

4 研究内容（別紙）（次頁の作成要領に従ってください）

4.1. 研究背景と目的

本研究の研究対象である繊毛虫コルポーダ (*Colpoda cucullus*) は、降雨等により生じた一時的な水環境（例えば田畑のみずたまり）などを主な生存環境としている単細胞生物である。これらの環境下では、乾燥など様々な環境ストレスが常に存在する。コルポーダをはじめとする繊毛虫は、シスト形成を行うことでそれらの環境ストレスに耐えることができる。本種の休眠シストの場合、高温、低温（凍結）、乾燥、UV等様々な環境ストレス耐性を有することが明らかになっており、申請者は、これまでに上記に加え、コルポーダのシストが強酸・アルカリ⁽¹⁻²⁾、凍結⁽³⁾、ガンマ線⁽⁴⁻⁵⁾に対し耐性を有することを明らかにしてきた。

休眠シスト形成は、おそらく単細胞生物の陸上環境に対する最も共通な適応戦略であり、その耐性の強さや獲得機構は古くから研究されてきた。しかしながら、コルポーダに代表される淡水性繊毛虫の塩耐性と沿岸環境に対する適応に関しては、未だ未解明である。それゆえ本研究では、淡水性単細胞生物コルポーダを研究対象として、コルポーダ休眠シストの塩耐性と沿岸環境に対する適応の可能性について解明することを目的とする。

4. 2. 研究方法 次世代シーケンサーを利用した耐性遺伝子の探索（前年度からの継続）

次世代シーケンサーを利用した RNA-Seq を行うことにより、通常細胞とシストの遺伝子発現変化解析しすることで耐性遺伝子の同定を行う。コルポダのシスト形成もしくは蘇生途中の細胞から RNA を抽出し、それぞれの細胞で発現している遺伝子を次世代シーケンサーにより比較解析する。膨大な遺伝子配列データを扱うバイ オインフォマティクス解析を CMES 生態・保健科学部門に設置されている専用高速計算サーバ4台を活用して実施する。発現変化(発現増加・発現減少)する遺伝子に対して遺伝子オントロジー解析を行い、塩耐性と関連が示唆される遺伝子を明らかにする。

4. 3. 研究成果と今後の課題

昨年度と同様、繊毛虫コルポダの休眠シストにおける塩耐性を継続して検証することができ、さらなる研究成果を得ることができた。また、耐性を獲得するために必要な遺伝子の解析において、次世代シーケンサーによる解析を実施し、遺伝子オントロジー解析により塩耐性に関与すると思われる遺伝子の候補について明らかにすることができた。これらの遺伝子群の機能解析と、実際のフィールドにおいて淡水性の繊毛虫が海水中から検出出来るかなど生態学的な研究が望まれる。得られた成果を論文にまとめ、下記プレプリントとして投稿した。本年度の予算は英文校閲費の一部として使用した。

Ryota Saito, Hiroki Yamanobe, Kazuma Yabuki, Tomohiro Suzuki, Takeru Saito, Shuntaro Hakozaki, Manfred Wanner, Ryota Koizumi, Tatsuya Sakai, Maribet Gamboa, Toshihiko Tanaka, Akiko Ono, Hoa Thanh Nguyen, Yuta Saito, Tetsuya Aoyama, Katsuhiko Kojima, Futoshi Suizu, Kozo Watanabe, 2024. Can Colpoda travel across oceans? Salinity tolerance of resting cysts may enable global dispersal of the species. bioRxiv.(doi: <https://doi.org/10.1101/2023.11.22.568208>).

4. 4. 参考文献

- 1) Sogame et al. *African J. Microbiol. Res.* 2011.
- 2) Nakamura, Sogame et al. *J. Protozool. Res.* 2020.
- 3) Matsuoka, Sogame et al. *Acta Protozool.* 2020.
- 4) Saito, Sogame et al. *J. Protozool. Res.* 2020.
- 5) Saito, Sogame et al. *Acta Protozool.* 2020.