている事が明らかになった。すなわち、*H. obtusa* は単離された時と同じ形態を保って大核に感染するのではなく、宿主の細胞内で形態変化して大核に感染する事がわかった。そこで、単離した細菌をゾウリムシの外液に加えてから30分後に細胞をホモジナイズし、この間に宿主細胞内に取り込まれた細菌を密度勾配遠心で単離した。その結果、浮遊密度 1.16g/ml の細菌の一部が、核様体の分散を伴いながら、浮遊密度 1.13 と 1.11g/ml の細菌に変化する事が明らかになった。30分間に大核に感染した細菌数と 1.11g/ml の浮遊密度を持つ細菌数がほぼ一致することから、1.16 は食胞内の細菌、1.13 は細胞質中の細菌、そして1.11が大核内に侵入した細菌と考えられる。

3 種類の浮遊密度の細菌のどれが大核の核膜を貫通する能力を持っているかは不明であるが、密度と形態の変化を伴って大核への感染能力を持つようになる可能性が考えられるので、単離した大核とで *in vitro* の感染を行なわせるためには、これら 3 種類の浮遊密度の細菌を用意する必要が考えられた。

質問 遠藤 卓郎 (国立予研寄生虫部)

H. obtusa は host の phogosome に取込まれて、その後これをこわし、host の核へ移行すると考えておられますが、その時、host が死滅しないことから、この phogosome は lysosome の fusion がおきていないものと思われます。*H. obtusa* は phogosome の lysosomal fusion をおさえているのでしょうか？

回答

H. obtusa は最も早い場合、ゾウリムシの外液に加えてから10分で大核に感染します。新生された食胞にライソゾーム活性が出現するのは8分後であることが報告されているので、このバクテリアは食胞にライソゾームが融合する前に食胞から細胞質に出ている可能性があります。バクテリアがライソゾームの融合を阻害しているという可能性も考えられますが、これについては今後調べる予定です。

質問 福井 啓二 (早大理・物理)

1) *Holospora obtusa* が感染するとゾウリムシにはどんな変化が生じるのですか。

2) *H. obtusa* は感染した後どのような生活をするのですか。1)と関連して、この二つの生物の間には共生のような何らかの相互作用があるとお考えですか。

回答

1) と 2) *H. obtusa* の増殖は密主の増殖に良く適応していて、宿主が増殖をやめるとバクテリアも増殖をやめ、宿主が増殖を開始するとバクテリアも増殖を開始します。このバクテリアは、特定の株のゾウリムシでのみ維持されますので、バクテリアの増殖に宿主の遺伝子が関与している可能性があります。この点については、現在遺伝的解析をしているところです。

いまのところ、バクテリアが宿主の利益になっている現象はみつかっていませんので、両者の関係は片利共生(寄生)と考えています。

9. テトラヒメナの接合対形成に先立つ細胞形態の変化

三上 賢能, 藤島 政博
山口大学理学部生物学教室

*Change of cell shape during co-stimulation of
Tetrahymena thermophila*

Yoshitaka Mikami and Masahiro Fujishima
Biological Institute, Faculty of Science, Yamaguchi University

Tetrahymena thermophila は, initiation 期, CO-Stimulation 期を経て接合対を形成する. initiation 期を経過した相補的接合型細胞を25°Cで混合すると, 30分の CO-stimulation 期の後に最初の接合対が形成される.

我々は, CO-stimulation の初期に細胞の形態が変化することを見つけた. すなわち, 細胞の長軸の長さに対する短軸の長さの比が増加する. したがって, 混合前の細胞に比べて細胞が丸くなる. この現象を “synchronous rounding in CO-stimulation” 略して SRC と名付けた.

この現象は, CO-stimulation 開始後10分以内に誘導され, tip transtormation よりも早期に見られる現象である. すなわち, これまでに報告されているテトラヒメナの接合過程の可視的現象の中で最も早く見られる変化である.

この形態変化は, 片方の接合型細胞に, それと相補的接合型の細胞の外液を加えても誘導されないし, CO-stimulation 期の外液を加えても誘導されない. つまり, 外液には SRC を誘導するような要因は分泌されていないと考えられる. さらに, 接合対の形成を遅らせるために, initiation 期の相補的接合型細胞を緩衝液で洗浄した後に混合すると, 接合対形成の遅れと同じ時間だけ SRC の誘導も遅れることが明らかになった.

以上の結果は, SRC が接合対形成と密接に関係し, それに先立って誘導される現象であることを示している.

質問 渡辺 良雄 (筑波大・生物)

Tetrahymena は無機塩類液にうつすと分裂期に相当するところで rounding をおこします. そして rounding は通常と同調温度処理で synchronous rounding が誘導されるので, 私が1963年にこの現象をみつけ1966年 synchronous rounding と名付けました. 先生方の rounding とは軸比がちよっとちがうようですので, あるいはちがう現象かもしれません. 一度口部形態形成の状態をおしらべ下さると共に name も慎重にしてくださいと思います.

回答

相補的な接合型細胞を混合すると誘導される現象であるという点で, 渡辺先生がみつけた synchronous rounding とは異なります. この現象の名前は, “CO-stimulation induced rounding” にしたいと思います.

質問 樋渡 宏一 (東北大・理)

細胞を洗った液のイオン組成を教えてください.

回答

0.2% (V/W) NaCl, 0.008% (V/W)KCl, 0.012% (V/W) CaCl₂, 10mM Tris-HCl, pH 7.4 です.

10. 太陽虫の表層剝離と回復のメカニズム

重中 義信, 石亀 勝義, 石田 秀樹
 広島大学総合科学部情報行動科学教室

Mechanism of cortex shedding and recovery in Heliozoa

Yoshinobu Shigenaka, Katsuyoshi Ishigame and Hideki Ishida

Department of Information and Behavioral Science, Faculty of

Integrated Arts and Sciences, Hiroshima University

多核性の太陽虫 *Echinospaerium* 属は、細胞表面修飾剤のルテニウム・レッド (0.1~0.5mM) で処理すると、極く短時間で軸糸微小管の破壊による軸足の短縮が誘起されるが、その後、新しい培養液で洗浄すると、短縮して波状となった軸足を付着したまま古い表層部を脱ぎ捨て、内部より新しい原形質塊が脱出し、それが新生の太陽虫となることが判明した。我々の研究室では、この現象を表層剝離 (cortex shedding) と呼んでいる。本研究では、まず、このような表層剝離現象がどのような要因によって誘起されるのかを実験的に確かめ、次いで、表層剝離並びにその後の回復の過程を光学顕微鏡と電子顕微鏡で詳細に観察することによって、表層剝離のメカニズムと意義を探ることを試みた。

まず最初に、上述のルテニウム・レッド以外にも様々な刺激を与えることによって、同様な表層剝離現象が誘導されることが判った。その例を挙げれば、コンカナバリン A (0.1~0.5mg/ml), Na^+ 及び K^+ (10~50mM), Ca^{2+} 及び Mg^{2+} (10~50mM), La^{3+} (10~50mM), 蔗糖 (50~200mM), 海水 (50%) などである。これらで処理した場合の共通点は、いずれも30分以内で軸足が全長にわたって短縮することであり、細胞崩壊 (cytolysis) に至る前に新しい培養液で洗浄すればほとんどの場合、表層剝離現象が誘起されることであった。

次に、表層剝離とその後の回復のメカニズムを解明するために、0.1mM ルテニウム・レッドによる5分間処理を標準処理法として実験した。この処理によって、経時的な観察を続けると、軸足の短縮に続いて外質部に並ぶ液胞の左右両面が次々と融合し、それが細胞体全域に行き亘って表層剝離の準備が完了する。この時点で新しい培養液で洗浄すると、最高の頻度 (約97%) で表層剝離が誘起され、古い外質部の液胞の内面が内質表面を取り囲む新しい原形質膜となり、それが古い表層部の一部

を突き破って外方へ脱出することが判った。このようにして脱出した原形質塊は、時間の経過と共に新しい軸足を形成し、新生の太陽虫となる。なお、表層剝離の際に軸足内部の頼しい微小管は細胞質内に吸収されることなく破棄されてしまうため、この現象で多量の微小管タンパク質がならびに付随タンパク質が消失することとなる。従って、新生太陽虫においては、それらのタンパク質の生合成に始まって、微小管の再構成並びに軸糸パターンの再形成とそれに伴う軸糸の伸長など極めて長い時間 (8時間以上) をかけた回復過程が必要となってくる。そこで、この段階を超薄切片法によって電子顕微鏡で追跡すると、極く初期の段階で微小管タンパク質のプールと考えられる均質な物質の領域が出現し、それに次いで微小管小片の出現及び小軸糸の出現などが観察された。ただし、新生太陽虫の原形質内部には、表層剝離の際に内質部に残された微小管断片も存在しており、回復の過程で、この断片を中心とする二重渦巻が形成され、新軸糸となるケースも観察され。

以上の結果から、太陽虫では軸足並びに細胞体表面が何らかの理由で傷害を受けた場合、直ちに外質部の液胞を融合させることによって新しい細胞膜を形成して自己防御するという機構が働き、その要因が解除されれば、傷害を受けた表層部を剝離して破棄し、新生太陽虫となって再出発するものと考えられる。

質問 小山 力 (予研・寄生虫)

ectoplasm の shedding は、分裂増殖などの本来の生理作用に際してもおこなわれているのでしょうか。

回答

正常な状態では、表層剝離の現象は認められません。やはり、細胞表層部が損傷を受けた場合にのみ、その回復過程として起こるようです。

質問 北 潔 (順天堂大)

vacuole が shedding に応じて fusion するという事であるが, shedding に関してこの vacuole 中にプロテアーゼなどが存在し分解的な酵素が関与していると考えてよいのか。

回答

現在までの段階で, 外質部の液胞には酵素活性は検出されておりません。この shedding に伴う液胞の融合は単なる膜融合の現象であると考えています。

11. 太陽虫の細胞融合に伴う形態変化

磯村 真美, 石田 秀樹, 重中 義信
広島大学総合科学部情報行動科学教室

Morphological changes during the fusion process in Heliozoa

Mami Isomura, Hideki Ishida and Yoshinobu Shigenaka
Department of Information and Behavioral Science, Faculty of
Integrated Arts and Sciences, Hiroshima University

多核の太陽虫 *Echinospaerium* 属において観察される細胞融合には, 包囊形成後にみられるペドガミー (paedogamy) と, 栄養型のままで行われるプラスモガミー (plasmogamy) の二つの現象がある。今回は, 後者のプラスモガミーについて形態学的に詳細に追跡したので, その結果を報告する。

今回の実験材料は *Echinospaerium akamae* で 0.01% クノッブ液を培養液とし, 20±1°C の温度条件下で培養されたものである。

まず, プラスモガミーという現象の過程及び形態変化をより能率よく追跡するために, 細胞融合の頻度が高まる条件を決定した。すなわち, 外液に二価陽イオンと一価陽イオンを加えて融合率を調べてみた。なお, 融合率 (F. R.) は下記のようにして求めた。

$$F. R. (\%) = (No - Nt) / (No - 1) \times 100$$

No: 最初の細胞数

Nt: 各時間における細胞数

二価陽イオン (Ca²⁺) の効果を調べるには, まず, 培養液である 0.01% クノッブ液に塩化カルシウム (CaCl₂) を 1mM, 5mM, 10mM となるように溶かした。培養 4 日目の太陽虫を各実験液で 2 回ずつ洗い 1 時間置いた後, ディプレッション・スライドに 20 匹ずつ入れ, 1 時間ごとに個体数を数え, 融合率を求めた。0.01% クノッブ液で行ったものをコントロールとして比較してみると, 3 時間目までは 5mM, 10mM Ca²⁺ の場合とコントロールとはほとんど差はみられず, 1mM では少し融

合率が低かった。しかし, 4 時間目からは 5mM Ca²⁺ の融合率が非常に高まった。5・6 時間目には 1mM, 10mM の場合もコントロールより融合率が高くなった。このように二価陽イオン (Ca²⁺) には細胞融合を誘発する効果がみられた。

次に, 一価陽イオン (K⁺) の効果であるが, 上記と同様に外液中の塩化カリウム (KCl) の濃度を変えて, 融合率の変化をみた。コントロールと 1mM K⁺ とは各時間においてほとんど同じ融合率を示したが, 濃度に依存して, 融合率が低下することも判明した。10mM K⁺ 溶液では, 全く融合が起こらなかった。このように一価陽イオン (K⁺) には, 細胞融合を抑制する効果がみられた。

このように, 二価陽イオンが 5mM で存在するとき, 細胞融合の頻度が高まるので, これを以後の形態変化を追跡するための条件として決定した。この条件下で光学顕微鏡により, 細胞融合の過程を追跡した。太陽虫の細胞融合は大きく 3 段階に分けることができる。第 1 段階は 2 匹の太陽虫の軸足の先端が触れ合うことから始まり次第に両者の距離が縮まっていく。この段階は, 非常に不安定で, 近づいていた 2 匹の太陽虫が離れていくことがしばしば観察される。第 2 段階では, 軸足の先端が他方の細胞体表面に接触し, 以後軸足を短縮することによって 2 匹の太陽虫が近づいていく。やがて, 2 個体間の軸足が完全に消失し, 細胞体表面の細胞膜が融合を始める。これが第 3 段階の初期状態である。その後は, 次第

に2個体の中心間距離が短くなり、最終的には一匹のより大きな太陽虫となる。第1段階から第3段階の完全な1匹の太陽虫になるまでに要する時間は2時間前後である。

最後に、電子顕微鏡観察で得られた超微形態変化を報告する。今回は上述の第2段階における軸足の変化について詳細に調べた。第2段階にある2匹の太陽虫をグルタルアルデヒドと四酸化オスミウムで固定し、樹脂に包埋して超薄切片を作成した。これを酢酸ウランとクエン酸鉛で染色後、透過型電子顕微鏡で観察した。軸足の骨格である微小管の束は、本来、その基部が核膜に接着しているが、この段階では、その基部が核膜から離れ微小管が断片的に壊れている。また、少し上部では、微小管が波打つ形になって配列も乱れ、壊れている様子がみられた。このように、第2段階での軸足の短縮は、微小管の束が根元の方から次第に壊れることにより起こっていることが明らかになった。さらに、第3段階の細胞体表面の膜の融合に先立ち、軸足同志の膜が融合していることが判った。このとき、軸足の膜より突起物を出して融合しているが、この突起は相手の細胞を認識している

と考えられる。同様の突起は細胞体表面にもみられ、細胞体表面の原形質膜が融合するときも、この突起が有効に働くものと考えられる。

質問 高橋三保子(筑波大)

Fusion は2個以上の細胞でも起りますか。

回答

可能です。5匹ぐらいでしたら、容易に融合します。われわれの研究室では70~80匹融合したのを観察したことがあります。

質問 渡辺 良雄(筑波大)

Fusion がおこるとき、融合した軸足内の microtubule の束が核膜近辺で脱重合するにより、2つの細胞が接近し融合するのだと説明されましたが、脱重合だけでは接近するに要する力の発生が起るとは思えません。この点どのようにお考えでしょうか。御質問いたします。

回答

融合に関与している軸足以外の軸足は、基質に接着しているものもあります。接着している軸足が太陽虫の能動的な運動に関与しています。その運動と軸足の短縮によって接近していると考えています。

12. 太陽虫軸足の収縮力について

石亀 勝義, 石田 秀樹, 重中 義信
広島大学総合科学部情報行動科学教室

On the contraction force of heliozoan axopodia

Katsuyoshi Ishigame, Hideki Ishida and Yoshinobu Shigenaka
Department of Information and Behavioral Science, Faculty of
Integrated Arts and Sciences, Hiroshima University

太陽虫は軸足先端部にテトラヒメナなどの繊毛虫が付着すると、軸足を瞬時に収縮させて捕食する。収縮の速さは非常に速く、1mm/S 程度の時もある。これと同様な速い収縮は、軸足先端付近にアミノ酸を与えることによっても見られ、太陽虫がこれらの対象物を認識していることが考えられる。今回、我々は軸足収縮機構解明の一つのステップとして、収縮力を直接的に測定することを試みた。

測定の原理は、極めて簡単である。すなわち、ガラス針を用意して、その一端を固定し、他端に力を加える

と、ガラス針はたわむ。その力とたわみはフックの法則から比例関係にあることが分かっている。そこで、太陽虫軸足の先端部にガラス針の先を付着させ、軸足を収縮させると、ガラス針はたわみ、たわみの大きさから太陽虫の収縮力を求めることが可能である。この際、幾つかの問題点が考えられる。1つは、ガラス針と軸足との接着点の問題である。この接着力が、測定しようとする収縮力より弱い時には、ガラス針がたわんで縮力とつり合う状態になる前に、ガラス針は軸足から離れてしまう。しかし、この問題は、ガラス針先端に0.01%ポリ-L-リ

ジンを塗布することで、両者の接着力を強めて解決した。この場合の接着力は、測定した収縮力の大きさよりも十分大きいことが別の実験から分かった。第2の問題点としては、太陽虫とスライドガラスとの接着力の問題である。しかしこれもスライドガラスに0.01%のポリ-L-リジン塗布することで解決した。第3の問題点は、収縮を誘起させる方法であるが、これも、ガラス針先端に塗布したポリ-L-リジンを太陽虫が認識して軸足を収縮させることで解決した。第4の問題点は、ガラス針がたわむ時、収縮力と逆向きにガラス針に働く、粘性抵抗の問題である。ガラス針が、たわみによる収縮力とつり合って、静止した時には粘性抵抗は0となり問題はない。しかしたわみの途中で、もし粘性抵抗が大きいとすると、ガラス針に収縮力とは逆方向の無視できない力が働くことになり、測定結果の信頼性が失われる。しかしガラス針の粘性抵抗係数を別の実験で測定した結果、たわむ速さでの粘性抵抗の大きさは、十分無視できることがわかった。次に、本実験は、顕微鏡像をビデオ装置で記録し、それを後で詳細に解析した。結果として、ガラス針のたわみの大きさから、太陽虫は 10^{-9} (N)オーダーの収縮力で収縮することが分かった。

次に収縮力を出しうる要素を考察する。収縮力の構成要素としては、2つのものが考えられる。1つは軸足の表面力である。他の1つは、何か軸足内部に収縮を起こす機構が存在して、それが能動的に収縮力を発生させているという可能性である。表面力を測定すれば、軸足内

部に収縮力発生機構の存在の有無が判定できる。表面力測定も、原理的には収縮力測定と同じで、ガラス針のたわみ一力関係を利用する。太陽虫に10mM コルヒチン処理を行ない、軸足を微小管のみを壊すことによってゆっくりと短縮させる。このとき、ガラス針の先端を軸足先端部に付着させておき、ガラス針のたわみによって力の測定を行なった。ガラス針を軸足に接着する方法として、ポリ-L-リジンは使用できないが、何も塗布しないでガラス針を軸足先端部に付着させても、その接着力が十分大きいため問題はなかった。また、太陽虫をスライドガラス上で固定するために、カバーガラスで軽く押えておいて実験した。

結果として、軸足表面力は、 10^{-11} (N) オーダーであることが分かった。軸足収縮力が、 10^{-9} (N) オーダーで、表面力が 10^{-11} (N) オーダーであるため、太陽虫が軸足を収縮させる時には、内部に何か収縮力発生機構が存在しなければならないことが分かる。軸足内部を電子顕微鏡で観察すると、微小管の束である軸糸と平行に、つまり軸足の長軸方向にX小体と呼ばれる繊維状の束が存在する。X小体は軸足の折れた時や、収縮した時には顆粒状の形態をとる。軸足の伸びた状態と、収縮状態で、X小体の形態が違うこと、軸足が伸びた状態のとき、X小体は軸糸と平行に走る繊維状の束であること、またそのような構造体が軸足内で他に存在しないことなどから、X小体が、軸足収縮力発生機構であるという可能性は十分考えられる。この判定は、今後の研究課題である。

13. 繊毛虫 *Spirostomum* の収縮と弛緩

石田 秀樹, 石亀 勝義, 重中 義信
広島大学総合科学部情報行動科学教室

Twisting contraction and relaxation in Spirostomum

Hideki Ishida, Katsuyoshi Ishigame and Yoshinobu Shigenaka
Department of Information and Behavioral Science, Faculty of
Integrated Arts and Science, Hiroshima University

繊毛虫異毛類に属する *Spirostomum amibguum* は体長が約1mmにも達する大型の原生動物で、機械的・電氣的及び化学的な刺激によって、または、自発的に旋

転性の収縮を起こすことが知られている。この収縮及び収縮の際のねじれ現象は非常に速く、1/30秒以下の時間で伸びた状態から縮んだ状態となる。それに対して弛緩

は比較的遅く、1/2秒以上もの時間がかかって元の体形に回復する。

本研究では、光学顕微鏡下で収縮と同時に起こる体のねじれは、体表面の繊毛列の螺旋の巻き数の増加として観察され、螺旋の巻き数は弛緩した時で約1.1回転、収縮した時で約1.8回転であり、体の表面を前端部から後端部にわたって時計方向に巻いていることが分かった。

次に、このような回転性収縮と弛緩の機構について調べるために、超薄切片法による電子顕微鏡観察を行った。体表面に並ぶ繊毛の基部には、basal body (基粒体) と呼ばれる構造体があり、繊毛を持たない basal body と対を形成しているのが認められた。さらに、後者の繊毛を持たない basal body は20本足らずの微小管で構成されたシート状構造体と連結している。前後に並ぶ basal body からそれぞれ一枚ずつ伸びてきた微小管シートは上下に数枚ずつ重なり合っており、お互いに自由に滑り合わせる形態を示している。また、basal body と収縮性繊維である myoneme (糸筋) とは rootlet-like fiber (小根状繊維) で連結されている。myoneme は体の表面近くを細胞体全体にわたって網目状に配位しており、細胞の伸びた時には体軸と比較的平行に、縮んでいる時には無秩序な走行を示し、この縮んだ状態では、その網目がさらに細かくなることが観察された。したがって、*Spirostomum* の収縮時には、まず myoneme が収縮し、その収縮状態が rootlet-like fiber によって basal body のペアーに伝えられて繊毛間の距離が短縮し、それと同時に basal body のペアーに連結する微小管のシートを滑り合わせていることが予想される。また、弛緩時には、微小管シートがお互いに能動的に滑り合うことによって繊毛間の距離を引き延ばしているのではないかと思われる。

そこで、実際に繊毛間の距離 (center-to-center) を測定してみると、繊毛間距離は伸びているときで $3.05 \pm 0.05 \mu\text{m}$ 、縮んでいるときで $2.52 \pm 0.05 \mu\text{m}$ であった。したがって、収縮時には繊毛間の距離が短くなり、実際

に微小管シートがお互いに滑り合っていることが確認された。

さらに、回転性収縮のメカニズムについて考察すると、収縮の際のねじれの力は、myoneme によって発生した収縮力の分力として考えることができる。myoneme の収縮力は、一方で微小管シートの走行方向の接線方向に働き、上下に重なり合っている微小管シートをお互いに滑り合わせると考えられ、この分力と垂直な方向の分力としての力が細胞体表面のねじれを起こさせることが予測できる。この分力の発生は *Spirostomum* の繊毛列が弛緩時において体軸方向と平行でなく、わずかに螺旋状にねじれていることによって生じるものである。つまり、微小管シートの走行の接線方向と myoneme によって発生した収縮力の方向が一致していれば、細胞体にねじれを起こさせる方向の分力は発生しないはずである。

このように、繊毛虫 *Spirostomum ambiguum* は収縮力を発生する myoneme と伸長する力を発生する微小管シートの二種類の運動機構を持っており、この運動機構は、上述のような理由で、そのままねじれを起こさせる機構でもあったと考えられる。

質問 落合 勉 (早大・理・物)

myoneme と太陽虫軸足に存する収縮性繊維 (X小体?) の構造的類似性についてはどうですか。

回答

全く関係ありません。

質問 川上 久子 (鈴峯女短大)

- 1) EM試料作製時の固定条件をお教示願います。
- 2) EGTA を含む固定液で固定した虫体の長さは、伸長した生時のものと比較して何%位でしょうか。

回答

- 1) 2%グルタルアルデヒド、1%オスミウム、1mM MgSO₄、1mM Sucrose、1/30M phosphate buffer pH 6.8 です。弛緩溶液は 5mM EGTA を主体としています。
- 2) 90%以上の長さを保つことができます。

14. ツリガネムシ：グリセリン処理スパスモネームの収縮性に及ぼす Mg^{2+} の影響

落合 勉, 長谷川健司, 浅井 博
早稲田大学理工学部物理学科

Effects of Mg^{2+} on the contractility of the glycerinated spasmoneme of Vorticella

Tsutomu Ochiai, Kenji Hasegawa and Hiroshi Asai
Department of Physics, Waseda University

グリセリン処理ツリガネムシの柄 (stalk) の coiling は、スパスモネームの収縮によって引き起こされる。スパスモネームの収縮部位と柄の coiling や bending の関係はよく知られており (文献 1), 柄の coiling を研究することによって、スパスモネームの収縮状態をかなり明らかにすることができる。グリセリン処理スパスモネームは、 Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} , Tb^{3+} などのイオンの結合によって収縮するが、 Mg^{2+} はスパスモネームの収縮を引き起こすことはできない。しかしながら、生体のスパスモネームの近傍には 1mM~数mM の Mg^{2+} が存在すると考えられるので、スパスモネームにおける Mg^{2+} の役割を調べることは重要である。我々は以前に 0.6 M KCl 溶液中におけるスパスモネームの収縮性喪失現象について報告し (文献 2), その中で、スパスモネームの収縮性喪失が 1mM $MgCl_2$ の存在によって抑制されることを示した。そこで、今回は、スパスモネームが Mg^{2+} の存在によってより安定化し、その Ca^{2+} 収縮性が維持されるという仮説を検討するため、スパスモネームの収縮性が低下するアルカリ領域の pH において、収縮性の低下に及ぼす Mg^{2+} の影響について調べた。

実験方法：グリセリン処理の方法はこれまでと同様である。グリセリンモデルの収縮性を数量的に表現するためのパラメータとして、今回は、観察全個体数(50~600 個体)に対する coil した柄の割合を使った。グリセリンモデルを 10mM tris, 10mM glycine, 1mM EGTA を含む種々の pH buffer 溶液で12分間処理し、その後、0.1mM $CaCl_2$ を含むテスト溶液 (pH 6.8) の中で柄の収縮を調べた。初めに pH と KCl 濃度が収縮性にどのように影響するかを調べ、その後 Ca^{2+} の影響につい

て実験した。

結果と議論：溶液が pH buffer と 1mM EGTA だけを含む場合、溶液の pH を 7.5 から上げていくと、pH 7.8 付近からスパスモネームの収縮性喪失がおり、pH 8.5 ではほとんどすべての個体の収縮性が喪失した。収縮性が元の 1/2 に低下する pH (以下 $contr(1/2)$ と略す) は 8.0 であった。この buffer 溶液の中に 90mM KCl が存在すると、 $contr(1/2)$ は pH 8.8 に増加した。すなわち、適量の KCl 濃度は、スパスモネームをアルカリによる変性から守るように作用することがわかる。90mM KCl をイオン強度的に同等な 30mM $MgCl_2$ におきかえると、 $contr(1/2)$ は pH 8.4 付近に減少した。この実験結果は、pH 8.5, 90mM KCl 存在中で収縮性を維持しているグリセリンモデルを pH 8.5, 30mM $MgCl_2$ 溶液に移すと 5 分程度で収縮性を完全に喪失するという別の実験結果と対応している。

90mM KCl 溶液に 2mM $MgCl_2$ を加えると、 $contr(1/2)$ は、pH 9.3 に上昇した。また、KCl を含まない buffer 溶液に 2mM $MgCl_2$ を加えた場合も $contr(1/2)$ は著しく上昇し、pH 9.4 付近に達した。このように、アルカリ pH におけるスパスモネームの変性は、2mM $MgCl_2$ によって著しく抑制されることがわかった。

溶液中の $MgCl_2$ の量とスパスモネームの収縮性とのかわり合いを調べると、KCl が存在しない場合は、5mM の $MgCl_2$ が、90mM の KCl が存在すると、1mM の $MgCl_2$ が、収縮性保持のために最もよいこともわかった。

アルカリ pH 領域におけるこれらの Mg^{2+} の効果は、スパスモネームの変性又は収縮性喪失反応が、pH やイオン強度といった要因とは別に、 Mg^{2+} の影響を強く受

けることを示している。すなわち、 Ca^{2+} 収縮のものは別の 2 価金属イオン結合部位が存在し、この部位へのイオンの結合状態によってスパスモネームの収縮性構造の安定性が決まると考えられる。

- 文献 1. T. Ochiai, R. Hara, H. Asai, *Cytobios* **36** 95-105 (1983)
 文献 2. T. Ochiai, H. Asai, *Comp. Biochem. Physiol.* **70A** 479-84 (1981)

15. ナベヅル幼鳥にみられた *Hepatozoon* 様原虫

小 山 力

国立予防衛生研究所寄生虫部

清水 孜, 安田 宣紘, 河野猪三郎

鹿児島大学農学部獣医学科家畜病理学教室

Hepatozoon-like protozoa found in young cranes (Grus monacha)

Tsutomu Koyama

Department of Parasitology, National Institute of Health

Tsutomu Shimizu, Nobuhiro Yasuda and Isaburo Kono

Laboratory of Veterinary Pathology, Faculty of Agriculture, Kagoshima University

鹿児島市立平川動物公園でふ化飼育されたナベヅル (*Gurs monacha*) 幼鳥のうち 3 羽が、それぞれ 1983 年 8 月, 10 月, 1984 年 10 月に急死し、鹿児島大学農学部家畜病理学教室で剖検された。3 例とも外観はほぼ正常で栄養状態も良好であったが、肝臓が著明に腫大し、粟粒大から米粒大の白色斑がび漫性に多発、表面に隆起し、うっ血した実質と入り混ってモザイク様を呈した。剖面深部にも白斑はび漫性に分布していた。肝の体重比は通常の 2~4 倍に増大していた。顕著な脾腫の他は全身臓器に著変なく、肺に出血斑を認める程度であった。

組織学的には、肝門脈域に始まる広範な単核細胞浸潤がみられ、そのほとんどが以下に述べる原虫を容する細胞からなり、肝細胞の萎縮消失を引き起していた。脾にも原虫を容する細胞の巣状浸潤がみられた。全身臓器の血管内に多数の原虫寄生細胞がみられ、肺、骨髄、腎等に白血病様の病像を認めた。腸の粘膜固有層にも細胞浸潤が顕著であるが、原虫を容する細胞は少なかった。

血液および諸臓器の塗抹標本を Giemsa 染色で鏡検すると、大型コマ状の原虫が白血球や RES 系の細胞内に丸まり、あるいは細胞外に遊離して甚だ多数認められた。血液塗抹による虫体の測定値は、細胞外 14.0~22.0

$\times 7.0 \sim 10.0 \mu\text{m}$ (平均 $16.9 \times 8.5 \mu\text{m}$)、細胞内 $11.0 \sim 17.0 \times 6.0 \sim 11.0 \mu\text{m}$ (平均 $14.9 \times 8.9 \mu\text{m}$) で、これに達しない円形の未熟型もみられた。普通は 1 個の細胞に 1 匹寄生するが、2 匹のものも時々あった。コマ形あるいは曲玉状の虫体は濃青色、中央部より太い方の端に少し寄って淡赤色の大きな丸い核があり、赤染する明瞭な核仁がその 2/3 を占めていた。太い方の端は虫体の前端とみられ、赤紫色を呈し円錐形に近い形で終る。さらに濃赤色長円形の点がこの円錐形と核の間に、また、ほぼ同色の小粒が、虫体の後端と思われる細い方の端の先に 1 個ずつ認められたが、これらの素性については目下不明である。虫体は PAS 染色で弱陽性を示した。これらの虫体のほかに、ごく少数の宿主細胞内に無性的に分裂増殖を遂げたとみられる数個の小型虫体の集塊を認めた。そしてこれと対照的に前述の大型虫体は、宿主細胞内に大体 1 個寄生していることから有性生殖母体と推定された。このほかに肝、脾、肺、腎、骨髄などの病理標本内に無性生殖を思わせる像は全く見出さなかった。

原虫体の電顕的検索では、虫体の太い方の端に conoid や micronemes などの構造が認められ、この端が前端であること並びにこの原虫が Apicomplexa の仲間であ

ることを確認した。なお、細胞質内には多数の ribosomes, mitochondria, 小胞体, dense bodies などみられた。

以上の所見から、この原虫は Phylum Apicomplexa, Sporozoea, Subclass Coccidia, Order Eucoccidiida に属するものと思われるが、有性生殖母体様虫体が単個で宿主細胞に寄生することやその形態から Suborder Eimeriina に属するものとは考え難く、また conoid 構造が明瞭に認められることから Suborder Haemosporina に属するものでもないだろう。宿主の鳥体内で有性生殖がおこなわれないと思われることから *Lankesterella* とも考えられず、今のところ、Suborder Adeleina に属する *Hepatozoon* にもっとも近いものと考えている。今後 vector の発見、ならびに vector 内における有性生殖の確認など生活史の全貌を明かにして種名を確定したい。なお、ツルにおける *Hepatozoon* 寄生

の報告は未だ見あたらず、さらに寄生虫学的、疫学的検討を進めつつある。

質問 小林 正規

- ① ヘパトズーン様幼虫が見つかったのは平川動物公園でナベヅルだけに検出されたのかどうか？
- ② 冬鳥として渡来する野生のナベヅルにもこの種の原虫が見つかるかどうか？

回答

- ① ナベヅル幼鳥だけです。同時に孵化飼養されたアネハヅル幼鳥などは無事に育てております。
- ② 鹿児島県出水地方で越冬するナベヅル、マナヅルの斃死例を昨年度は12羽剖見し、5羽の肝・脾に同種原虫と思われる原虫の寄生による病変を認めています。1月頃は小さい病巣、3月には大病変と進行する傾向もうかがえます。なお、マナヅルにも、この同様の原虫の寄生を1例認めております。

16. テトラヒメナ・リソゾーム酵素の糖鎖構造

坂野 喜子, 佐々木 昇, 野沢 義則
岐阜大学医学部生化学教室

谷口 隆弘, 水落 次男, 木幡 陽
東京大学医科学研究所

Carbohydrates of lysosomal enzymes secreted by Tetrahymena pyriformis

Yoshiko Banno, Noboru Sasaki and Yoshinori Nozawa
Department of Biochemistry, Gifu University School of Medicine

Takahiro Taniguchi, Tsuguo Mizuochi and Akira Kobata
Department of Biochemistry, Institute of Medical Science, University of Tokyo

リソゾーム酵素の細胞外への分泌は多くの細胞系において知られており、テトラヒメナ細胞においても古くから明らかにされている。しかしその機構に関しては不明な点が多く、細胞より異なったいくつかの経路が示唆されている。テトラヒメナのリソゾーム酵素の分泌は外部環境因子により調節され、単に消化排泄の結果ではないと思われる。高等動物細胞ではリソゾーム酵素の細胞外への分泌は、酵素の構造修飾によって引き起こされ、糖

鎖構造の異常がリソゾーム内への移行を阻害し、細胞外へ分泌される。ところで、テトラヒメナのリソゾーム酵素の糖鎖構造を明らかにすることは、分泌の機構を知る上で重要な知見が得られる。そこで、テトラヒメナから分泌された三種類のリソゾーム酵素を単離・精製し、それらの生化学的性状を細胞内のものと比較検討し、また酸性ホスファターゼと α -グルコシダーゼについて糖鎖構造を決当し、分泌の機構について考察した。

T. pyriformis W. strain は細胞の増殖に伴い多量にリソゾーム酵素を細胞外に分泌する。培養液を硫酸濃縮後、DEAE-セファデックス・カラムクロマトグラフィーにより酸性ホスファターゼと α -グルコシダーゼを分離した。それぞれゲル透過とイオン交換カラムクロマトグラフィーを繰り返し行うことにより精製し、電気泳動的に単一バンドを示した。

細胞外に分泌された酵素と細胞内リソゾーム酵素の生化学的性状について比較を行なった。細胞外に分泌されたプロテアーゼは、アミノ酸組成および免疫学的性状からは細胞内のものとはほとんど区別できなかった。 α -グルコシダーゼについては、グリコゲンとマルトースに対する親和性は両者とも一致しており、免疫学的性状を検討したところ両者は完全に一致する一本の沈降線を示した。酸性ホスファターゼについても基質との親和性、55°Cでの熱安定性、フッ化ソーダによる阻害パターン、および至適pH等すべてにおいて両者はほとんど区別されなかった。このように三種の酵素について、細胞外に分泌された酵素と細胞内酵素は、酵素化学的および免疫学的性質にはほとんど相違なく、分泌の過程で酵素の修飾は起こらないものと推測された。

そこで高等動物では、リソゾーム酵素のプロセッシングやリソゾームへの移行過程で糖鎖構造の異常が分泌を引き起こすことが知られており、テトラヒメナのリソゾーム酵素の糖鎖構造の決定を試みた。細胞外へ分泌されたリソゾーム酵素の中で、 α -グルコシダーゼと酸性ホスファターゼについて糖鎖構造を比較検討したところ、両酵素は3~5分子のマンノースを骨格とする高マンノース型糖鎖構造を有した。テトラヒメナ・リソゾーム酵素のマンノースの結合様式は、高等動物のリソゾーム酵素で知られている結合型とは異なっていた。また、酸性ホス

ファターゼにはグルコースを含む高マンノース型糖鎖が見い出され、 α -グルコシダーゼの糖鎖とは異なっていることが明らかにされた。

これらの糖鎖構造からテトラヒメナのリソゾーム酵素は、正常の糖タンパク質の生合成経路と異なる alternate pathway として知られている経路で合成されていることが推察された。また、粘菌や線維細胞で見られるマンノース・リン酸を有しない。このように他の細胞と異なる糖鎖構造を示すことは、リソゾーム酵素の生合成、プロセッシングおよび分泌の過程も異なっていることを推測させ、細胞内リソゾーム酵素の糖鎖構造の解明とともに興味深い問題である。

質問 北 潔 (順天堂大)

テトラヒメナの酵素に対する抗体は高等動物の酵素と crossreact するか？

またこの抗体が酵素のどの様な部分(蛋白又は糖鎖)に対してできた抗体であるか調べているか？

回答

実際に検討してありませんが、たぶん cross reaction はないと思います。

抗体により活性は失活しますので catalytic site を含んでいないと思います。

質問 渡辺 良雄 (筑波大・生)

大変興味あるお仕事ですが、ここにお示しされた糖の modification は高等動物でのものとどんなちがいがございましょうか？

回答

粘菌や高等動物のものと異なり、マンノースホスフェイト部分がありません。マンノースの結合様式が通常のものとは異なり alternate pathway で作られる糖鎖構造を有しております。

17. テトラヒメナ・リソゾーム酵素の分泌機構

佐々木 昇, 坂野 喜子, 野沢 義則
岐阜大学医学部生化学教室

Differential secretion of lysosomal enzymes in Tetrahymena pyriformis

Noboru Sasaki, Yoshiko Banno and Yoshinori Nozawa
Department of Biochemistry, Gifu University School of Medicine

テトラヒメナ細胞は、細胞外に多くのリソゾーム酵素を分泌することが古くから知られており、その機構と生理的意義の解明は酵素のリソゾームへの局在化機構との関連において興味ある課題である。リソゾーム機能を有するこの細胞は好都合な実験材料であると思われる。我々はいくつかの酵素の分泌速度を詳しく解析し、細胞内 pH の上昇に対する分泌の影響を検討した。

テトラヒメナ細胞は、2% プロテオース・ペプトン栄養培地で生育させた場合も無栄養培地中でも多量のリソゾーム酵素を細胞外に分泌することが知られている。*Tetrahymena pyriformis* strain W は 28°C, 2% プロテオース・ペプトン栄養培地で培養すると約40時間で静止期に達する。細胞増殖に伴い細胞外へ多くの種類のリソゾーム酵素が分泌される。各生育段階で細胞内と細胞外の総活性を比較したところ、ヘキササミニダーゼは発育期から細胞外活性の方が細胞内より高く、静止期では細胞内は若干減少するのに対し、細胞外に著しく増加する。 α -グルコシダーゼも同様の傾向を示し、静止期では細胞外は細胞内の約2倍の総活性を示した。一方、酸性ホスファターゼに関しては、各ステージとも細胞内の方が細胞外より高く、静止期での細胞外への分泌はむしろ減少していた。また、無栄養培地でインキュベートした場合も、テトラヒメナは多量にリソゾーム酵素を分泌する。4時間のインキュベーションで、テトラヒメナは無栄養培地に移す以前の細胞内総活性100に対して80%のヘキササミニダーゼ、60%の α -グルコシダーゼを細胞外に分泌する。一方、酸性ホスファターゼは4時間で20%の分泌を示すにすぎず、細胞増殖の場合と同様に酵素によって分泌速度が異なっている。無栄養条件下で種々のリソゾーム酵素の分泌速度を測定した結果、1時間当たり3~5%と低い速度で分泌されるグループと、11~22%の間で速く分泌される2つのグループに分けられ

る。遅いグループには、酸性ホスファターゼ、 β -グルコシダーゼ、 α -ガラクトシダーゼが含まれ、速い分泌速度を示すグループとして、ヘキササミニダーゼ、 α -グルコシダーゼ、 α -マンノシダーゼと β -ガラクトシダーゼが分類された。このような分泌速度の差は、かならずしも細胞内の活性の強さとは比例しない。Blum らにより、テトラヒメナのリソゾームは不均一分布を示し、比重の重いものと軽いものに分離され、一般に重い比重のリソゾーム顆粒に含まれる酵素が分泌されることが示された。そこで、このような分泌速度の差は、細胞内での分布の違いによるものか否かを調べるために、Percoll 密度勾配法で分けられた10画分についてヘキササミニダーゼと酸性ホスファターゼ活性の分布を検討したところ、比重の異なる2つの画分に主な活性を検出したが、両酵素の分布上の差はほとんど認められず、分泌速度の差が単に細胞内分布の差に起因するとの結論は得られなかった。

ついで、種々の代謝阻害剤の分泌速度への影響を検討した。テトラヒメナのリソゾーム酵素の分泌は 1mM NaN_3 で完全に阻害され、エネルギー依存性であることが示された。また、無栄養培地中でのインキュベーションで、ヘキササミニダーゼの総活性（細胞内と細胞外の活性の総和）はインキュベーション前の細胞内の活性に対し、3時間で170%にまで上昇した。この活性の上昇は 50 $\mu\text{g/ml}$ のシクロヘキシミド添加により完全に阻止された。シクロヘキシミドは分泌速度にも影響し60%阻害を示した。酸性ホスファターゼの総活性に対しては影響を与えないが、分泌速度に対しては若干の阻害を示した。このことはヘキササミニダーゼの分泌にタンパク合成の増加が関与していることを示唆する。

リソゾーム内は一般に酸性であるとされており、リソゾーム内の pH を上昇させる弱塩基化合物によるプロセ

シングの異常, 細胞外分泌の促進が報告されている。そこでテトラヒメナにおける弱塩基化合物のリソゾーム酵素の分泌への影響を検討した。10mM NH_4Cl やクロロキンはヘキササミニダーゼの分泌を阻害し, 細胞内の蓄積を示した。この弱塩基物はヘキササミニダーゼの総活性の上昇に影響を与えず, 酵素の細胞内局在の変化をもたらすものと思われる。酸性ホスファターゼに対しては軽度の影響を示した。モネンシンは酸性ホスファターゼの分泌を最も強く阻害した。

以上のようにテトラヒメナ細胞は, 多種のリソゾーム酵素を細胞外に分泌し, 分泌速度の差, または弱塩基化合物に対する感受性のちがいがから, 主な2つの酵素グル

ープに分けられた。また分泌過程に細胞内 pH が関与していることもあわせて示された。

質問 渡辺 良雄 (筑波大・生)

各分泌酵素の分泌速度がコンパートメントによらず, むしろ膜への結合などに依存しているのではないかとの結論のように思いますが, 今後どのような証明が考えられますでしょうか?

回答

アメーバーで証明されているように, 種々の状態での顆粒を分離し, 膜への結合状態を調べることにより証明されるものと思います。

18. テトラヒメナ形質膜のカルテデュリン依存性 グアニル酸シクラーゼの部分精製とその性質

長尾 清治, 野沢 義則
岐阜大学医学部生化学教室

Partial purification and some characterization of calmodulin-dependent guanylate cyclase from the plasma membranes of Tetrahymena pyriformis NT-1 Cells

Seiji Nagao and Yoshinori Nozawa

Department of Biochemistry, Gifu University School of Medicine

種々の組織で, グアニル酸シクラーゼは可溶性および膜結合性の両方の形で存在している。可溶性酵素はすでに多くの組織から均一なタンパク質にまで精製されているが, 膜結合性酵素ではウニ精子などの場合を除いては十分に精製がなされていない。一方, カルモデュリンは細胞内カルシウム受容体として諸種の酵素活性の調節に関与していることが明らかにされている。ところで演者らは, テトラヒメナ細胞のグアニル酸シクラーゼは形質膜および繊毛膜に局在し, しかも他組織由来のグアニル酸シクラーゼと異なりカルモデュリンによって活性化されることをすでに報告した。そこで, この活性化機構を調べる目的から, テトラヒメナ形質膜のグアニル酸シクラーゼの可溶化, 部分精製を試みその性状を検討した。

テトラヒメナ形質膜は Nozawa & Thompson の方

法, カルモデュリンは Kakiuchi らの方法により調製したものをを用いた。また, グアニル酸シクラーゼ活性は Nakazawa らの方法で測定した。一般に哺乳動物組織から得られた膜結合性グアニル酸シクラーゼは, 界面活性剤の添加によって活性化されることが報告されているが, テトラヒメナ形質膜のグアニル酸シクラーゼ活性は種々の界面活性剤 (Triton-X 100, Lubrol PX, Brij 56, Tween 20, 胆汁酸, ジギトニン) により逆に抑制された。上記の界面活性剤のうち, ジギトニンがもっとも抑制効果が少なく, 0.5% のジギトニンと形質膜を1時間インキュベーション後, 105,000×g の遠心をおこなったところ, 約30%のグアニル酸シクラーゼ活性が可溶性画分に得られた。なお, この可溶化にはカルシウムとグリセロールの存在が必要であり, それらを加えない場合に

は可溶性画分に回収される酵素活性は著しく低下した。また可溶化後のグアニル酸シクラーゼに対するカルモデュリンの活性化効果は、EGTA 存在下でインキュベーションすることにより喪失することから、カルモデュリン感受性はカルモデュリンと酵素が結合し安定化されていることが推察された。DE-52 イオン交換クロマトグラフィー、ついでカルモデュリン-セファロース・アフィニティクロマトグラフィーにより、可溶化されたグアニル酸シクラーゼの部分精製をおこなった。これらの操作によりグアニル酸シクラーゼの比活性は10倍増大し、回収率は6%であった。部分精製された酵素は膜結合性酵素と同一の性状を有することが示された。すなわち、1) 至適 Mg^{2+} あるいは Mn^{2+} 濃度は5mM以上で得られ、 Mg^{2+} 存在下に比し Mn^{2+} 存在下では3倍高い比活性を示した。2) Mn^{2+} -GTP, Mg^{2+} -GTP に対する見かけの k_m 値はそれぞれ $30\mu m$, $140\mu m$ であった。3) カルモデュリンによる活性比の程度は膜結合酵素に比べ減弱していたが、部分精製された酵素もカルシウム依存的にカルモデュリンにより活性化を誘起された。セファクリル S-300 を用いたゲル濾過により、部分精製されたグアニル酸シクラーゼは分子量 7×10^5 Da 以上の位置に溶出された。従来、ウニ精子、ラット腎臓などの膜結合性グアニル酸シクラーゼでは $1.5 \times 10^5 \sim 3 \times 10^5$ Da の分子量が報告されており、テトラヒメナのグアニル酸シクラーゼはそれらに比しかなり大きな分子量を有することが明らかにされた。

ところで、テトラヒメナのカルモデュリンは哺乳動物のカルモデュリンと比べ、11カ所でアミノ酸の置換がおこっており、本細胞のグアニル酸シクラーゼの活性化をはじめ種々の特異性をもつことが報告されている。したがって、精製グアニル酸シクラーゼとカルモデュリンの相互作用を調べることにより、本カルモデュリンの特異

性が明らかにされる。

質問 渡辺 良雄 (筑波大・生物)

1. グアニレートシクラーゼの精製は大変むずかしそうですが、一応 calmodulin で活性化されるものが回収率は悪いけどとれてきたと考えてよろしいですか？
2. また、精製標品では Ca^{2+} の増量で活性が低下している data を示されましたが、これはどうお考えになっておいでですか？

回答

1. 回収率は6%と低い訳ですが、一応、カルモデュリンによって活性化がみられます。しかし、この段階の酵素はまだ均質ではなく (SDS 電気泳動上) さらに精製をすすめる必要があると考えております。
2. この Ca による活性低下は、部分精製標品だけではなく、膜結合性の状態にあるテトラヒメナグアニル酸シクラーゼでも認められます。

このことにつきましては、証明はしておりませんが、グアニル酸シクラーゼの基質が Mg^{2+} -GTP という形でありますので、 Ca^{2+} -GTP といったようなものができてしまい有効 Mg^{2+} -GTP の低下をきたした可能性もあると思います。

質問 北 潔 (順天堂大)

detergent を除く事により活性が回復するという現象はみられないか？もしみられれば他の cofactor との相互作用について情報が得られると考えられる。

回答

Detengent の濃度を低下させた場合、活性の回復はみられませんでした。

しかし Detergent 濃度を下げる。あるいは、なくした状態でリン脂質などの添加を行い、さらに御質問の点については検討していきたいと考えております。

19. 石手川ダム湖における渦鞭毛藻 *Ceratium hirundinella* の淡水赤潮

川端善一郎, 板坂 努, 金納 英俊, 香川 尚徳
愛媛大学農学部環境保全学科

Some observations of the freshwater red tide caused by the dinoflagellate Ceratium hirundinella in the Ishitegawa Reservoir, Ehime Prefecture

Zen'ichiro Kawabata, Tsutomu Itasaka, Hidetoshi Kanno and Hisanori Kagawa
Department of Environmental Conservation, Ehime University

近年, 各地のダム湖で淡水赤潮が発生している。特に上水用のダム湖では淡水赤潮が異臭味や戸過閉塞を起し, 水質管理上問題となっている。淡水赤潮の原因種は様々であるが, 渦鞭毛藻の *Peridinium* の事例が最も多い。それゆえこの種の生理生態学的研究が数年来活発に行われている。愛媛県松山市にある石手川ダム湖においても, 湛水2年後の1975年以来毎年冬季にダム湖上流端で *Peridinium* 赤潮が発生しているが, 1984年の夏季には, *Peridinium* 赤潮と同様に, ダム湖上流端で渦鞭毛藻の *Ceratium hirundinella* (O. F. Müller) Berg の赤潮が発生した。いくつかのダム湖において, *C. hirundinella* が赤潮を形成した事例報告はあるが, この種の赤潮形成機構に関する研究は筆者の知る限りみられない。そこで, *C. hirundinella* の赤潮形成機構の解析の第一段階として, 筆者らは石手川ダム湖における *C. hirundinella* の個体群動態と赤潮形成時期の水質環境の調査を1984年に行った。本報告ではその結果の概要を述べるとともに, 筆者らが行って来た同ダム湖における冬季の *Peridinium* SP. 赤潮の調査結果を用いて, 両種の赤潮現象の類似性について比較検討する,

石手川ダム湖はその全長が約2.3 km, 湖面積が0.5 km², ダムサイトの水深が約55mの湖である。上流端とダムサイト間の流心部に約100m間隔に27箇所の調査地点を設けた。3月7日から11月6日までの期間に計15回, 水深0.5mにおける個体数調査を行った。その結果, 1) *C. hirundinella* は水温が10℃前後の3月下旬に上流端で発生し, 水温の上昇に伴い, 次第にその分布域が下流へ広がって行った。2) 10月以降を除くいづれの時期においても *C. hirundinella* の個体群密度は上流からダムサイトに向かって指数的に減少した。3) 7

月には上流端で赤潮が形成された。この時の個体群密度は1 ml 当り1316細胞であった。

Peridinium SP. の発生も水温が10℃付近でみられる(香川ら, 1984)が, これは水温下降時期の12月初旬にあたる。また, 本調査期間でみられた *C. hirundinella* の個体群密度の分布パターンが1983年にもみられたことから, 指数的減少パターンは *C. hirundinella* の基本分布パターンと考えられる。*Peridinium* SP. の個体群密度も上流端で高いが, 増殖期にその分布域が上流端のみに限定されるという差異もみられる。なお, *Peridinium* による赤潮が通常冬季に上流端で形成され, その個体群密度は1 ml 当り 10⁴ 細胞にも達する。

赤潮形成期の *C. hirundinella* の鉛直分布パターンは相対水中照度の鉛直分布パターンとは一致しなかったが, 水温の鉛直分布パターンと一致した。すなわち水温が高いほど個体数も多かった。また夜間には表層の個体数の減少と深部の個体数の増加がわずかにみられた。

冬季の水温は鉛直にほぼ均一であるが, *Peridinium* SP. の個体群密度は表層で特に高い。また夜間には表層の個体数が減る点は *C. hirundinella* の鉛直移動に相当する。

上流端の表層水中の NO₃-N 濃度は約 0.23 mg·l⁻¹, PO₄-P 濃度は 2 μg·l⁻¹ 以下で, 湖内ではリンが増殖の制限栄養塩になっている。一方, 赤潮形成時期の流入水中の NO₃-N 濃度は 0.85~1.07 mg·l⁻¹, PO₄-P 濃度は 5~23 μg·l⁻¹ で, 流入水からの栄養塩負荷が赤潮形成に重要な要因となっていることが示唆された。

冬季の湖水の水質環境についても, リンが増殖の制限栄養塩となっている(香川ら, 1984)が, 平常流の流入河川水中の PO₄-P 濃度は約 5 μg·l⁻¹ で湖水のそれより

わずかに高い。また降雨に伴う河川水の流入量と PO_4-P 濃度(約 $20\mu g \cdot l^{-1}$)の一時的増加後に *Peridinium* SP. の増殖がみられる現象は、流入河川水からの栄養塩の高負荷が重要な要因となっていることを示唆している。

以上に述べたように、*C. hirundinella* と *Peridinium* SP. の動態と、それらに係わる環境要因は相互に類似している場合がある。同一の視点から両種の赤潮形成機構の解析を行うことは、種の特異性にとらわれない一般的な理解に役立つものと思われる。

質問 盛下 勇(環境技研)

1) 貯水池に流入する河川水量(滞留時間)と分布の関

係はいかがでしょうか。

2) アミノ酸、マンガ等の発生はいかがでしょうか。

回答

1) 滞留時間はダム湖全体では45日位です。ダム湖上流端ではその数10分の1以下となります。この滞留時間が短いダム湖の部位で最も個体数が多く、赤潮状態となります。

2) まだ検討しておりません。その理由は、いまだ単離培養ができておりません。混合培養系を使用して、それらの影響を調べることに、今検討中です。

20. 活性汚泥棲原生動物群集の実態について

角本 正明, 木元 朋子

環境調査技術研究所

Protozoan community in activated-sludge

Masaaki Kakumoto and Tomoko Kimoto

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、盛下ら(1972年・夏季および冬季調査)による全国138箇所の調査が実施された後、広範囲にわたる追加調査は行われていない。

その後、下水排除方式の変化や、食生活の変化に起因すると考えられる下水水質の変化が推定され、これらによる活性汚泥棲原生動物群集の変化の可能性を追跡調査した。

建設省土木研究所の協力を得て、全国330余の処理場を対象に、1983年8月から1984年5月にかけて四季の試料、延べ1483試料を検鏡した。その結果を報告する。

2 調査結果

(1) 出現属種数について

我国の活性汚泥棲原生動物属種数は、盛下(1972)によれば85属187種とされている。一方、本調査ではこれら以外に、鞭毛虫亜門7属7種、肉質虫亜門6属9種、繊毛虫門26属31種の計39属46種が新規に検出され、活性汚泥棲原生動物属種数は延べ124属233種となった。

出現属種数のランク別度数分布を用いて季節別比較を

したところ、春・夏・秋季については、いずれも11~15属の事例が最も多く、度数分布は類似していた。これに対して冬季の場合は、6~10属の事例が最も多く、他の季節とは異なる分布を示した。

同様に東日本と西日本地方に大別して比較を行った。ここで、北海道・東北・関東甲信越を東日本とし、中部・近畿・中国・四国・九州を西日本とした。春・夏・秋季については、両地方間の度数分布に差異は認められなかったが、冬季については、東日本の場合11~15属、西日本の場合6~10属の事例が最も多く、差異が認められた。

(2) 代表的出現属種について

本調査において出現頻度の高い、代表的出現属種は、*Vorticella*・*Monas*・*Amoeba*・*Aspidisca*・*Cochliopodium* などであった。夏季と冬季について、出現頻度10位までを用いて1972年調査と比較すると、本調査では新規に出現した種類が含まれており、1972年調査時とは群集構成に差異がある事がうかがえる。

(3) 現存量について

本調査における四季の平均細胞数は、活性汚泥混合液

1ml 当たり春季（5月）で 3.27×10^4 ・夏季（8月）で 1.17×10^4 ・秋季（11月）で 2.85×10^4 ・冬季（2月）で 2.05×10^4 と春季が最も大きい値を示した。

四季の細胞数ランク別度数分布を地方別に比較したところ、東日本・西日本ともに類似した分布を示した。

同様に、夏季と冬季について、1972年調査の場合と比較したところ、夏季については類似した分布を示したが、冬季については、1972年調査では1000～5000細胞の事例が最も多かったのに対して、本調査では10000～15000細胞の事例が最も多かった。また冬季の平均値で比較しても 6.55×10^8 （1972年調査）に対して $2.05 \times$

10^4 と本調査の方が現存量が多い事がわかった。

3 結論

1972年調査結果と本調査結果を比較検討したところ、新規出現属種の検出、出現頻度の高い代表的出現属種についての变化、冬季現存量の増大などから、約10年間に活性汚泥棲原生動物群集に変化が生じた可能性は大きいと言えよう。

今後、同一処理場間での詳細比較による検討、群集の変化の原因追跡、原生動物群集構成状況をういた処理状態判定の可能性に関する検討などを実施していきたいと考えている。

21. 繊毛虫類の分類および生態に関する研究 II.

海洋の微生物・原生動物群集内における食物連鎖

前田 昌 調
東京大学海洋研究所

Studies on the taxonomy and ecology of ciliates II.

Food chain in microbial and protozoan communities in the sea

Masachika Maeda

Ocean Research Institute, University of Tokyo

食物連鎖は生物種数の増加にともないより複雑となる。この系を眺望する立場においては「食物網」と称す傾向にあるが、現実には物質転換率等を考える場合、各経路を個別に検討しなければならぬ。従って、近年連鎖経路を単純化する reductionism が優勢となり、小規模と考えられる経路は切捨てられてきた。

食物連鎖の幹線経路の一つは、第一次生産者（海洋では主として植物プランクトンが相当する）より草食動物にいたる物質移行過程であり、従来の連鎖研究では第一次生産量は動物によってすみやかに消費されると考えられてきた。しかし、動物プランクトン餌料としての第一次生産量の不足については、多くの水域において指摘されている。一方、細菌現存量が植物プランクトン量に匹敵する場合が多く観察され（前田, 1982）、細菌等の微生物を中心とした微生物食物連鎖（microbial food chain）の意義が認識されるにいたった。微生物食物連鎖は、光合成活動の行なわれない深海、落葉等の腐植が

進行しているマングローブや海草生態系、そして流入有機物量の多い沿岸水域等においては主たる物質移行経路と考えられてきた。近年、光合成が唯一の有機物生産と考えられる外洋水域においても、細菌は藻類細胞の分泌物、動物プランクトンよりの分泌・排泄物等に由来する有機物を摂取して細胞を形成することが明らかにされ、その量は第一次生産量の40%に相当するとされている（Williams, 1981）。

動物プランクトンによる細菌の摂食に関しては、多くの報告がなされているが、一方、海洋にはプランクトン性繊毛虫、鞭毛虫の量も多く、例えば繊毛虫の細菌摂食速度は $10^5 \text{ cells} \cdot \text{animals}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ にいたる高い値であることより、細菌-原生動物-動物プランクトンの食物移行経路が重要視されている。食物連鎖においては、物質は異なる栄養段階に移行する際1/10程度に減少し、また、同じ栄養段階における物質移動経路の存在は、高次栄養段階への物質移行率をより減少させるといわれて

いる。しかし、生物は小型化するとともに生産効率が增大するため、従属栄養生物（細菌、原生動物等）間の餌料転換率は大型生物よりはるかに高い。よってこれら原生動物が栄養段階の低次部分の土台として果たす役割は大きいといえる。

微生物食物連鎖においては、酸素必要量の維持および NH_4^+ 等の有害物質の拡散・除去が行なわれうる場合には、物質移行が進行する。この系は、水産増養殖にも利用され、クルマエビ幼生、ワムシ、アルテミア、ティグリオプスなどの動物プランクトンが培養されてきた。筆者はガザミ (*Portunus trituberculatus*) 幼生生産槽内の微生物・原生動物の量的変動を調べたところ、幼生はふ化 (Zoea I 期) した直後には細菌と鞭毛虫を摂食し、Zoea II 期への脱皮開始とともにケイ藻を食す。このように、ガザミ幼生は Z_I より Z_{II} にいたる数日間に細菌—原生動物—ケイ藻の餌料を選択摂取し、その分留りはケイ藻のみを用いた従来の方法よりもさらに高くなった。この結果は、微生物餌料のサイズの適合性のみならず、その栄養価値の重要性をも示唆している。

Stoecker *et al* (1985) は、動物プランクトン copepods の種類である *Acartia* が鞭毛藻よりも繊毛虫 tintinnids を選択的に摂食することを見出した。Ustach (1982) は Copepods *Heteropsyllus* にデトリタスを与えた場合、藻類を餌料とした場合よりも抱卵数が増大したと報告し、また、Heinle *et al* (1977) は、*Euryte-*

mora の幼生生産率は繊毛虫等の原生動物を餌料とした場合に高まると述べた。このように微生物餌料を使用した場合には、生殖・産卵等の生物体謝活性が増大するものと考えられるが、copepods に細菌を与えた場合、動物体内で、海産動物の必須栄養素である高度不飽和脂肪酸含量が増加することが判明している (季, 1983)。このように自然生態系において、細菌・原生動物を主構成生物とした微生物食物連鎖 (microbial food chain) は規模、質とともに重要なエネルギー移行過程であると考えられる。

従来の食物連鎖研究では、第一次生産より草食動物にいたる経路を“生食連鎖”、“植食連鎖 (grazing food chain) あるいは広義に“捕食連鎖” (predator food chain) とよび、一方、生物の死体、排泄物など有機物の分解過程よりはじまる食物連鎖を“腐食連鎖”、“デトリタス連鎖”、“浮泥食物連鎖”、“有機堆積物食物連鎖” (detritus food chain)、あるいは腐生連鎖 (saprophytic chain) と称している。しかし、生物遺骸の栄養価値は少なく (Harrison and Mann, 1975)、附着微生物が餌料の主構成要素であると考えられる理由から、国外においては用語 detritus food chain よりも microbial food chain が多く用いられはじめている。これに対応する日本用語としては、従来の「腐食連鎖」等に代わり、「微生物食物連鎖」および「菌食連鎖」を用いる方が適当と考える。

22. 海浜における原生動物の動態 XII. 台湾産殻アメーバ類

鈴木 實

日本大学法学部大宮校舎生物研究室

Protozoans in the marine beach interstices. XII.

Psammophilous Testacea from Taiwan (Formosa)

Minoru Sudzuki

Biology Laboratory, Nihon Daigaku-University, Omiya

Following 12 samples were collected from the sandy beaches at the North and Northwest coasts of Taiwan during past 2 years.

A) One sample from Shihmemn (Shir-mon), North

of Taipei. Collected from the Mid-Tidal Zone (M TZ) of the shelly beach by Keh-Jeng Lin on 26 July, 1983; B) Two sample each from Chuyuan (Tsu-ei) bathing beach, Taoyuan (Tau-en), West

of Taipei and Taan bathing beach, Tachia (Tachia), Northwest of Taichung. Collected from MTZ of the sandy beaches at 9.45am (Taoyuan) and 4.30pm (Tachia) by a younger brother of Keh-Jeng Lin on 29 Sept. 1983; C) Four samples from Tan-hai (Tan-kai) 1 near the Oxford College, Tan-shui (Tamsui). Two each from the High Tidal Zone (HTZ) & MTZ by Keh-Jeng Lin and my-self at 2pm on 1 Sept. 1984; D) Three samples, i. e. Two from HTZ & one from MTZ of the bathing beach (Tan-hai 2), Tamsui. Collected by Cheng Yu Lin and myself at 11am on 2 Sept. 1984. The following species have been detected (sampling sites and frequency in parentheses).

1. *Lagenidiopsis valkanovi* (Shihmemn, MTZ: common), 2. *Amphoraopsis elegans* (Tanhai 1, H1: rare), 3. *Micramphora atlantica* (Tanhai 2, H1: common), 4. *M. amphoriformis* (Tanhai 1, H1: rare), 5. *M. tokioensis* (Tanhai 1, H1 & M2: very common, H2: common; Tanhai 2, H1 & M: very common), 6. *M. pontica* (Tanhai 1, H1: common; Tanhai 2, H1: common), 7. *Cryptodifflugia* sp. [*conica*] (Tanhai 2, H2: common), 8. *C. brevicolla* (Tanhai 1, H1: very common, H2: dominant, M2: common; Tanhai 2, H1 & M: do-

minant, H2: common), 9. *C. lanceolata* (Tanhai 2, H1: common; Taan, M1: common), 10. *Difflogiella psammophila* (Tanhai 2, H1: common; Taan, M2: common), 11. *Rhumbleriella filosa* (Shihmemn, M: common, Tanhai 1, H2 & M1: common; Tanhai 2, H2 & M: very common), 12. *Psammonobiotus septentrionalis* (Tanhai 2, H1, H2 & M: common), 13. *P. balticus* (Tanhai 1, H1: very common, H2: dominant, M1: common; Tanhai 2, M: common), 14. *P. golemanskyi* (Tanhai 1, H1: very common, H2: common; Tanhai 2, H2: common), 15. *P. minutus* (Tanhai 1, H1 & M2: common; Tanhai 2, H1 & H2: common, M: very common), 16. *P. communis* (Tanhai 1, H1 & H2: common, M2: very common; Tanhai 2, H1 & H2: common, M: very common), 17. *Corythionella acolla* (Tanhai 1, H1 & M2: common, H2: dominant; Tanhai 2, H1: common), 18. *Pseudocorythion acutum* (Tanhai 2, M: very common), 19. *P. wailesi* (Tanhai 2, H1: common), 20. *Corythionelloides fumiana* (Tanhai 1, H1, H2 & M2: common, M1: very common; Tanhai 2, H1: very common, H2 & M: common), 21. *Trinema lineare* (Tanhai 1, H1, H2 & M1: common; Taoyuan, M1: common).

23. アメーバの遭遇行動 (II)

堀上 英紀, 石井 圭一
法政大学教養部生物学研究室

Social behavior of Amoeba proteus (II)

Hideki Horikami and Keiichi Ishii
Laboratory of Biology, Hosei University

アメーバ・プロテウスG株の行動を、ストロボ光源を用いた暗視野照明装置を使用して2分毎、20分間にわたってフィルムに記録・解析した結果、①暗黒下の生理塩類液中での単独個体の軌跡は大略1つのゆるい弧を描く。その軌跡は便宜的に直進型(4%), 右曲型(67%),

左曲型(6%), および蛇行型(23%)に分けられ右曲型が極めて多いこと。②集団時の軌跡型割合は、直進型12%, 右曲型37%, 左曲型33%, および蛇行型18%となり、右曲傾向がかなり減少することをすでに明らかにした。今回、個体間の相互作用が分布様式に及ぼす影響お

よび遭遇時の個々の行動を解析した。

(1) 実験容器底にG株個体をほぼランダムに分布させた後、1時間にわたって一定時間毎の分布様式を調べた(撮影範囲 14mm×23mm)。サンプリングの方形区の大きさを順次変えて(7段階で最小 1/8mm²、最大 8mm²)、森下の I δ 指数との関係を調べると、4mm² 以上の方形区では常にランダム分布であった。方形区が小さくなる程、時間と共に集中分布(約 2 個体/mm² の密度の場合、1/8mm² 方形区における I δ 値が最大で、0分—0.72, 15分—2.59, 30分—1.97, 40分—3.26, 60分—3.08)となった。このことは数個体からなる小集団の存在を意味する。

(2) 遭遇行動の対照実験として、容器底に沈めたカバーガラス壁に対する軌跡を調べた。壁に近づいた個体はいずれも(n=18)そのまま直進して衝突し、方向を変えて壁に添いながら前進してゆく。時々、壁を乗り越えることもみられたが、ゾウリムシのように衝突後すぐにはね返る軌跡はなかった。また直角な壁端に達するといずれも壁に添って曲がることなくそのまま直進して離れた。

(3) 集団における20分間の軌跡を調べた結果、2個体が並進する例(n=50)がしばしばみられた(並進時間は最小2分、最大20分で6分が最多)。それらの遭遇直前の軌跡を調べると、両者の体軸のなす角度が小さくなるようにすでに進行方向を変えており、ガラス壁に対するように直進して衝突することはなかった。そのような遭遇直前の両者の最大感知距離はほぼ体長(約400 μ m)に等しかった。並進する両個体について、2分毎の軌跡

から求めた一方の個体の移動速度を基準とし、それに対する並進他個体との速度差の比を調べた。並進中は単独移動中よりもその値ははるかに小さく(平均 $\frac{1}{2.4}$ に減少)、歩調が合うようになる。しかも一方がペースメーカーとなるのではなく、互いに相手の速度に影響を与え合うこともわかった。並進中の両者は決して密着せず一時的に最大限度で体長近く離れることもあった。

(4) 両者の遭遇に時間的遅れがあっても軌跡の並列現象がみられ、6分遅れても他個体の軌跡に並列する場合もあった。

以上、①物理的障害物に衝突する場合と異なり、他個体との遭遇直前に個体間がかなり離れていても行動軌跡に変化がみられたこと、②遭遇後の並進現象だけでなく、数分前の他個体の軌跡に並列する現象もみられたことから、少なくとも同種個体間で液性の情報に基づく相互作用のあることが示唆された。

質問 洲浜 幹雄(広島大・理・動物)

アメーバの2個体が平行してしばらく行動すること、集団を作ることを関係をおたずねしたい。

回答

ほぼランダムにばらまいたアメーバの分布様式を、森下の I δ 指標から調べると時間と共に数個体からなる小集団ができることがわかります。一方、アメーバ同士が遭遇するとある時間歩調を合わせて並進します。つまりアメーバ同士が反発して常に単独で行動しているのではないことが、統計的な小集団の存在をもたらしっていると考えられます。

24. アメーバ・プロテウスの繊毛虫捕食行動について

木原 章, 石井 圭一
法政大学教養学部生物学研究室

The effects of the meeting with Amoeba proteus on Paramecium caudatum

Akira Kihara and Keiichi Ishii
Laboratory of Biology, Hosei University

アメーバが、food cap を形成し餌を捕える機構において、餌の化学的刺激が、食陥形成を誘発しているこ

とが明らかにされている。しかし、二次元的に動き回るアメーバが、三次元的に遊泳する繊毛虫を捕える機構

については、化学的刺激だけでは説明できないと考えられる。今回、餌となる繊毛虫としてゾウリムシ (*Praemecium caudatum*) を用い、ゾウリムシがアメーバと遭遇したときの行動を解析することにより、餌がアメーバの捕食行動に与える影響について調べた。

ゾウリムシがアメーバに遭遇したときの行動は、①接触時に遊泳軌跡が変化せず、軽くこすれる場合 (43%) ②頭部で衝突し、そのまま進行方向を変えて通過する場合 (29%) ③頭部で衝突し、回避反応によりアメーバから離れる場合 (21%) ④頭部でアメーバに接触し、そのまま2秒以上停止する場合 (7%)、以上4つに分類された。①の場合においても、接触後1秒以内に、回避反応による方向転換、遊泳の一時停止、ないしは遊泳速度の上昇といった反応を示した個体が65%観察された。

ゾウリムシの接触、および衝突によってアメーバは食胞形成を開始した。しかし、実際に捕食されたのは、アメーバと接触したまま停止したゾウリムシだけであった。食胞形成を完了したアメーバ10例でその時間経過を平均すると、停止から最初に食胞を形成する (第一段階) までに8.7秒、食胞がゾウリムシの半分を囲む (第二段階) までに27.9秒、食胞が完成する (第三段階) までに49.1秒の時間を要した。

アメーバと頭部で接触し停止中のゾウリムシにおいて、繊毛運動は引き続き行なわれていた。事実、食胞形成の間に、停止したゾウリムシの大部分は回避反応によりアメーバより逃れた。しかし、停止した418例のゾウ

リムシのうち87%の個体が第一段階以前に逃避したのに対し、第一から第二段階の間には3%、第二から第三段階の間には1%の個体しか逃避できなかった。

次に、ゾウリムシの野生株と回避反応が欠如した突然変異株 (CNR) を用いて、アメーバの捕食速度を調べた。野生株の濃度をシャーレ内で 5.6×10^3 , 1.2×10^4 匹/mlとした場合、半数のアメーバが最初の1匹を捕食するのに、それぞれ約100分、約220分要した。それに対し、密度 2.1×10^3 匹/ml の CNR では、約40分で半数のアメーバが捕食を完了した。

以上の結果、遊泳しているゾウリムシがアメーバに捕食されるのは、アメーバとの接触に伴う停止が起こるためであることが明らかになった。また、この停止反応は CNR においても観察されたことから、この反応が少なくとも回避反応とは関係ないことが分った。更に、アメーバからの逃避に回避反応はかなり有効であるが、逃避率がアメーバの食胞形成の過程で著しく低下することから、そこに、何らかの相互作用が存在する可能性が示された。

質問 洲浜 幹雄 (広島大・理・動物)

ゾウリムシがアメーバに衝突した時ゾウリムシの繊毛運動はどのような状態でしょうか。

回答

衝突後停止した個体について観察すると、アメーバに接触した部分の繊毛が止っています。他の部分の繊毛運動は続いていました。

25. SH ブロック剤の *Didinium* の捕食に対する影響

原 律雄, 浅井 博

早稲田大学理工学部物理学科

Effects of SH blockers on the capture of Didinium

Ritsuo Hara and Hiroshi Asai

Department of Physics, Waseda University

肉食繊毛虫ディディニウムは好んで捕食するゾウリムシやテトラヒメナなどに接触すると口部先端からトキシスト及びペキシストから成る刺胞を放出し、それらを捕え、丸飲みにしてしまう。これに対して捕食しないスタイロニキアやユープロテスなどや、ガラス壁に口部が接

触してもディディニウムは刺胞を放出せず、逆に繊毛逆転を起してそれらから逃避する行動を示す。また微小ガラス管で固定したディディニウムの口部先端に同じくガラス管で固定されたゾウリムシを人為的に接触させて見ると接触面積が小さい場合はペキシストだけが放出さ

れ、ある程度以上接触させた場合はペキシストと共にトキシストが放出されることがわかった。ペキシストはゾウリムシの細胞表面に付着するだけでトキシストのように細胞内に侵入することはない。従ってペキシストだけの放出ではディディニウムはゾウリムシを捕食することはできない。これらのことからディディニウムの捕食行動は、その口部先端に存在するらしい化学受容器がゾウリムシなどの膜に存在する化学物質を受容することで制御されていると思われる。またディディニウムの膜電位はこの化学受容に対応して変化することも電気生理学の実験からわかっている。

さてディディニウムの捕食行動を誘発する化学物質を明かにする為にゾウリムシに種々の処理を加え、ディディニウムに与えて見た。その結果 SH ブロック剤での処理結果で興味ある事実を得た。不可逆性の SH ブロッカーである NEM 処理の場合は処理の程度に従ってディディニウムは処理されたゾウリムシに対して刺胞を発射しなくなり、充分接触してもペキシストだけしか放出しない時期を経て無反応期に到る。NEM 処理後のゾウリムシを SH 基還元剤である DTT の溶液に放置しておい

ても反応性の回復、つまり捕食率の上昇は見られなかった。可逆性の SH ブロッカーである pCMB 処理の場合は、処理の程度に伴う捕食率の低下は NEM の場合と同様であったが、処理後 DTT 溶液中に放置されたゾウリムシに対する反応性は回復し、ディディニウムは刺胞を発射するようになり、従って捕食率も回復する。このように SH 基のブロックの程度と捕食率との間には明かに相関が認められた。また SH 基の分布量を直接調べる為に蛍光性の SH ブロッカーである DACM で種々の細胞を処理して蛍光顕微鏡で観察した。その結果ディディニウムが捕食反応を示さない NEM 処理後のゾウリムシをさらに DACM 処理したものや、DACM 処理のスタイロニキアなどは DACM 処理のみのゾウリムシに比べると蛍光強度がかなり低かった。さらに蛋白質分解酵素であるプロナーゼでゾウリムシを軽く処理してもディディニウムは捕食反応を示さなくなるので、SH 基を含む膜表面の蛋白質が捕食に関係すると思われる。また、ゾウリムシやテトラヒメナを DACM 処理してから SDS 電気泳動にかけると、約 1 万 3 千付近のバンドだけが蛍光性を有することもわかった。

26. ゾウリムシの負の走地性

福井 啓二, 浅井 博
早稲田大学理工学部物理学科

香 川 浩
日本医科大学教養物理学教室

Negative geotaxis of Paramecium

Keiji Fukui and Hiroshi Asai
Department of Physics, Waseda University

Hiroshi Kagawa
Department of Physics, Nihon Medicine University

ゾウリムシの負の走地性運動は浮心と重心が細胞内でずれた位置にあることから生ずるトルクによる物理的機構で説明できることを既に明らかにしてきた。この機構に基づくゾウリムシの運動は重心の並進運動（ここでは 2 次元的に考えている）と、重心のまわりの回転運動を表わす以下の 3 式で表現できる。

$$M \frac{d^2x}{dt^2} = -R \frac{dx}{dt} + P \cos\theta \quad ,$$

$$M \frac{d^2y}{dt^2} = -R \frac{dy}{dt} + P \sin\theta - mg \quad ,$$

$$I \frac{d^2\theta}{dt^2} = -\eta \frac{d\theta}{dt} + T \cos\theta \quad .$$

ここで x は水平方向, y は垂直方向の座標, M はゾウリムシの質量, m は有効質量, R は並進運動に加わる媒質の抵抗, η は回転運動に加わる媒質の抵抗, T は浮心と重心の位置のずれが生み出すトルク, I は慣性モーメント, θ は水平方向とゾウリムシの長軸方向(運動方向)とがなす角度, P は推進力, g は重力加速度を表わす。ただし, ゾウリムシは実際には回転楕円体に近い形状をしているがここでは球で近似した。この近似による差はわずかである。

個々のゾウリムシが上記の3式に従った運動をすることで, 集団のゾウリムシが示す負の走地性の様子を計算機でシミュレーションした。実験と対比させるためにシミュレーションは二次元で行い, ゾウリムシが実験容器内で水面や壁に衝突した時に入射角によらず反射角が約40度±10度程度である観察結果を計算に用いた。

その結果, 以下のことがわかった。

(1) ゾウリムシの集団が負の走地性によって水面近くに集まる時, 水面下約5~8mmのところ密集する観察事実とシミュレーションによる垂直方向密度分布の計算結果が良く一致した。しかしシミュレーションには水面近くでのゾウリムシの走触性行動等の独等の行動様式を取り入れていないためと思われる実際とはやや異なる部分が見られた。

(2) 容器の大きさを小さくするとゾウリムシと水面や壁との衝突の効果が大きくあらわれ, 全体として水面近

くに集まる負の走地性が見かけ上失われることがシミュレーションから明らかとなった。この結果は実験によっても確認された。容器を垂直に立てた場合, たて, よこそれぞれ1cm近くなると生じた。

質問 樋渡 宏一(東北大・理・生物)

水面直下にゾウリムシのない層ができるのは, 高密度ゾウリムシによるCO₂濃度上昇と, 水面から入るO₂濃度上昇のバランスで説明できませんか。

回答

① 水面を流動パラフィンでおおった時にも同様の現象が見られました。

② 実験の際ゾウリムシの密度をいろいろ変えてやってみましたが, ゾウリムシのいないすきまの出来方(空間的にも時間的にも)にあまり差がありませんでした。

従って①②からCO₂, O₂のバランスではない別なメカニズムがあるのではないかと考えています。

質問 高橋三保子(筑波大)

水槽の厚さを変えた場合, 集まり具合は影響を受けるのか。また円柱の場合, 集まりやすいと予想されるか。

回答

基本的には影響を受けないようです。しかし厚さを増すと壁際に多く集まって水面の中央付近では密度が低くなることとなります。これは実際良く見られる事のようにです。円柱の場合は壁の効果が生じにくい為, 集まり易い様です。

27. 膜口類繊毛虫 *Glaucoma* シンチランスの逆パターンについて

洲 浜 幹 雄

広島大学理学部動物学教室

*Singlet cells with reversed pattern in *Glaucoma scintillans* (Ciliophora, Hymenostomatida)*

Mikio Suhama

Zoological Institute, Faculty of Science, Hiroshima University

繊毛虫の表層の細胞器官の配置が左右逆になる現象は, 通常, 同極双体の半分側で起ることが知られている。双体の他の半分の表層パターンが正常であることから, 上述の鏡像パターンがどの程度細胞の生存に影響す

るかは不明である。これまで逆パターンを持った単体細胞を作る試みがなされて来たが成功しなかった。筆者ははじめて *Glaucoma scintillans* の逆パターンを持った双体細胞から正常部分を切除し, 増殖可能な逆パター

ンのみを持った単体細胞を作った。この逆細胞の主要な特徴は次のようである。収縮胞口は口軸（口部原基が発生する腹側のある特定の繊毛列にあたる）に対して正常とは逆に左方向にはほぼ同じ距離だけ離れて位置する。口部は正常とは逆に右側から左にかけて4枚の膜板が並ぶが、完全な鏡像ではなく、正常口部の180°廻転したものである。しかし、多くの口部で膜板は断片化し不規則に並ぶ。体の前端において両側の繊毛列が接する縫合線は右斜めに走り、正常とは鏡像関係にある。その後、これらの逆細胞は逆パターンを持った双体の培養中に自然に生ずることが発見された。双体がどのような過程を経て逆細胞になるのかはまだ不明である。この報告では逆細胞を生ずる頻度が極めて高い双体細胞の系列の一つを使用して上記の過程を明らかにする。

逆細胞から由来した双体細胞の系列の一つ（HR-2D-110）を使用した。双体細胞は低温（約7°C）で培養された双体株からとられ、20°Cにおいて、バクテリアを植えたセロフィル培養液で2—3回植え継いだ後実験に供された。双体細胞は0.02mlの培養液中に1細胞ずつ単離され、1日または2日後にそのすべてが固定され、鍍銀された。

この双体において二つの口部は接近し、接近した側から見て右側（細胞の）の口部は正常、左側のそれは逆であった。細胞増殖の過程は三つのグループに分れた。(1)双体細胞のみが占めた。例えば38細胞が観察された一つの培養において、双体細胞は次の数値を示した。全繊毛列数の平均は55本、二つの口部間の距離は18繊毛列間数、収縮胞口の位置は逆口部の口軸の左方へ8繊毛列間数であった。これらは典型的なこの系列の細胞の値である。(2)双体細胞と逆細胞の両方が占めた。一つの培養例では双体細胞の形態は(1)のそれらに近かった(57, 19, 8, n=11)、一方逆細胞は極端に繊毛列数が少なかった(34, n=3)。(3)双体細胞と逆細胞の両方が占めたが、両者の間の繊毛列数の差は大きくなかった。一つの培養例では双体細胞の繊毛列数の平均44本(n=23)、逆細

胞のそれは41本(n=17)であった。収縮胞口は両者とも逆口部の口軸から左方に7—9繊毛列間はなれて位置していた。数日後の培養例では逆細胞数がかかるに多くなった。(1)と(2)において少数のくびれの入った細胞が発見された。別の培養例ではくびれの大きい細胞は二つに分離することが観察された。

これらの結果から逆細胞は二つの過程によって生ずると考えられる。第一は双体細胞の二分によってである。くびれが培養初期に見られることは分裂はくびれを助長するかも知れない。この第一の過程は結果(2)における逆細胞と双体細胞の繊毛列数の大きい差によって支持される。第二は正常な口部の消失である。これはおそらく二つの口部間の繊毛列数の減少によって伴われるだろう。結果(3)における双体細胞の繊毛列数の減少と、逆細胞と双体細胞における繊毛列数の僅少な差から支持される。

最後の問題はこの双体において逆細胞の出現頻度が何故高いのかということである。接近した二つの口部のうち、右側が逆で左側が正常な双体細胞からの逆細胞の出現頻度は低い。接近した正常な二つの口部を持つ近縁の繊毛虫 *Tetrahymena* の双体では左側が消失するといわれている。*Glaucoma* のこの双体細胞では、右側の正常口部の口軸の右側に収縮胞口はないが、逆口部の口軸の左側にはある。どちらが残るかは右半分と左半分の優位性によるかも知れない。

質問 渡辺 良雄（筑波大・生物科学）

Inverted OA をもつ細胞の basal body のアクセサリーの位置はやはり逆転しているのでしょうか。また、このような細胞は分裂できるのでしょうか。おうかがいします。

回答

Basal body のアクセサリーの位置は basal body を基準にしてみれば正常です。OA が全体として180°廻転していることになります。この逆細胞では口部原基が発生し、細胞分裂を行って増殖します。

28. コルヒチン処理により得られた *Euplotes woodruffi* の同極双体

小 阪 敏 和

広島大学理学部動物学教室

Doublets obtained by colchicine treatment and their several features in Euplotes woodruffi

Toshikazu Kosaka

Zoological Institute, Faculty of Science, Hiroshima University

コルヒチンは紡錘体形成とその機能を阻害する作用を持つことで知られている。今回はこの薬品を用いて *Euplotes woodruffi* で効果的に同極双体（双体）を得ることができたので、その方法と得られた双体の性質について報告する。

双体を得る方法は以下のとおりである。まず細胞周期のS期の後期にある細胞、それは実体顕微鏡下で細胞質の分裂面上にくびれが観察され始めた細胞であるが、をくぼみスライドに集め、50mMのコルヒチンで、通常は、30-40分間処理する。処理時間に関しては、実験のたびに少しずつ異なるので、実際にはときどき顕微鏡下で細胞の状態を観察し、これ以上薬液中に置いておくと細胞が膨らんで死んでしまいそうになるまで処理するのが良い。その後約5倍量の培養液（小麦浸出液）を薬液に加える。約1時間後に細胞をピペットを用いて新鮮な培養液の中を3回移して薬品を除去する。この時に分裂を完了した細胞はとり除く。洗った細胞はくぼみスライドに単離し、20-23°Cのもとで餌（べん毛虫のクロモナス）を与えて培養する。1日後に観察すると、多くのものは正常に細胞分裂を行って2-4細胞を生産しているが、残りのものは2細胞間のさまざまな部域で連続した異常体になっている。実験によってばらつきはあるが、約30%も出現することがある。これらの異常体をさらに培養していると、多くのものは正常にもどってしまうが、いくつかは双体を生産する。

これまでシンゲン2から4、シンゲン3から7、未同定のシンゲンから1の合計12から双体の系統が得られている。

このように、コルヒチン処理により、細胞質分裂を阻害してやると、形態異常体を得られること、さらにこれらを培養すれば双体が生産されることがわかった。すでに、シンゲン1の連続自系接合を行わせた系のクローン中

で出現した分裂異常体から双体を得られたということについては、報告している（小阪, 1980）。しかし、今回報告する方法の方が、より計画的に効果的に異常体とそれに由来する双体を作り出すことができるので、双体を得る方法としては、はるかに優れている。

双体は、2細胞が同極に並列に互いの右縁で融合している。双体を鍍銀して調べたところ、その各々は完全な表層構造を示した。大核は1双体あたり2個あるが、小核は2個と1個のものがみられる。12の双体の系統のうちの8では小核は1個、3では2個、1では1個と2個のものが混じっていた。双体の小核が2個から1個へと減少する過程は、2細胞が融合して双体になった後の早い時期に起こるらしいが、詳細は不明である。小核数が減少したものは、その後小核数1個の双体を生産し続け、小核数が0あるいは2個のものは生じない。2個のものは、そのまま約5ヶ月間維持されているが、一つの系では2個と1個が混在していることから、やがては1個になってしまうのかもしれない。

双体は安定して増殖し、双体を再生産する。同一株の同一齢のクローンから得た小核2個の双体と1個のその分裂比を比較したところ、両者とも約1.5で（20°Cのもとで）、差はみられなかった。

ときおり双体は2細胞（単体）に分離したり、（双体が分裂後1双体と2単体を生産する。この場合、小核2個の双体は正常な2単体を生じるが、小核1個のそれは正常な1単体と無小核の単体を生産する。後者の場合については現在研究中なので、別の機会に報告する。

生活環の未熟期から得た双体は未熟期の、成熟期からのそれは成熟期の状態であるが、前者を二分裂で培養すれば、通常の単体の場合と同様に成熟期になる。シンゲン3の成熟期の双体は、別の接合型クローンと混合すると接合することができる。この場合、1双体と1単体の組

み合わせの接合対が多く形成されるが、稀に1双体と2単体の対も生じる。シンゲン2の成熟期の双体は、飢餓条件下に置くとオートガミーを行い、別の接合型のものを加えると接合を生じる。小核2個の双体も1個のそれも、オートガミーを誘導してやると、同じように核変化を生じる。ただし、無小核側では、大核崩壊のみが生じる。双体の接合やオートガミーの核変化とその後の結果については、現在研究中である。

質問 川上 久子 (鈴峯女短)

双体の小核数は、双体の分裂後のクローンにおいて安定に維持されますか。

回答

小核を1個しか持たない双体は、双体になった直後か、あるいは比較的早い時期に小核1個を失ってしまうようで、その後は安定して小核1個の双体を生産し続けます。小核2個のものでは、約5ヶ月の間、ずっと2個の双体を生産し続けています。このようなことから、双体の小核数は、双体の誕生後安定して維持されと考えられます。ただし、一系統においては、小核2個と1個のものが混在していましたので、2個のものはもっと長い期間培養を続けると、やがては1個になってしまう可能性があります。

29. 寄生性原生動物ランブル鞭毛虫の脂質組成

金田 良雅、合津 都世
東海大学医学部寄生虫学教室

Lipid analysis of Giardia lamblia and its culture medium

Yoshimasa Kaneda and Toyo Goutsu

Department of Parasitology, School of Medicine, Tokai University

ランブル鞭毛虫の感染者は無症状のものから激しい下痢症状まで様々な消化器症状を示す。消化器症状のうち特に脂肪便の排出がみられることから、この原虫と棲息環境の脂質との関連が考えられる。そこでこの関連性を明らかにするため、培養虫体を用いて、その脂質組成と培地中の脂質との関係を観察した。

培地として Diamond (1989) が開発した BIS-33 培地を用い、5日間 37°C にて培養した虫体を集め、PBS にて洗滌後 Folch の方法で脂質を抽出した。また、培地は凍結乾燥後同様に Folch の方法によって脂質を抽出した。培養中の全脂質利用状況を知るため、培養の前後における培地中の脂質重量を比較した。また、脂質の消化吸収に作用する bile を培地へ加えた場合についても同様の比較を行った。bile が含まれていない培地の脂質重量には変化がみられないが、培地に bile を加えた時、培養後の培地中の脂質重量に減少がみられた。このことは bile 添加によって培地中の脂質の虫体による利用が行われたことを考えさせる。しかしながら、虫体の脂質重量には bile の影響がみとめられないことから、脂質の虫体内への蓄積に bile が作用しているとは考え

られない。一方、培地へ bile を添加することによって虫体増殖が促進されることが知られている。このことから bile は虫体の脂質利用に影響を及ぼしていると考えられる。

次に、bile の脂質組成に及ぼす影響を調べるため、培地及び虫体から抽出した脂質の分画を行い、その組成比を求めた。方法は、抽出された脂質をロッド状の薄層シリカゲルに添加し、展開溶媒で展開後、各分画を水素炎イオン化検出器 (イアトロスキャン) によって検出、定量を行った。培地中の全脂質のうち 80% は中性脂質で、そのうち 60% が sterol-ester であるが、この組成比は培養の前後で脂肪酸の変化以外変動がみられなかった。虫体脂質は 50% が中性脂質でそのうち 70% が sterol であった。この中性脂質の組成比は、bile を添加した培地、及びその培地で培養した虫体において観察したが、同じ結果であった。中性脂質の組成比には、bile の影響がみられなかった。リン脂質分画についても同様の方法で観察したが、培地の組成比は培養前後での変動はみられず、bile を添加した場合でも培養の前後で比較した場合変化はみられなかった。虫体のリン脂質分画の組成比

に対しても *bile* の影響はみられなかった。

また、培地及び虫体の全脂質の構成脂肪酸組成比をガスクロマトグラフィーを用いて調べ、培地への *bile* の添加による組成比への影響を観察した。培地中の脂質を構成する脂肪酸はリノレン酸 (18:2) が主であった。この組成比は培養後の培地でも変化はなく、また *bile* を添加した場合も同じ結果であった。一方、虫体脂質の脂肪酸構成比は、*bile* を加えていない培地を使用した場合、パルミチン酸 (16:0) とオレイン酸 (18:1) とが主成分であった。これは培地脂質の脂肪酸構成比とは異っている。*bile* を培地へ加えた場合、虫体脂質の脂肪

酸構成比は変化がみられ、パルミチン酸には変動がおこらないが、オレイン酸が減少し、ステアリン酸 (18:0) の比率が増加していることが観察された。*bile* として *bovine bile* と *porcine bile* とが使用されたがこの両者で比較すると、虫体脂質構成脂肪酸比への影響は *porcine bile* を用いた時により一層顕著であった。

以上の結果から *bile* は培地中の脂質を虫体が利用しやすくしていると考えられ、その結果、虫体増殖も促進され、その構成脂肪酸の組成比とくにステアリン酸に影響を与えていることが考えられる。この影響も使用した *bile* の動物種によって異っていることが観察された。

30. 高速液体クロマトグラフィーによる *Trypanosoma cruzi* の ミトコンドリア電子伝達成分の研究

北 潔, 高宮信三郎, 古島理江子, 大家 裕
順天堂大学医学部寄生虫学教室

Studies on the electrontransport system in the mitochondria from Trypanosoma cruzi by high performance liquid chromatography

Kiyoshi Kita, Shinzaburo Takamiya, Rieko Furushima and Hiroshi Oya
Department of Parasitology, Juntendo University, School of Medicine

生活史の中でその生息環境の著しく変化する寄生虫は適応現象の好適なモデル系と考えられるが、我々はエネルギー代謝、特に酸素分圧に対する適応のメカニズムに焦点を絞って呼吸鎖に注目し研究を進めている。エネルギー代謝における条件嫌気性の機構は多様であるが *T. cruzi* の場合、嫌氣的グルコース分解の終末産物の1つとしてコハク酸を生成する PEPCK-コハク酸経路が主となっていると考えられている。*T. cruzi* ではこのホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼはグリコソームという細胞内小器官に存在するとされ、各段階のうち数種の酵素は同定されているが、コハク酸生成の最終段階である NADH からフマル酸への電子伝達機能はミトコンドリアに存在していると考えられているのみで実体は不明であった。この様なフマル酸呼吸を行うミトコンドリアの特徴として *b* 型チトクロムの含有量が高い事が挙げられるが、*T. cruzi* に関しては他にも、広く細

菌にみられる *b* 型末端酸化酵素であるチトクロム *o* の存在が示唆されている。これら複数のチトクロム成分を分光学的手段のみで同定、定量する事は不可能でありまた各々の機能を解析するうえでも各成分の単離が必要である事から高速液体クロマトグラフを用いてミトコンドリアのチトクロム成分を微量かつ迅速に分析する方法を確立し、これを用いて *T. cruzi* と他のミトコンドリアを比較した。

まず *T. cruzi* のミトコンドリアの電子伝達活性の各部分反応を調べてみるとコハク酸-ユビキノン還元活性は好氣的呼吸を行うラット肝や、フマル酸呼吸を行う代表的例である回虫のミトコンドリアとはほぼ同程度であるが、より酸素側に近い部分つまりチトクロム *bc₁* やチトクロム *aa₃* による活性は非常に低く回虫に類似していた。実際にミトコンドリアの酸化還元差スペクトルでも *b* 型チトクロムが主成分となっており、チトクロム *aa₃*

はごく微量であった。またこの b チトクロムは部分的に一酸化炭素と結合しスペクトルが変化した。

高速液体クロマトによるチトクロム成分の分離は以下の方法で行った。ミトコンドリアをデオキシコール酸と塩化カリウムで処理した後遠心して上清と沈殿に分離し各々陰イオン性界面活性剤であるサルコシルで処理後遠心により上清を得て、これを0.05%サルコシル存在下のゲルろ過カラムを用いた高速液体クロマトを行って分離した。ラット肝の場合デオキシコール酸処理上清にはチトクロム bc₁ とチトクロム c が含まれ各々16.7分、24.6分の位置に溶出された。また沈殿画分にはチトクロム aa₃ が含まれ14.2分に溶出された。回虫の場合チトクロム成分は上清のみに検出されこれは15.4分と16.8分に溶出された。前者は回虫ミトコンドリアの複合体Ⅱに含まれているチトクロム b₃₅₈ であり、後者はコハク酸脱水素酵素に含まれているフラビンである事がスペクトルの分析より判明した。

T. cruzi ではやはりチトクロムはデオキシコール酸

の上清のみに検出され、ラット肝や回虫のどちらとも異なる18.6分の位置に主成分のピークが溶出された。ミトコンドリアでのコハク酸-コエンザイム Q 活性は回虫とほぼ同様だったが回虫の複合体Ⅱの位置にはピークは検出されなかった。この18.6分に溶出された成分は b 型チトクロムであり一酸化炭素を結合した事からチトクロム o の可能性も考えられた。そこで大腸菌より精製したチトクロム o を高速液体クロマトで調べてみたところ14.2分に溶出され18.6分の成分は検出されなかった。また *T. cruzi* のミトコンドリア中には大腸菌のチトクロム o に対する抗体と反応する蛋白は検出されなかった。

T. cruzi は代謝の面からはコハク酸を生成するフマル酸呼吸系が機能していると考えられるが今回の結果では代表的なフマル酸呼吸系のミトコンドリアである回虫の場合と異った性質を持っていた。これが複合体の解離の状態の相異に由来するのか、または本質的に全く異った成分から構成されているのか、今後検討を進めて行きたい。

31. 電気泳動法による *Amoeba proteus* 野外株の比較研究

月井 雄二, 石井 圭一
法政大学教養部生物学研究室

Electrophoretic comparison of heat-extracted proteins among wild stocks of Amoeba proteus

Yuuji Tsukii and Keichi Ishii
Laboratory of Biology, Hosei University

アメーバは、有性生殖を行わないので、生物学的種の概念は適用できない。また、外形が一定しないため形態による種分類・同定も難しい。今回、電気泳動による熱抽出タンパク質の比較が、アメーバ属 (*Amoeba*) ないしその近縁のアメーバの分類の手段として有効であることがわかった。

これまでアメーバ属の分類に関しては、移動時の仮足の形態、核の形、その直径、細胞内結晶の形など形態的特徴が分類の規準として利用されてきた。しかし、いずれの形質も決定的なものではなく、そのため、分類の結果は人により様々に統一されていない。

一方、他の生物では、分子的特徴を利用した系統分類法が常とう手段として用いられ成果をあげている。アメーバでも、小型のものではタンパク質・アイソザイムの電気泳動による比較などが盛んだが、大型のアメーバについては報告が少ない。そこで、*A. proteus* のいくつかの株について熱抽出タンパク質の比較を行なってみた。アメーバは、テトラヒメナを餌に培養し、給餌後1~2日たったものを用いた。細胞を集め、小型試験管に入れてバーナーの炎で熱し1~2分間沸騰させる。冷却後、遠心 (1500 rpm) による上澄を取り [Laemmli] の方法に従って SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を

行なった。材料としたアメーバは、A, F, G, K, S, T の 6 株である。形態の上からは、これらはいずれも *Amoeba proteus* に属する。移動時の仮足の出し方には、それぞれ少しずつ違いがあり、中でも F 株はもっとも頻りに移動方向を変えるのが特徴である。しかし、その他の形態（移動時の仮足にみられる longitudinal ridges の有無、核の形、細胞内結晶の形）に関しては、基本的な違いはみられず別種とは判定できない。また、Cu, Co, Ni, Mn などに対する耐性も株間で大きな違いはみられなかった。

ところが、熱抽出タンパク質の比較の結果、約 40 本のバンドが検出され、A, G, K, S, T についてはすべて一致したが、F だけは他と移動速度の異なるバンドが検出された。（A～T すべてに共通するバンドが約 32 本。F だけにみられるバンドが 4～5 本、他の 5 株にあって F にはないバンドが 3 本あった。）さらに、PAS 染色でも他の株にみられた一本のバンドが F では検出されなかった。したがって、F 以外の株は同一種とみなすことができるが、F だけは別に考える必要があるだろう。

無性生殖のみを行なう生物の場合、何を基準にして種の判別を行なうべきか問題だが、ゾウリムシにおける熱抽出タンパク質の電気泳動の結果と比較すると、F 株と他の株との違いは、ゾウリムシのシンジェン間の差以上だが、形態種間の差よりは少ないことがわかった（月井、未発表）。

また、その後、アメーバの全タンパク質について電気泳動を行なったところ、熱抽出タンパク質の場合とほぼ同じ位置に約 40 本のバンドが検出された。即ち、全タンパク質のうちわずかに 40 種類のタンパク質の量が他に比べて極端に多く、しかもそれらのほとんどが熱処理によって沈澱を起こさないという独特な性質を持つことが示唆された。

今回の実験からアメーバ属とその近縁種の分類・同定には熱抽出タンパク質、あるいは全タンパク質の比較が有効であることがわかった。したがって、今後はこの方法を用いて、さらに多くの野外株についての比較を行ない、アメーバの分類法を確立したい。

32. *Tetrahymena cdaA1* の変異遺伝子産物の局在性

大場 浩美, 渡邊 良雄
筑波大学生物科学系

Localization of a cdaA1 mutant gene product in Tetrahymena cells

Hiroyoshi Ohba and Yoshio Watanabe
Institute of Biological Sciences, The University of Tsukuba

私達は動物細胞の細胞分裂分子機構を明らかにするために、*Tetrahymena thermophila* の分裂停止突然変異株 (*cda* 遺伝子座) を用いて研究を行ってきた。本研究で用いた *cdaA* 変異株は分裂直前期に高温処理 (40°C) を受けると、野生株が分裂に先立って示す fission zone (分裂帯) の形成が起らず、それにひきつづく分裂溝の形成や陥入が全く起らない。従って、これは分裂面決定に関与する因子の温度感受性突然変異株であることが示されてきた。私達は、これまでに、(i) 野生株と *cdaA1* 株の二次元電気泳動パターンの比較から、分子量 85,000,

等電点 4.7 の蛋白質 (p85 と仮称) に僅かな移動度の変化があることをみだし、(ii) p85 の変化と F₁ caryonaidal clones に於ける変異形質の発現との間に相関があることを示し、p85 が変異遺伝子産物であるという可能性を証拠立てた。

そこで、p85 の性質や機能を知る目的で、野生株から、硫酸分画、KI 溶解度による分画、DEAE セルロースカラムクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー (FPLC) を用いて p85 を精製し、その電気泳動上のスポットを抗原としてモルモットで抗体の調製を行

った。この抗体は immunoblotting の結果、野生株及び突然変異株の全蛋白質中で p85 にのみ反応する特異的なものであることが判った。この抗体を用いて、間接蛍光抗体法によって 26°C で種々の細胞周期上の時期にある野生株細胞や突然変異細胞、さらに種々の時期に温度処理を受けた突然変異細胞内の p85 の局在性を検討した。野生株ならびに 26°C で正常な分裂を行っている変異株では、分裂に先立って形態形成が起る口部装置と、細胞先端部にはち巻き状に存在する基粒体 couplet (apical ring と称される) とが強く蛍光を発し、分裂溝形成直前の細胞では、分裂溝形成予定部近辺の基粒体が分裂面に沿って強く蛍光を発するようになることが観察された。深い分裂溝をもった分裂細胞での局在性から、この分裂面に現われた構造は将来後方娘細胞の先端部の apical ring になることが判った。この p85 の赤道面近傍の構造への結合は、最初、細胞分裂前の分裂帯形成直前期に起ることも、低温度処理による同調分裂系を用いた実験から明らかになった。

しかし、この p85 の構造への結合が起る以前に高温処理 (40°C) を行うと、突然変異細胞では分裂面に沿った蛍光像が全くみられず、変異株の p85 が分裂予定面

の構造に結合しなくなることが判った。このような細胞では、分裂帯の形成も分裂溝の陥入も起らず分裂停止の状態になっていた。これらの蛍光像は *cdaA1* の突然変異遺伝子産物の、生理学的並びに形態学的研究結果から推定されていた機能や局在部位や局在時期とよく符合している。恐らく、p85 は分裂帯形成に関与する重要な蛋白因子であり、この形成が誘因となって、次に起る分裂溝の形成、後方娘細胞の前端化、前方娘細胞の後端化、や分裂溝の陥入による細胞質分裂などが進行するものと思われる。今後、分裂面決定機構に於ける p85 の分子的作用について研究を進める予定である。

質問 樋渡 宏一 (東北大・理・生)

その遺伝子産物は constriction ring と細胞表面の linker になっているたんぱくですか？

回答

そうではなく、分裂面の決定に関係しているもので、これが赤道面に結合したのちに分裂帯が形成され、さらにそのあとに分裂帯に contractile ring ができてきます。したがって ring 形成以前の位置決定蛋白因子と考えています。

33. テトラヒメナの接合対形成促進物質の研究

中尾 誠司, 藤島 政博
山口大学理学部生物学教室

Conjugation-promoting substance in Tetrahymena thermophila

Seiji Nakao and Masahiro Fujishima

Biological Institute, Faculty of Science, Yamaguchi University

テトラヒメナの接合過程では、ゾウリムシやプレファリズマと異なり凝集反応やガモンの分泌は起らない。テトラヒメナの相補的な接合型の細胞を適切な条件のもとで混合すると、30~40分で接合対の形成が始まる。この30~40分の lag time は co-stimulation 期と呼ばれ、この間に相補的な接合型の細胞が互いに衝突して接合できるように付活されると考えられている。しかし、1978年 Adair 等によって、テトラヒメナが接合対の形成に必要な物質を外液に分泌していることを示唆する報

告がなされた。そこで、この研究ではテトラヒメナが分泌している物質 (接合対形成促進物質と呼ぶことにする) の単離とその作用機構を調べることを目的として実験を行い、次の結果を得た。

1. 接合対形成促進物質は、接合型に非特異的に効果がある。
2. initiation 後の cell free medium を1000倍以上に希釈すると接合対形成促進物質の効果が失われる。
3. 100°C 30分処理, 25°C 24時間処理, -30°C 1週

間処理によっても接合対形成促進物質は失活しない。

4. 接合対形成促進物質は、0.02% トリプシン処理 (25°C 1時間) によって失活しない。

5. 接合対形成促進物質は、透析膜を透過しない。

6. 接合対形成促進物質の活性は、100,000g 1時間の遠心の上澄に存在する。

7. 接合対形成促進物質の活性は、Sephadex G-50を用いたゲル濾過のボイド容量に存在する。

以上の結果から接合対形成促進物質は、分子量 30000以上の糖または活性部位にタンパクを含まない糖タンパクである可能性が考えられる。

質問 渡辺 良雄 (筑波大・生物科学)

無機塩類で細胞を wash するとその都度 RNA や蛋白が分解されて、溶解中にできます。その様な細胞はやせばそって接合能がなくなってくると考えられるので、condition medium 中にある接合能力の recover させる物質で接合誘導物質ではないのでしょうか？

回答

今の段階ではその可能性は否定できません。

co-stimulation のどの時期にこの物質が必要なのか検討中です。

34. テトラヒメナに存在する、カエル卵母細胞の減数分裂再開始誘導物質の研究

崎村 雅憲, 藤島 政博

山口大学理学部生物学教室

Tetrahymena extracts which can induce reinitiation of meiosis in toad oocytes

Masanori Sakimura and Masahiro Fujishima

Biological Institute, Faculty of Science, Yamaguchi University

ホルモンによって刺激されたヒトデやカエルの卵母細胞は、様々な過程を経て maturation-promoting factor, MPF を作り、この物質の作用によって卵核胞崩壊, germinal vesicle breakdown, GVBD を起こし、その後の卵成熟を完了することが知られている。このようにして卵成熟を起こした卵母細胞の細胞質を、卵成熟前の卵母細胞に移植すると、MPF の作用により、移植された卵母細胞に卵成熟が起こる。このような MPF の作用は、カエル、ネズミ、サカナ、ナマコ、ヒトデといった広範な生物種を越えて互換性があることが知られている。最近、繊毛虫のゾウリムシが MPF 活性物質を持つことが明らかにされたが、本研究では、同じ繊毛虫のテトラヒメナも MPF 活性物質を持つことを示し、その性質を調べた。

テトラヒメナの extract の調整と、その後の assay は次のようにして行った。まず、Tris-HCl buffer (pH 7.4) で洗浄し、18^g 2min. の遠心でペレットにしたテトラヒメナを、extraction medium で3倍に希釈して

ホモジナイズし、18,000g で 30min. 冷却遠心した後、上澄液を得た。このテトラヒメナ extract を、ヒキガエルまたはアフリカツメガエルの、卵成熟前の卵母細胞に 50nl ずつ注射して一定時間 incubate したのち、5% トリクロル酢酸で固定した。固定後、卵母細胞をカミソリで切って、germinal vesicle があるかどうかを観察した。この方法によって得られた結果を以下に記す。

1) テトラヒメナは、増殖過程と接合過程に MPF 活性物質を持ち、増殖過程では、対数増殖期から定常期まではほぼ同一レベルの MPF 活性を示し、接合過程では、相補的接合型の細胞を混合してから 2h. 後に、MPF 活性が最大となる。

2) テトラヒメナの MPF 活性物質は、extract の状態では、25°C で 4h. incubate すると活性が半減し、60°C 以上にするとただちに失活する。

3) extract を20倍に希釈すると MPF 活性が完全に消失してしまう。

4) テトラヒメナの MPF 活性物質は、0.02%のトリ

プシンで 1h. 処理すると失活する。

5) テトラヒメナの無小核株 strain W は、増殖過程に MPF 活性物質を持つ。

6) シクロヘキシミド処理をしたアフリカツメガエルの卵母細胞に、卵成熟中のアフリカツメガエルの卵母細胞の細胞質と、対数増殖期のテトラヒメナの extract を注射すると、卵母細胞の細胞質を注射した卵母細胞には GVBD が起こるが、テトラヒメナ extract を注射した卵母細胞には GVBD は起こらない。

以上のことから、テトラヒメナが持つ MPF 活性物質の本体にはタンパク質が関係しており、熱に不安定な物質であるといえる。

これまでに、様々な動物の卵母細胞や体細胞、あるいは植物の酵母が MPF 活性物質を持ち、動物の種類によって違った分子量の MPF 活性物質が存在することがわかっているが、この研究で、テトラヒメナの MPF は、アフリカツメガエルの卵母細胞に GVBD を起こすのにタンパク質合成が必要であるという点で、アフリカツメガエル卵母細胞の MPF とは異なっていることが明らかになった。このことは、それぞれの MPF の作用機構の

違いを示している。

今後は、テトラヒメナの増殖時と接合時の MPF の質的な違いや、繊毛虫の細胞内での直接的な働きを検討してみたい。

質問 福井 啓二（早大・理工・物理）

テトラヒメナのホモジネートからの MPF は injection のみで効くのですか。

回答

外側からかけてみたことはありませんが、多分効かないと思います。

質問 高橋三保子（筑波大・生物科学）

テトラヒメナから抽ったという MPF と、ゼノパスからの MPF では、GVBD を誘導するまでに時間的にはちがいがいいのかどうか。

回答

テトラヒメナの MPF は、Xenopns の卵母細胞に GVBD を起こすのに 4 時間位かかりますが Xenopns の卵母細胞自身の MPF は 2 時間ほどで GVBD を起こします。

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	回数	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10回	東京都	昭和51年	盛下 勇
第2回 吹田市	昭和43年	猪木 正三	第11回	岐阜市	昭和52年	野沢 義則
第3回 広島市	昭和44年	尾崎 佳正	第12回	横浜市	昭和53年	斎藤 実
第4回 東京都	昭和45年	松林 久吉	第13回	吹田市	昭和54年	中林 敏夫
第5回 徳島市	昭和46年	尾崎 交雄	第14回	茨城県	昭和55年	渡辺 良雄
第6回 仙台市	昭和47年	樋渡 宏一	第15回	広島市	昭和56年	重中 義信
第7回 奈良市	昭和48年	稲葉 文枝	第16回	東京都	昭和57年	石井 俊雄
第8回 東京都	昭和49年	石井 圭一	第17回	津市	昭和58年	安達 六郎
第9回 大阪市	昭和50年	高田 季久	第18回	東京都	昭和59年	浅見 敬三
			第19回	大分県	昭和60年	山高 里盛

ニ ュ ー ス

第7回国際原生動物学会議（ナイロビ）の報告と
第8回国際原生動物学会議（1989年）の日本開催

（樋渡宏一）

第7回国際原生動物学会議

1985年6月24日から28日までの5日間、ケニアの首都ナイロビの Kenyatta International Conference Center (写真)において、国際昆虫生理・生態学研究センター (ICIPE) 所長の T. R. Odhiambo 教授を会長として開催された。初日24日の午前9時半から大ホールで開会式が行われ、会長の Odhiambo, 前会長のポーランドの S. Dryl, 国際連合環境センター所長の M. Tolba の演説のあと、ケニアの厚生大臣の P. C. J. O. Nyakiamo の開会宣言のスピーチで開会式を終了、Scientific program に入った。その概要は以下の通りである。



Plenary Lectures: (No. 3 はキャンセル)

1. The cell cortex during ciliate morphogenesis and ciliogenesis (Linda A. Hufnagel)
2. New approaches to vaccine development (Sidney Cohen)
4. Functional aspects of calmodulins in Protozoa (Yoshinori Nozawa)
5. Protozoa of the digestive tract of herbivorous animals (Burk A. Dehority)
6. Environmental management for the control of parasitic protozoan diseases (Thierry Freyvogel)

Symposia: (FF はキャンセル)

- AA. Zoonoses of Protozoa (chairman, I. Mann)
(Y. Yoshida et al., *Pneumocystis carinii* pneumonia in Japan)
- BB. Protozoa as indicators of ecosystems (chairman, H. Bick; co-chairman, J. J. Lee)
- CC. Protozoal viruses and interaction of protozoa with mammalian viruses (chairman, J. H. Teras)
- DD. Mechanisms of pathogenicity among protozoa (chairman, B. M. Honigberg; co-chairman, Z. Brener)
- EE. Relationship between cytoskeleton and motility (chairman, A. Grebecki)
- GG. Role of micro- and nanozooplankton in marine food webs (chairman, M. Laval-Peuto; co-chairman, J. F. Heinbokel)
- HH. African trypanosomiasis (chairman, A. R. Njogu; co-chairman, A. A. Poltera)
- II. Endocytosis of and by protozoa (chairman, J. R. Nilsson)
- JJ. Intracellular factors controlling meiosis, mitosis and cell division (chairman, G. Cleffman; co-chairman, A. Miyake)
(M. Fujishima, Induction of reinitiation of meiosis in toad oocytes by injection of *Paramecium* extracts)
- KK. Trophic dynamics and life histories of larger marine protozoa (chairman, O. Roger Anderson; co-chairman, R. Rottger)
- LL. Leishmaniases (chairman, M. J. Mutinga; co-chairman, L. Schnur)
- MM. Antigenic variation among protozoa (chairman, K. N. Brown; co-chairman, K. Vickerman)
- NN. Cell interactions in sexual phenomena (chairman, K. Hiwatashi; co-chairman, P. Luporini)
(Y. Tsukii, Genes controlling the specificity of mating type and mating-type-substance interacting in *Paramecium*)

Contributed Paper Sessions:

- A. Ecology of free-living protozoa
- B. Cytology and ultrastructure
- C. Cultivation, nutrition and preservation
(M. Abe and Y. Kurihara, Maintenance of certain rumen protozoa in a continuous fermentation system supplied with sponge materials)
- D. Epidemiology and transmission patterns
- E. Biochemistry of protozoa
- F. Environmental management for control of protozoan diseases
- G. Marine and freshwater protozoa
- H. South American and African trypanosomes
- I. Chemotherapy against infection of protozoan diseases
- J. Vaccine development in protozoan infections
- K. Systematics and evolution of protozoa

- L. Physiological adaptations of protozoa
(M. Takahashi, Mutants in membrane excitability of *Paramecium caudatum*)
- M. Protozoan diseases in man, animals and plants
(T. Shiota et al., Morphology and development of *Pneumocystis carinii* observed by phase-contrast microscopy, paraffin section and semiultrathin section light-microscopy)
- N. Immunobiological studies of protozoa
- O. Functional aspects of protozoan organelles
(H. Asai et al., Ca^{2+} -induced contraction, purification and some properties of Ca^{2+} -binding proteins in the spasmoneme of glycerinated *Vorticella* and *Carchesium*)
(Y. Shigenaka and T. Matsuoka, Mechanism of axopodial contraction in a heliozoan *Echinospaerium*)
- P. Endobionts and nuclear phenomena in protozoa

Poster Sessions: (詳細は省略)

Roundtable Workshops: (次の1と2を合併)

1. Phylogeny and evolution of protozoa, 2. Application of new technologies in identification of protozoa

特別講演を除き講演題目は、カッコ内に日本からの発表者の分だけ示した。

この外に、会期中サテライト・ミーティングとして、Malaria および Coccidia の集りがあった。

一般的に見てプログラムは、これまでに比べてかなり病原性原生動物に偏ったものとなったが、これは基礎生物学分野の原生動物学者がほとんどいないケニアのお国柄と、開発途上国の実状を反映したものであろう。講演のキャンセルが多かったのも目についた。

会議第3日(26日)の夜、Society of Protozoologists の総会を兼ねた Congress Banquet が、ナイロビの郊外にある Bomas of Kenya で行われた。食事のあとケニアのダンスが披露された。これは毎回のことであるが、また私は会員だから文句はいえないが、Society of Protozoologists の会員ではない Banquet の参加者まで会費を払った上で、延々と続く総会の議事を聞かされるのは何とかならぬものかと思う。会議の最後の日(28日)の夜は Reception があり、これは無料で御馳走が沢山あり、参加者は夜遅くまでケニアのワインを楽しんだ。また、欧米や日本からの参加者のほとんどは、会期中または学会後、Amboseli や Masai Mara などを訪ねてサファリを楽しんでいたようである。

会議終了後、2つの Workshops が、インド洋に面した Mombasa と、ビクトリア湖岸の Kisumu で行われた。前者は海産原生動物、後者は淡水産原生動物についての Workshop であった。

また、会期中に次の開催国を決定する国際原生動物学委員会が2回開かれ、野沢義則教授と私が出席したが、これについては次項で述べる。

第8回国際原生動物学会議(1989年)の日本開催決定について

国際原生動物学会議の母体機関は国際生物科学連合原生動物学委員会(IUBS Commission on Protozoology, International Commission on Protozoologyとも呼ばれる)である。したがって、会議の開催地の決定もこの委員会で行われる。ナイロビでの会期中、第1回の委員会は6月23日(開会式の前日)に国際会議と同じ Kenyatta International Conference Center で開かれた。国際会議の President は International Commission の議長も兼ねることになっており、Odhiambo 教授の司会の下に委員

会が開催された。11カ国から15名の委員と、開催地のケニアから数名の組織委員会のメンバーが参加した。新委員の紹介や、新加盟の中国代表の紹介などのあと、事務報告があり、次回開催地の提案に入った。次回の会議招待の提案は日本とアメリカのハワイの二つだけで、古い委員会のメンバーである Honigberg 教授（アメリカ）が、ドイツおよびイタリアに提案の意志がないかときそいかけたが、この両国は招待の提案をことわった。この委員会では、招待の提案だけを受けつけて、決定は次回の委員会ということで散会した。

2 回目の International Commission on Protozoology は、6月27日の午後、同じ会場で行われた。この委員会では次回招待の提案者の説明をきき、投票で決定することになった。ハワイはハワイ大学の Richard Allen 教授が説明に立ち、日本は私が提案説明を行った。Richard Allen が説明のとき、ハワイの提案は second option だとつけ加えたので、多分日本に決定するだろうと予想していたが、投票の結果は日本15票、ハワイ 1 票という結果で、次回1989年は日本開催と決定した。

国際原生動物学会議は1961年、第1回をチェコスロバキアのプラハで開催してから、4年毎に開かれ、第2回は英国のロンドン、第3回はソ連のレニングラード、第4回はフランスのクレルモン・フェラン、第5回はアメリカのニューヨーク、第6回はポーランドのワルシャワ、そして第7回が、今回のケニア・ナイロビである。はじめのプラハでの第1回は組織委員会にチェコ以外のメンバーが加わり、Society of Protozoologists (Journal of Protozoology の母体学会) が全面的に手助けしているが、第2回のロンドンのとき International Commission on Protozoology が Society of Protozoologists とは別に組織され、第3回のレニングラードのとき、この Commission が IUBS の Commission とし正式に認められた。

International Commission on Protozoology は国際会議の会期中のほか、会議と次回会議の中間の年に、次回開催予定地で開かれ、次回のプログラムや会場の様子などが審査される。したがって、1987年には日本でこの委員会を持たなければならず、それまでに、大体のプログラムの原案や、会場、会期をはっきり決めておかなければならない。

昨年の大分での日本原生動物学会第19回大会でお知らせしたように、1989年日本での第8回国際原生動物学会議は筑波大学において開催の予定である。国内の組織委員会はまだ結成されていないが、大分での幹事会では Honorary President, 藤田壽吉, President, 樋渡宏一, Vice Presidents, 渡辺良雄, 尾崎文雄, 重中義信, 鈴木直義, Secretary General, 野沢義則まで決定した。あとの組織委員会のメンバーは3月15日の打合わせ会で決定して、組織委員会が正式に発足する予定である。

いずれにせよ、外国からの参加者300~400名が見込まれる学会で、日本原生動物学会々員の皆様の全面的な御支援なしには会議を成功に導くことができないので、よろしく願いいたします。また、国際会議についての質問や御意見は私か、野沢義則教授にお寄せ下さるようお願いいたします。

(樋渡宏一)

1st International Conference of Hungary on Protozoology Memorial Session for Jozsef Gelei (1885-1952)

ゲレイ教授の生誕百年を記念して上記の会合つまり式典と原生動物に関するハンガリーとして第1回国際会議が1985年9月3日から9月6日までブダペストの中心街に位置したハンガリー科学アカデミアの本館で開催された。主催は国立科学アカデミアの生物部門と生物学会の原生動物部門。名誉会長は Dr. Törö, I. 会頭は Dr. Bereczky, Cs. M. (ドナウ河のミクロ動物と水質の専門家)。

9月3日にはゲレイ教授の家族(3人娘)や一番弟子であった Dr. Stiller ——彼女とは第14回国際陸水学会議(1959年ウィーン)で会っている——らが出席し、米国の Corliss, Uüller, ソ連の Raikov, Poljansky らによる記念講演もなされた。日本からは鈴木が出席し、9月5日の分科会 A/II において「日本における原生動物研究の歴史」という題で講演が行なわれた。講演後 Corliss などから2-3質問がなされたが、多くの出席者から“日本での研究に関する情報はどのようにして得られるか”“原生動物学雑誌の存在を知らなかった。今後はわれわれのために内容を欧文にして送って欲しい”などという発言もなされたので、ここに付記する。因みに分科会の課題と日程は以下の通りであった。

9月4日の分科会

1. Free-living protozoa (section A/I): Cytoplasmic organelles & Ultrastructure.
2. Veterinarian parasitic protozoa (section B/II): Chemotherapy of protozoan diseases.
3. Human parasitic protozoa (section C): Amoebiasis.

9月6日の分科会

1. Free-living protozoa (section A/II): Ecology/water & soil.
2. Veterinarian parasitic protozoa (section B/I): Epidemiology & Faunistics.
3. Veterinarian parasitic protozoa (section B/III): Protozoan parasites of Fishes.

9月6日の分科会

1. Free-living protozoa (section A/II): Ecology/water & soil.

(鈴木 実)

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19巻第1号をお届けします。演者の諸先生方、および第18回大会事務局の方々の御協力により、編集が円滑に進み、ここに雑誌を発行することができました。昨年6月に第8回国際原生動物学会がナイロビで開催され、本会員の相当数の先生方が出席されました。ところで次回(1989年)は日本で開催されることに決まり、その準備のための活動が開始されようとしています。会員諸氏の御協力で、その国際学会をより多岐のものとしたものです。皆様のお力添えをお願い致します。

(野沢)

原生動物学雑誌 第19巻第1号

The Japanese Journal of Protozoology Vol.19 No. 1

昭和61年6月10日 印刷

昭和61年6月20日 発行

編集兼発行人：藤田 潤吉

発行所：日本原生動物学会

岐阜市司町40 (☎500) 岐阜大学医学部生化学教室

電話 (0582) 65-1241 (内 2230)

振替口座：名古屋 1-46123

印刷所：前田進行堂印刷

(株)前田グラフィック・アーツ

京都市左京区松ヶ崎修理式町3-7

電話 (075) 722-0234・561-6108

Office of the Editorial Board

c/o Department of Biochemistry, Gifu University

School of Medicine

Tsukasamachi 40, Gifu, 500 Japan