

農地環境に適応した単細胞生物の放射線耐性に関する研究

福島工業高等専門学校 学生会員 ○小泉 亮太

福島工業高等専門学校 非会員 小野 泰輝

福島工業高等専門学校 非会員 齊藤 瞭汰

福島工業高等専門学校 正会員 十亀 陽一郎

1. 背景と目的

わが国の気候区分は、温帯であり、我々は非常に温和な環境下で生活を営んでいる。おそらく、その環境下においては、日常的に死と隣り合わせの状況に陥ることは生じ難いであろう。しかしながら、地球上では、様々な環境が存在し、我々の想像を絶するような厳しい環境：極限環境が存在する。生物の生存には適していないそのような環境下においても、ある種の生物は適応して生活を営んでいる。

上記の内容とは矛盾するが、ある種の生物にとっての極限環境は、我々の身近にも存在している。例えば、田んぼや、畑に生じる水たまり（図1）などがそれに当たる。田んぼでは、水入れと脱水の人工的な水管理が行われ、水たまりでは、降雨による水環境が一時的に出現するが、雨が止めばたちまち水分は蒸発して水環境は消失する。このような農地環境における一時的な水環境においても、多数の水性単細胞生物が生息している。その多くは、水環境の消失と共に死滅するが、このような農地環境に適応した繊毛虫 *Colpoda*（コルポーダ：図2）は、乾燥に対する適応戦略として休眠シストを形成する（図2b）。休眠シストの状態では、乾燥^(1,2)はもちろんのこと、高低温^(2,3)、酸⁽⁴⁾など様々な環境ストレスに対する耐性を獲得している。また、シストは、カラカラに干からびても（図2c）、水分が戻れば通常の状態に復帰することが可能である。この状態が農地環境における乾燥に適応しているといえるであろう。このような極限生物における放射線耐性に関する研究は、多細胞生物であるネムリユスリカ⁽⁵⁾やクマムシ⁽⁶⁾などのを用いて行われてきたが、単細胞生物における放射線耐性の研究例はない。そこで本研究では、乾燥シストも含め、単細胞生物の放射線耐性に関する研究を行った。



図1. 農地環境中の水たまり。

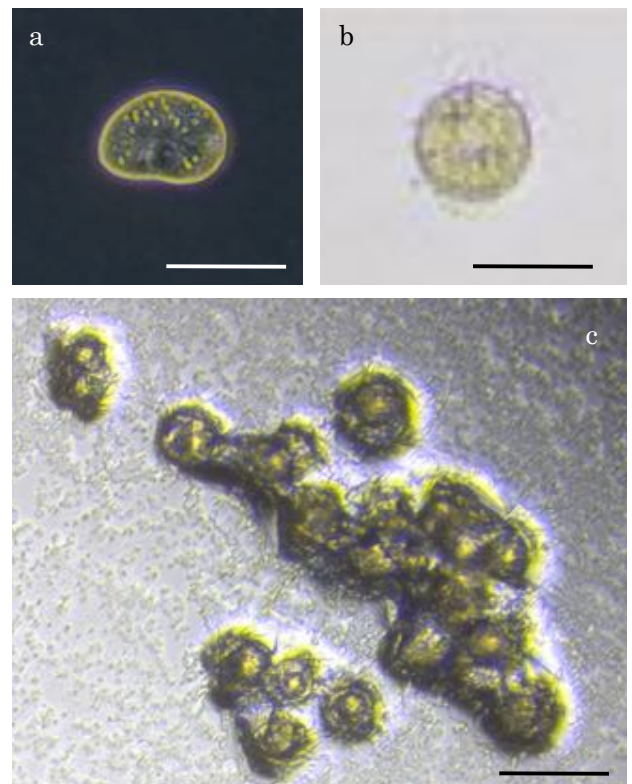


図2. 繊毛虫コルポーダの写真。

a: 養細胞, b: 休眠細胞（シスト）, c: 乾燥シスト。

バーは 50 μ m を示す。

キーワード 農地環境, 単細胞生物, 無代謝休眠, 放射線

連絡先 〒970-8034 福島県いわき市平上荒川字長尾 30 TEL: 0246-46-0875 E-mail: sogame@fukushima-nct.ac.jp

2. 実験方法

実験材料である、繊毛虫 *Colpoda* sp（コルポーダ）は、農地環境中の土壌中より採集したものを単離して培養した。採集は、乾燥した畑周辺の土壌を採集し、水戻しさせることによりシストの状態の単細胞生物を通常状態に復帰させ、その中からコルポーダ1匹を顕微鏡下で単離した。単離後コルポーダをパスツールピペットで取り出し、無菌状態の培養液の入ったシャーレに移した。この作業を5回繰り返すことで、環境中の不純物や他の単細胞生物、バクテリアなどを洗浄した。単離したコルポーダを培養して実験に用いた。

コルポーダの継代培養は、稲葉浸出液を培養液として用い、フラスコを用いて行った。培養液の材料である稲葉は、日本産（富山県）無農薬のものを入手した。稲葉は、水で軽く洗い、滅菌後、乾燥させて保存した。稲葉浸出液は、質量パーセント濃度（w/v）で0.05 %になるように純水で希釈して培養液とし、滅菌して使用した。コルポーダの餌として、*Klebsiella pneumoniae*（クレブシラ）を与えた。コルポーダは、シストの状態に保管し、使用する際に培養液を新しい培養液に取り替えることにより脱シスト化させ、栄養細胞を得た。脱シスト化させた栄養細胞を新しい培養液に移すことにより継代培養を行った。実験に用いるシストは、細胞外液を0.1mM CaCl_2 を含むTris-HClに置き換え、細胞を高密度（10000 cells/mL以上）に懸濁することにより行った。シスト誘導後1週間静置した細胞をシスト細胞として実験に用いた。さらに1週間程度静置することにより乾燥シストサンプルを作成した。

放射線の照射は、農研機構・放射線育種場ガンマールームの東芝 RI 照射装置（RE-1022）回転シャッター線源押し下げ式照射装置を用いて行った。線源はコバルト 60を使用した。線源直下のサンプルステージにディスポーサブルシャーレに作成した栄養細胞サンプルとシストサンプルをそれぞれ静置して放射線を照射した。詳細な照射条件は、発表中に議論する。



図 3. 東芝 RI 照射装置（RE-1022）

3. 結果と考察

一定量の放射線照射条件下において、通常状態の細胞はほぼ死滅したが、休眠状態の細胞（シスト）は、栄養細胞に比べ生存率が高かった。この結果から、単細胞生物繊毛虫コルポーダは、環境ストレス耐性を有する休眠シストを形成することにより放射線耐性も獲得すると考えられる。また、最も農地環境に適応したと考えられる乾燥シストも通常シストと同様に放射線耐性を獲得していた。詳細な結果は、発表中に議論する。

謝辞

本研究の遂行にあたり、農研機構 次世代作物開発研究センター 放射線育種場 武弓利夫先生、福島高等専 物質工学科 鈴木喬也氏にご協力頂きました。また、本研究は、日本科学協会平成29年度笹川科学研究助成（29-808）、JSPS 科研費（16K18827）、公益信託成茂動物科学振興基金の研究助成のもと遂行されました。

参考文献

- 1) Taylor and Strickland, 1936. *Physiol. Zool.*, 9: 15-26.
- 2) Corliss and Esser, 1974. *Trans. Amer. Microsc. Soc.*, 95: 578-593.
- 3) 松坂, 1971. 低温科学 生物編. 29:113-119.
- 4) Sogame et al., 2011. *African J. Microbiol. Res.*
- 5) Watanabe et al., 2006. *Int. F. Radiat. Biol.*, 82: 587-592
- 6) Horikawa et al., 2006. *Int. F. Radiat. Biol.*, 82: 843-848.