

高知大学学位授与記録

本学は、次の者に博士（理学）の学位を授与したので、学位規則（昭和28年文部省令第9号）第8条の規定に基づき、その論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

目次

学位記番号	氏名	学位論文の題目	ページ
甲総科博第44号	長谷川 雄也	原生生物繊毛虫コルポーダ (<i>Colpoda cucullus</i>) における土壌抽出液の脱シスト誘導効果およびシスト化阻害効果	1

<p>ふりがな 氏名(本籍) 学位の種類 学位記番号 学位授与の要件 学位授与年月日 学位論文題目</p>	<p>はせがわ ゆうや 長谷川 雄也(長崎県) 博士(理学) 甲総科博第44号 学位規則第4条第1項該当 令和5年9月20日 原生生物繊毛虫コルポーダ (<i>Colpoda cucullus</i>) における土壌抽出液の脱シスト誘導効果およびシスト化阻害効果</p>
<p>発表誌名</p>	<p>The Journal of Protozoology Research. 2023; 33: 18-31.</p> <p style="text-align: right;">審査委員 主査 教授 有川 幹彦 副査 教授 遠藤 広光 副査 准教授 三宅 尚</p>

論文の内容の要旨

原生物種コルポータ (*Colpoda cucullus*) は土壤中に生息しており、環境の悪化を感知すると、乾燥、高温、凍結などに対する耐性を持つ休眠シストを形成する (シスト化)。環境が回復すると、素早く栄養細胞となって休眠シストから脱出し (脱シスト)、分裂と増殖を繰り返す。

我々の研究室では、コルポータの培養法を確立している。シスト化は、高密度に調整した栄養細胞に Ca^{2+} を添加することで誘導される。一方、脱シストは、休眠シストに対して麦葉浸出液を添加することで誘導される。しかし、自然環境下におけるコルポータのシスト化、および脱シストを誘導する因子については明らかになっていない。そこで本研究では、土壤中というコルポータの生息環境を考慮し、土壤抽出液がコルポータに対して与える影響について検討を行った。さらには、土壤抽出液中に含まれるコルポータに直接影響を及ぼす物質の特定を試みた。

休眠シストに対して土壤抽出液を与えると、濃度依存的に脱シストが誘導され、未希釈の土壤抽出液は麦葉浸出液と同程度の効果を示した。土壤抽出液中に含まれる無機元素を分析した結果、多い順にケイ素 (Si)、アルミニウム (Al)、カルシウム (Ca)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、鉄 (Fe)、マグネシウム (Mg) であった。しかし、これらの無機元素のうちいずれも脱シスト誘導効果を示さなかった。そこで、土壤中には腐植物質が多分に含まれていることに着目し、腐植物質の構成成分のひとつであるフルボ酸と各無機元素を休眠シストに与えた。その結果、フルボ酸とケイ素を与えたときのみ脱シストが誘導された。このことは、自然環境下において、コルポータは土壤に浸み込んだ雨水などに含まれるフルボ酸とケイ素、あるいはそれらの化合物を受容して脱シストしている可能性を示唆している。

一方、先行研究により、脱シスト誘導物質、例えば麦葉浸出液に含まれるクロロフィリンなどは、シスト化阻害効果をもつことが報告されている。そこで、シスト化を誘導した栄養細胞に対して土壤抽出液を与えたところ、麦葉浸出液と同程度のシスト化阻害効果が認められた。このシスト化阻害効果は、土壤抽出液中に含まれるどの無機元素でも再現されず、フルボ酸とケイ素、およびフルボ酸とナトリウムを同時に与えたときのみ認められた。

本研究により、土壤抽出液はコルポータの休眠シストに対して脱シスト誘導効果をもつことがわかった。これにより、自然環境下におけるコルポータの生活環の一部を明らかにすることができたといえる。さらには、土壤抽出液はコルポータの栄養細胞に対してシスト化阻害効果をもつことがわかった。この効果により、脱シストしたコルポータの栄養細胞が再びシスト化するまでの時間が延長されることになるため、栄養細胞が水環境の中で分裂と増殖を繰り返し、より多くの個体を生じることができると考えられる。

本研究において、フルボ酸と無機元素の組み合わせにより、コルポータに対する脱シスト誘導効果、あるいはシスト化阻害効果が認められたが、土壤抽出液がもつ両効果の完全な再現には至っていない。今後は、フルボ酸と土壤中の無機元素との関係性、特に微量元素に着目した研究の遂行が必要であり、それが厳しい環境を生き抜くコルポータの生存戦略の分子機序解明につながると期待できる。

論文審査の結果の要旨

原生生物繊毛虫コルポータにおいては、休眠シストに培養液（麦葉浸出液）を添加することにより、栄養細胞の休眠シストからの脱出（脱シスト）を誘導することができる。本研究は、土壌というコルポータの生息環境を考慮し、土壌抽出液が休眠シストに与える影響について調べた。その結果、次のことを明らかにした。1) 土壌抽出液は濃度依存的に脱シストを誘導する。2) 土壌抽出液中には、多い順にケイ素、アルミニウム、カルシウム、ナトリウム、カリウム、鉄、マグネシウムが含まれる。3) 土壌抽出液に含まれるこれらの無機元素はいずれも脱シスト誘導効果を示さない。4) 土壌抽出液に含まれる腐植物質であるフルボ酸は脱シスト誘導効果を示さない。5) フルボ酸とケイ素を与えたときに脱シストが誘導される。このことは、自然環境下において、コルポータは土壌にしみ込んだ雨水などに含まれるフルボ酸とケイ素、あるいはそれらの化合物を受容して脱シストしている可能性を示唆している。

一方、先行研究にならい、土壌抽出液が栄養細胞の休眠シスト形成（シスト化）に与える影響について調べた。その結果、次のことを明らかにした。1) 土壌抽出液はシスト化を阻害する。2) 土壌抽出液に含まれるいずれの無機元素もシスト化阻害効果を示さない。3) フルボ酸はシスト化阻害効果を示さない。4) フルボ酸とケイ素を与えたときにシスト化が阻害される。この土壌抽出液のシスト化阻害効果により、栄養細胞はシスト化するまでの時間が延長されることになり、分裂・増殖によってより多くの個体を生じることができると考えられる。

以上の結果を含む研究成果は、原著論文として、査読付きの国際的学術雑誌 5 編（うち筆頭著者論文 1 編, *The Journal of Protozoology Research*. 2023; 33: 18-31.）としてまとめられている。このように、本研究は、これまで不明であった原生生物繊毛虫コルポータの自然環境下における生活環の一部を明らかにしたものであり、原生生物における環境応答機構について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、学位申請者長谷川雄也は、博士（理学）の学位を得る資格があると認める。