

## 山口県内で採集された 有殻アメーバ *Cochliopodium* 属 4 種の scale の微細構造

理学部 北中一嘉・定金香里・  
村上柳太郎・山岡郁雄

### 1. はじめに

山口県における有殻アメーバ *Cochliopodium* についての最初の報告は、1981年にさかのぼる (Nagatani ら、1981)。これより先 1973年 Bark は、イギリスにおいて採集された *Cochliopodium* の電子顕微鏡的研究結果を報告している。それによると、このアメーバは細胞体の上半分を覆う殻を持ち、その殻は scale と呼ばれる単位構造からなり、その微細構造は種により独特のものであると報告している。そして3種のアメーバについて、scale の電顕的模式図を示した。Nagatani ら (1981) は、山口で採集した1種における scale の微細構造について報告し、Bark (1973) の示した3種とは異なっていることを明らかにした。その後、山岡・国広 (1985) は、山口市で *Cochliopodium* の別な種であると思われる個体を分離し報告した。

ここでは、これまでの2種と新たに採集分離した2種について電子顕微鏡像に基づく scale の立体構造を明らかにする。

### 2. 材料と方法

この実験で合計4種のアメーバの単離に成功した。その内の2種は山口市内で、他の2種はそれぞれ秋吉台及び萩市で採集された。1000倍に希釈した Chalkley's 溶液に1%になるように寒天を溶かしシャーレに入れてオートクレーブした後、固めた。その寒天上に採取してきたコケ等を置き、遊走してくるアメーバをマイクロプレートで単離し、別に用意された倍地 (大腸菌を懸濁した液をスポット状においたもの) に移植した。単個体が増殖しコロニーを作るのを待って、観察の材料とした。

位相差顕微鏡を用いて、主としてアメーバの移動形態を観察した。

電子顕微鏡用試料は、前の Nagatani ら (1981) の方法に基づいて作成し、JEM-100C 透過型電子顕微鏡 (日本電子) で観察した。

### 3. 結果

図1は、4種類のアメーバの位相差顕微鏡像である。大きさの違いが若干あるが、形態的相違や

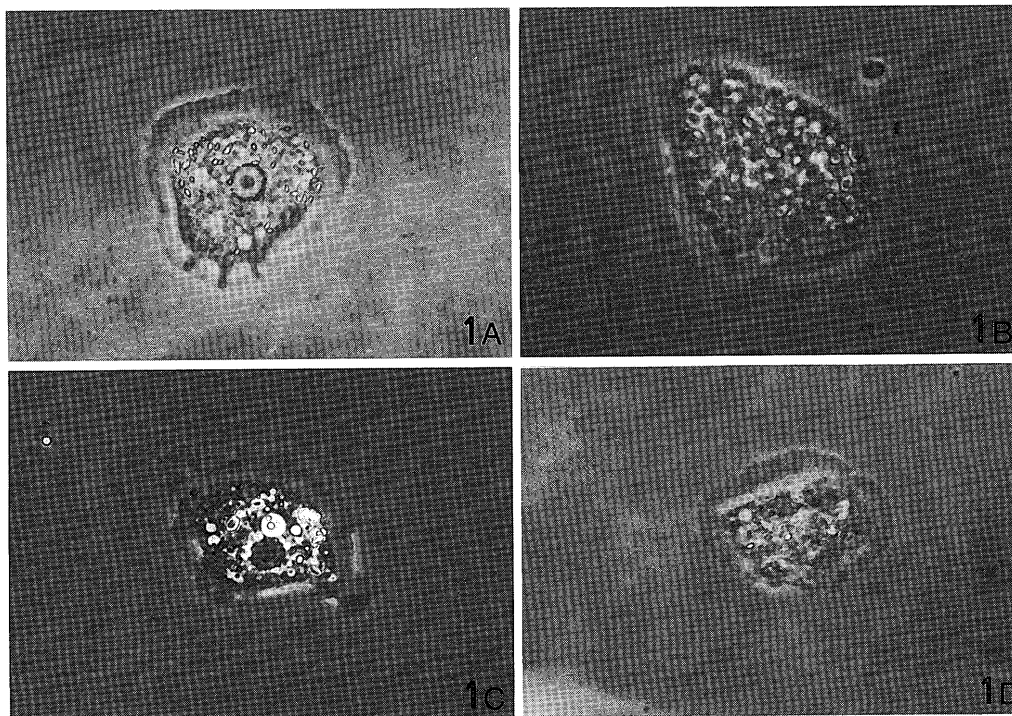


図1

locomotion form には殆んど差がない。以後4種それぞれを Type A, B, C, D と仮称する (図1)。4種ともに、やゝ扇形をした楕円形をしており、核はほぼ中央に位置し核周顆粒の存在によって輪郭が明瞭である。

核中央の黒い塊は仁である (図1,A,C)。細胞質周囲に透明外質がありその縁に僅かな偽足の突出がみられる。扇形のかなめに相当する部位の細胞質は透明外質も少なく直接外部に接しているように見えるが、この部位は細胞肛門に相当し、しばしば異物の排出と思われる像を観察することができた。細胞質内部には大小様々な透明な顆粒がみられ、そのうちの数個は収縮胞である。輪郭の明瞭な透明顆粒は、結晶体である。透明外質の部位に規則的な配列をしたやゝ薄く黒ずんだ粒状構造が見られるが、これはこの属のアメーバに固有の構造である。

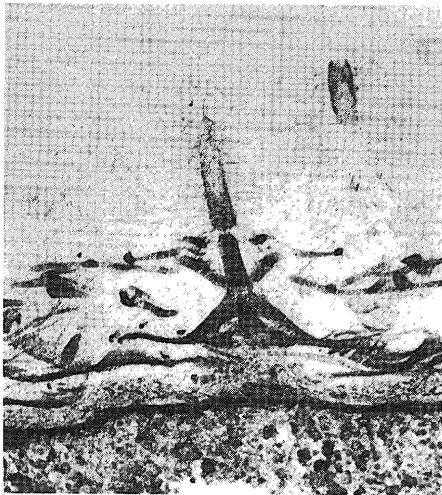


図2

図2,3は、Type A の体表部の垂直断面及び水平断面を示している。垂直断面では中心にロウソクを立てた燭台のような形状を示している。

ロウソクに相当する部分の外周は微細な繊維状構造で密に覆われている。底部と細胞表面との間には接着物質と考えられる形状の不明確な物質が存在している。恐らくそれが接着物質であろう。底部の水平断面は細い繊維状構造が円盤状に配列し、その一部から頂部へ向かって立ち上がる5本の支柱があり、それらは中央で合体し、ちょうど5枚羽のプロペラのような形態を示す。さらにその

部位から上側になると5本の繊維の束となって展開し、その先が更に3本に分かれて外側に伸びて円を支える構造となる。中心の黒い部分がロウソク状の構造の中心に相当する。それらの形態はスキーストックの先端の構造に類似している。図4は、Type B と仮称したアメーバの体表部の垂直断面を示した電顕写真である。模式図 (図9) のBに示すように基本的構造がType A と全く違っている。細胞体表面との接着部のディスク状の構造は網目構造を示し、頂部はトランペットの先端に類似した形に開いている。これら2つの部位については後に示すType C, D と類似している。しかし、底部から立ち上がる支柱の構造は独特で5角形に配列した5本の脚とその上部に5角形の脚を結ぶ繊維構造、さらにその上部に土星の輪のような多数の繊維構造からなる同心円状の輪が配置した独特

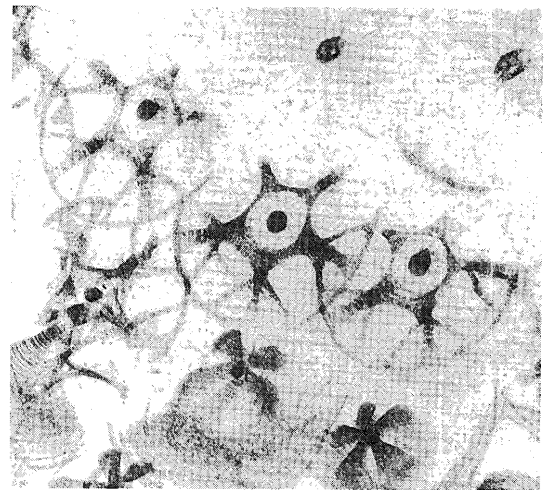


図3

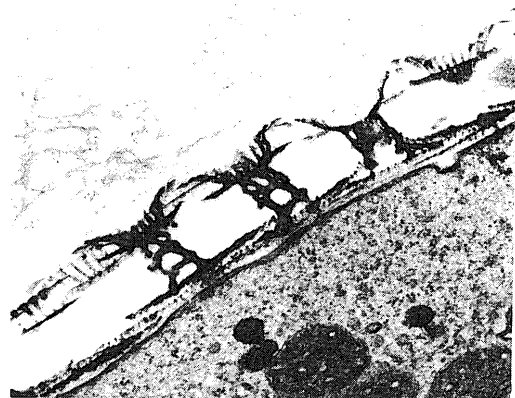


図4

の構造がある。図5は、Type Bのscaleが細胞内で膜に包まれている状態を連続切片で示した電子顕微鏡像である。内部に細い繊維構造が見られるが、明らかに図4で示した構造を読み取ることができる。これらの一連の vacuole は、細胞内の底部において観察される。

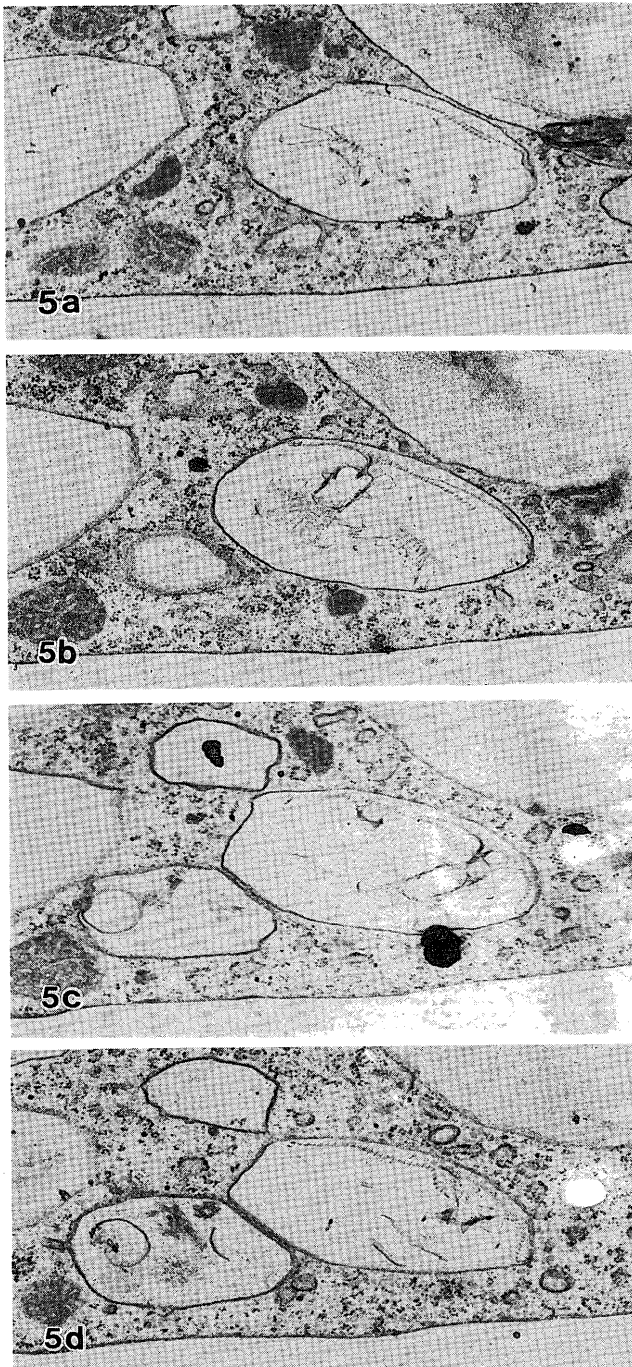


図5

類似の vacuole は Golgi complex の近辺にも観察することができたが、その内部に含まれる繊維構造は更に不明瞭な構造であった。

図6,7はType Cのscaleの垂直断面および水平断面に近い像を示した電顕写真である。この詳細についてはすでに報告されているように（長谷ら, 1981), 支柱に相当する部位は4本の束ねられた繊維構造からなっている。

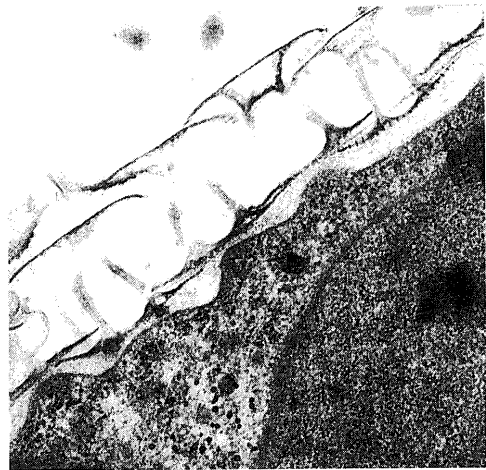


図6

図8は別の Type のアメーバの体表斜断切片像である。Type Cに類似しているが支柱の構造が明らかに異なり Type Dと仮称した。4本の支柱はそれぞれが細い繊維構造で4角形に連結されている。

図9は上に述べた4種類のアメーバのscaleを模式的に示した像である。

#### 4. 考察

今回分離された4種のCochliopodiumは、光学顕微鏡的観察からは4種と判断することはきわめて難しいことが分かった。Bark (1973) によれば、Cochliopodiumに属するアメーバは、1850年代から1920年代までに14種が記載されているといわれる。しかし、今回の観察から、種の同定には少なくとも透過型電子顕微鏡の分解能が必須であると考えられるに至った。即ち、光顕観察において、透明外質に点状に見える構造が、scaleの単位構造に相当すると考えられるが、その構造を見分けることは、その分解能では困難であった。

Bark (1973) は、3種のscaleの電顕像を報告し、それらを、*C. bilimbosum*, *C. sp.2*, *C. sp.3*とした。

我々の分離した4種の内 Type B の scale は、彼の記載による *C. bilimbosum* のものとくらべると、微細構造の上ではほぼ同一のものと判断された。また、Type A の scale は、彼の記載による *C. sp. 3* のものに類似していた。しかし、細かな点で彼の記載したものと異なっていた。すなわち、外側部の構造に関する彼の示した模式図は、ロート状に描かれているのに対し、我々の観察では、その部位の中心は五角錘状で上部及び脚の両方向に向かって細い繊維構造が伸びているものと判断された。このような僅かな違いは恐らく種の違いであろう。例えば Type C と Type D の scale においても、わずかな違いがあり、それらが同一の個体の表面に混在することは全くない。Type C は、先にも述べた

ように以前に Nagatani ら (1981) によって報告された *C. sp.* の scale 構造と全く一致した。長谷らは水槽の中から採集し分離したのであったが、今回の採集は野外であったことから、この種は野外で広く分布していることが確認されたことになる。Type C に対し、Type D の微細構造は、脚に明かな架橋構造があったことから Type C と Type D は別種であると判断され、Type D は Bark (1973) による *Cochliopodium sp.4* に相当するものと考えられる。今回得られた Type A は、山岡・国広 (1985) が報告したアメーバと同一場所で採集されたものであり、しかも scale の形態も全く一致したことから同一種と考えられ、Bark (1973) の記載した種とは異なるものと考えられる。今回分離した4

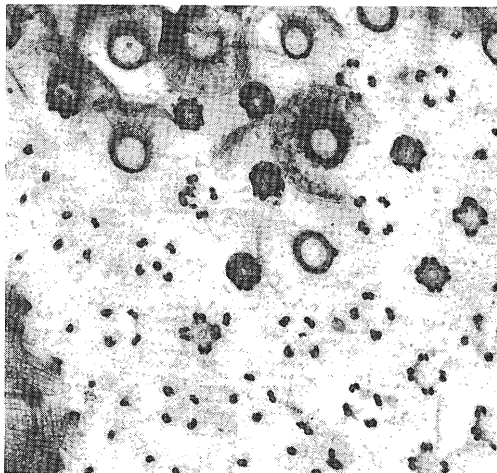


図 7

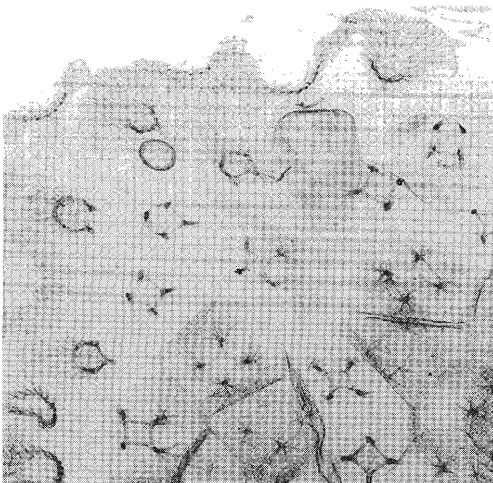


図 8

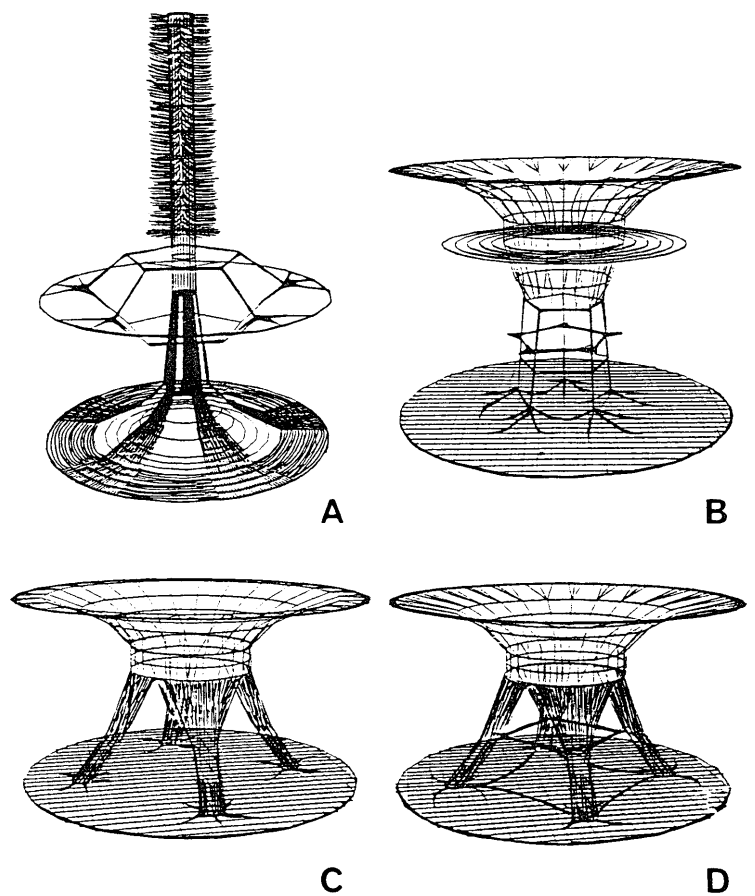


図 9

種のうち3種 (Type B,C,D) は、これまで記載されているものと同種であると考えことができ、残る1種 Type A は、全く新しい Type であると言える。今回得られたものを含めると Cochliopodium の合計6種についての scale 構造が明らかになったことになる。

このような scale がどのようにして形成されるのかについては、Yamaoka ら (1984) は、いったんシスト化させたアメーバをその後脱シスト誘導することによって、Golgi complex で作られた small vesicle 由来であることを報告している。更に、その scale の組成について分析電子顕微鏡を用いた実験から、カルシウムが含まれることも報告した (Yamaoka and Mizuhira, 1987) 。今回採集された Cochliopodium bilimbosum について定金ら (1992) が詳細な報告を行い複雑な微細構造が細胞内 vacuole 内で構築されることを示している。今回得られた電子顕微鏡像も同様に vacuole 内での微細構造を確認することができた。また、この scale が何の役割を果たしているのかについては推測の域を出ないが、おそらく殻として外界からの物理的刺激に対する防御の役割を果たしているものと思われる。しかし、Type A の scale に認められたようなローソク状の突起は、しばしば折れていたり、消失していたりしているところから考えると scale 全体が必ずしも機械的刺激に対し強固な構造物とも言えない。

#### 参考文献

- Bark, A. W. (1973): A study of the genus Cochliopodium Hertwig and Les ser 1874. Protistologica IX, 119-138.
- Nagatani, Y. Yamaoka, I. and Sato, N. (1981): Scale structure of the external surface of an amoeba. Zool. Mag. 90, 112-115.
- Yamaoka, I. Kawamura, N. Mizuno, M. and Nagatani, Y. (1984): Scale formation in an amoeba, Cochliopodium sp.. J. Protozool. 31, 267- 272.
- 山岡郁雄, 国広久雄 (1985): 新しいタイプの SCALEをもつ有殻アメーバについて山口生物, 12, 14-16.
- Yamaoka, I. and Mizuhira, V. (1987): X-ray microanalysis of the mineral components in the scales

of an amoeba, Cochliopodium sp. (Testacea) .  
Cell and Tissue Res. 247, 633-637.

定金香里, 村上柳太郎, 山岡郁雄 (1992) 有殻アメーバ Cochliopodium 属の scale 形成について

謝辞; 本研究の scale の主体構造解析には、山口大学情報処理センター山口分室の「THIRDY」を用いたことを記し、お礼申し上げます。