

GENSEI-SEIBUTSU

原生生物

第 2 卷 第 1 号 (2019)

目次

日本原生生物学会 会長就任のご挨拶

会長 春本 晃江	1
----------	---

特別寄稿

「テトラヒメナ (*Tetrahymena*) 研究の回顧」

野澤 義則 (東海学院大学)	2
----------------	---

総 説

「ミドリゾウリムシとクロレラを用いた二次共生の成立および維持機構の解明の研究」

児玉 有紀 (島根大学)	15
--------------	----

第52回 日本原生生物学会大会 (水戸) のご案内 (第1報)

北出 理 (茨城大学)	25
-------------	----

第51回 日本原生生物学会大会 (松江) のご報告

児玉 有紀 (島根大学)	27
--------------	----

学会賞 受賞者コメント

島野 智之 (法政大学)	30
--------------	----

BPA 受賞者コメント

西上 幸範 (北海道大学)・松田 達也 (愛媛大学)	31
----------------------------	----

書 評

「プランクトンハンドブック 淡水編」

矢吹 彬憲 (海洋研究開発機構)	32
------------------	----

活性化委員会からのお知らせ

末友 靖隆 (岩国市ミクロ生物館)	33
-------------------	----

学会等開催情報	34
---------	----

学会員による著作物	34
-----------	----

若手の会 通信	35
---------	----

会長挨拶 矢崎 裕規 (東京大学)

2018年若手の会夏の合宿 活動報告 小林 真弓 (中央水産研究所)

原生生物学会松江大会 若手の会 活動報告 柴田 あいか (立命館大学)

本会記事	37
------	----

事務局からのお知らせ

庶務 洲崎 敏伸 (神戸大学)・庶務補佐 杉浦 真由美 (奈良女子大学)	42
--------------------------------------	----

日本原生生物学会 会長就任のご挨拶

会長 春本 晃江

2018年10月の年大会のあと、日本原生生物学会の会長に新しく就任いたしました春本晃江です。私は、大学院生の時に、横浜で開かれた日本原生動物学会ではじめて発表をさせていただいてから40年以上の間、大会での発表、学会誌への論文掲載で、本学会にはたいへんお世話になりました。学会運営にも参加させていただき、私個人にとっても大きな比重を占める本学会で、会長を務めさせていただけるということに改めて身が引き締まる思いです。微力ながら、精一杯、学会のために努力していききたいと思います。どうぞよろしくお願い申し上げます。

本学会の歴史は、「原生動物学雑誌」(17巻1号4-5頁, 1984年: 36巻2号129-140頁, 2003年)に詳しく書かれています。1962年に故阿部徹先生と故柳生亮三先生のお二人が中心となって、日本原生動物学会として発足しました。その趣意書には「原生動物学という枠をはなれて、原生生物のもっている特殊性と一般性とを明らかにすることを目的とし、原生生物に関心をもち、或はこれを素材として扱っている方々の、多方面からの共同討議の場」として設立するとあります。

私は、沼田治前会長がご尽力されてきた、以下の4つの目標を引き続いて掲げ、その実現に向けて新たな試みも含めて実施していきたいと思っています。

① 年大会の充実

広い分野の研究者を招き入れ、より魅力的な大会を目指します。

日本で行われている研究を国際的に発信できるような大会、学部生・院生・若手・中堅・ベテラン研究者・退職者等、さまざまな年齢層の会員が集い、自由に議論を交わし、元気になれるような大会を実践していきます。中高生や教員の方々に向けた情報発信にも力を入れます。

② 学会誌の充実

長く本学会の機関紙であった「原生動物学雑誌 (The Japanese Journal of Protozoology)」は、歴代の事務局と編集委員会のご尽力により、2018年3月に、英文誌「Journal of Protistology」と和文誌「原生生物」として生まれ変わりました。英文誌の方は、J-STAGE上で公開されています。迅速な公開とアクセスの便利な電子ジャーナルとしての利点を活かし、原生生物の研究の情報源として一目置かれる国際誌を目指します。和文誌の方は、学会の会報としての役割を果たすとともに、和文の総説や寄稿を掲載して、研究を基盤的に支える冊子を目指します。いずれも編集委員会を中心に、原生生物を材料としたキラリと光る研究成果が掲載される冊子として、大切に育てていききたいと思います。これらの冊子の充実と発展は、私たち学会員の肩にかかっています。会員の方々はもちろんのこと、広い分野の研究者の方々の投稿をお待ちしています。

③ 原生生物を研究材料とする若手研究者の育成・援助

本学会は、これまで若手研究者の国際学会への旅費の援助を行ってきましたが、これまでも増して、若手研究者の支援を積極的に推し進めます。若手研究者が気後れすることなく、自信をもって世界に大きく羽ばたいていくためのお手伝いができればと思っています。

④ 海外の原生生物学者との研究交流の推進

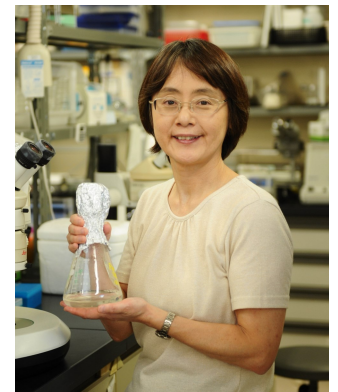
本学会は、世界の中で果たすべき役割を自覚し、海外の原生生物関連の学会にこれまで以上に協力し、連携していきたいと思っています。

ICOP (International Congress of Protistology) は、4年に1度開かれる原生生物学の分野の大きな国際学会で、2017年8月のプラハの大会で15回目を迎えました。このICOPを運営する国際委員会 (International Commission on Protozoology) の発足には日本の原生生物学者が貢献したことが「原生動物学雑誌」(1巻1号30-33頁, 1968年)に記されていますし、第3回ICOP大会(1967年)から本学会は委員を出しています。2017年8月より、この国際委員会はISOP (International Society of Protistology) の傘下に入りましたが、本学会は、これからもICOPの発展に協力して参ります。

2018年7月に濟州島で行われた韓国との合同原生生物学会は成功裡に終わりました。日本と韓国の若手研究者が6名ずつシンポジストとして発表を行い、国境を越えて、密な研究交流ができたと思います。この結びつきを大切に、今後も韓国と合同のイベント開催を行っていきたくと考えております。また、ACOP (Asian Congress of Protistology) についても、今後の関わり方を検討し、私たちの学会が果たす役割を考えていかなくはなりません。

新たな試みとしては、本学会の諸規則や学会長・評議員の任期についても再考し、なるべく多くの会員の皆様に学会の運営に積極的に参画していただけるような体制を構築していきたいと考えています。

今回、会員により選出された評議員16名の方々は、年齢も経験もさまざまです。それぞれの役割分担など、詳しくは学会HPをご覧ください。30歳代から40歳代の方も多く、評議員会は全体として若返りました。今回はじめて評議員に選出された方も何人いらっしゃいます。これまでに積み上げた基盤を大切にしつつ、新しい議論も生まれることを期待しています。日本原生生物学会の充実・発展のために、皆様のご理解とご協力をお願いいたします。



特別寄稿

テトラヒメナ (*Tetrahymena*) 研究の回顧

野澤 義則

Yoshinori NOZAWA

東海学院大学 健康福祉学部 管理栄養学科

〒504-8511 岐阜県各務原市那加桐野町 5-68

1) はじめに—テトラヒメナ細胞との出会い

テトラヒメナ細胞との初めての出会いは半世紀前の1969年にまで遡る。ここで、当時の周辺状況について若干触れておこう。1年間の研修医課程を終えて生化学教室（岐阜県立医大・伊藤友喜教授）の院生となり、教室の主要研究テーマである皮膚糸状菌を中心とした病原性真菌細胞の生化学的研究の中から、キノン系産生色素の化学構造、生物活性および細胞内局在を研究することになった。化学構造の解析に関しては、東大薬学部生薬学教室（柴田承二教授）における有機溶媒の蒸留など有機化学の手ほどきに始まり、IR, NMR, X線解析などの分析手法の指導を受けることができ、このことが後のライフワークとなる生体膜脂質の動的構造・シグナル伝達（signaling）の研究にとって貴重な経験となった。また、色素の細胞内局在を電子顕微鏡（電顕）で調べているなかで、高等動物細胞の場合とは著しく異なる未熟なミトコンドリアなどのオルガネラに不思議な魅力を感じた。当時は生体膜の構造に関する研究が活発で、さまざまな膜モデルが提示されたが、JD Robertson によるリン脂質二重層を基本とする単位膜（unit membrane）説が広く受け入れられていた（1964年）。折しも国内にあってはオリンピック・新幹線開通の賑やかな年でもあった。

このような背景もあってか、私の生体膜研究への思いが高まり、大学院修了後の米国留学に思いを馳せていた。留学先の有望な候補の1つとして教室の藤井達三助教授の留学先でもあった赤血球膜生化学の研究で名高いワシントン大・DJ Hanahan 教授の研究室を想定していたが事情が一変した。というのは、Hanahan 研で

共同研究を予定していた脂質研究者のトンプソン（GA Thompson）先生がテキサス大学（オースチン校）に移籍することになったからである。4年間の大学院を終え、生化学教室の助手（今の助教）として真菌細胞の研究を続けながらも、生体膜研究のための留学への思いは積もるばかりか、焦りさえも感じていた。そんな折、図らずもトンプソン先生から一通の手紙が届き、2か月後の国際生化学会（1967年、東京プリンスホテル）への出席の際に、彼の研究活動の現況を直接伺えるという願ってもない知らせに心躍らせ、折り返し快諾の意を手紙で伝えた。

いよいよその初対面の日がやってきた。学会場内で待ち合わせ握手を交わし昼食を共にすることになったが、席に着くやトンプソン先生は懇切丁寧に研究内容を語り始め、真核原生動物のテトラヒメナ細胞が生体膜研究にとって優れたモデル系であることを強調し、ついで研究チームへの参加の強いお誘いを受けた。その時こそが、「テトラヒメナ」を初めて耳にした、いわば言葉の上での出会いであり、実物との出会いは2年後の彼の研究室となる。この細胞の膜研究にとっての有用性として、人工培地による培養と同調培養が容易であること、高等動物細胞に近いオルガネラが発達していること、生育環境適応能が高いことなどを熱く説く彼の表情が今でも思い浮かぶ。緊張のなかにも楽しい2時間余を過ごした後に握手をして別れたが、彼の“See you again in Texas”の言葉が強い印象として心に残った。その後、具体的な研究プロジェクトに関する情報交換を重ねる中でテキサス大への留学を決心することになるが、こちらの研究室の事情もあり結局1969年10月に文部省在外研究員として2年間派遣されることになった。

ところで本稿では、留学を機に始まり長きにわたる数々のテトラヒメナ膜研究の中で、トンプソン研にお

E-mail: ynozaawa1936@gmail.com

Received: 15 Nov 2018; Accepted: 5 Feb 2019.

ける膜形成 (membrane formation), その後の膜脂質の環境適応メカニズムおよびカルモデュリン (calmodulin) の発見・特異性など, 主な 3 つの研究を取り上げて回顧してみたい。記憶の拠りどころとしたのは 2 回連続の国際原生動物学会での Plenary lecture である。第 6 回大会 (ワルシャワ, 1981 年 7 月) で ‘Environmental adaptation of *Tetrahymena* membrane: Role of lipids’, ついで第 7 回大会 (ナイロビ, 1985 年 6 月) で ‘Functional aspects of calmodulin in protozoa’ と題して講演する光栄な機会が与えられた。これらに加えて, 膜形成, 膜脂質適応修飾, カルモデュリンなど一連の研究に対して与えられた Hutner 賞ももう 1 つの拠りどころとなっている。その受賞講演 (米国原生動物学会, サンフランシスコ州立大, 1982 年 8 月) の冒頭に “Small cute *Tetrahymena* cells gave me lots of basic important information for the biomembrane research” のようなことを言った覚えがある。またそれ以前にも, テトラヒメナ研究を始めて 8 年目の私にとって記念すべき総説をトンプソン先生との共著でまとめることができた (Thompson and Nozawa, 1977)。

想えば, 本稿の執筆以前にもテトラヒメナ研究を回顧する機会が一度あった。それは第 46 回日本原生動物学会 (広島大, 2013 年) において, 細谷浩史大会長のご厚意でさせていただいた「私のテトラヒメナ研究小史を顧みて」と題した特別講演である。実際にその時のスライドの何枚かはここでも図表として使っている。なお, 予めお断りさせていただくが, 文献は研究の流れを示す年代の指標として必要なものに限定した。また, 末尾の原著論文のリストに加え, 関連する著書・総説をまとめて示した。また, 図表に関しても, 英語・日本語表記の混在および字体の不統一・不鮮明さなどはご容赦願いたい。

2) テトラヒメナ細胞の膜形成 (Membrane formation) の研究－膜脂質を中心に (テキサス大留学)

いよいよ念願の留学の時がやってきた。羽田を発ちロサンゼルス経由でテキサス・オースチン空港に家族 3 人 (娘 3 歳) で下り立ちトンプソン先生の温かい出迎えを受けた (1969 年 10 月)。機中これからの研究に思いを馳せながら, 期待と一抹の不安が交錯する複雑な気持ちであったが, 彼の “Welcome to Austin” という高らかな声と握手ですっかり心が和んだ。早速彼の家に向かい, 一週間ほど滞在させてもらうことになった。オースチンは州議事堂とテキサス大学をシンボルとした静かな街であり, 当時は米国内で最も住み易いとも云われていた。郊外に車を 1 時間も走らせると西部劇を思わせる広大な景色が目に入る。翌日には研究室に行き一通りの挨拶廻りを終え, 細胞培養装置や分析機器など研究設備の説明を受けながら, その充実さに感嘆し実験への気運が高まるばかりであった。そしてつ

いに, 2 年前に東京で初めて耳にした ‘テトラヒメナ’ の実物との出会いの時が来た。顕微鏡下に活発に動く小さなテトラヒメナ細胞を眺めた時は, まさに興奮と感動の瞬間であった。なにとはともあれ, 膜形成の研究には同一条件下で培養したテトラヒメナ細胞から, 系統的に膜画分を分離することが必須条件であり, 全くの未知なチャレンジだけに不安ばかりであった。

a) 系統的な膜分離へのチャレンジ

いよいよ本格的に研究を始めることになるが, 電顕写真と顕微鏡下の小さな細胞とでは隔たりがあまりにも大きく, 果たして系統的に膜画分が分離できるか正直なところ確信はなかった。あたかも小舟で大海に乗り出したような感じであった。目的とする膜画分は纖毛膜, 外皮膜 (pellicles), ミトコンドリア, ミクロソームなどであった。とりあえず, 纖毛を離脱しても細胞が壊れ (rupture) ない条件を見つけることが先決であった。そのためには, まず緩衝液 (バッファー) やホモジナイザーを選択することが必要であり, 試行錯誤を繰り返し最終的には 0.2 M リン酸バッファーとガラスホモジナイザー (手動) を選んだが, それまでにバッファーを変えてはホモジナイズし顕微鏡観察するという単純な実験を週末返上で連日繰り返し, 時には研究室で夜明けを迎えることもあった。そんなある日, 0.2 M リン酸バッファーの中で一旦は縮小 (shrinkage) した細胞が数分後には元の大きさに戻り, そのタイミングで素早く数回軽く (gently) ホモジナイズすると, 纖毛が離脱しても細胞が壊れないままであることを発見した。その細胞を目の当たりにした瞬間は感激のあまり歓喜の声を飛ばさばかりであった。ガラスホモジナイザーの厳密なクリアランスの選定が非常に重要で, 1 ダース注文しても 2, 3 本しか実際には使えないこともあった。つまり, 適切なクリアランスの中型ホモジナイザーを微妙な手加減で操作するという, まさに職人技とも思える技術が極めて重要であり, この脱纖毛 (deciliation) のステップがそれに続く他の膜画分の分離の成否を決めることになる (写真 1)。



写真 1. ‘職人技’ の special technique (当時 33 歳)

このことに関連して、トンプソン先生の提案で、最初の論文 (Nozawa and Thompson, 1971a) の中に、‘The completeness of deciliation depends upon the particular homogenizer and the experience of the operator’ の一文が入っている。このようにして調製したホモジネートから遠心分離によって繊毛画分と脱繊毛細胞が得られた。次に、この脱繊毛細胞から他の膜画分を分離することになる。脱繊毛操作の場合、 10^7 細胞/ml より濃い細胞浮遊液 (2.5×10^7 細胞/ml) をクリアランスの小さい小型ガラスホモジナイザー中で力強く (vigorously) ホモジナイズし、ついでホモジネートをショ糖密度勾配遠心によって再分画した。位相差顕微鏡で目にした見事な外皮膜‘ゴースト’は初成功でもあるだけに実に感動的であった。また顆粒層からミトコンドリアを分離し、その上清を高速遠心 ($105,000 \times g$, 60 分) することによってミクロソーム画分を得た。ショ糖密度勾配の条件設定も試行錯誤の連続で大変な思いをした。

かくして、当初目標であった膜画分の系統的分離で満足すべき成果を得ることができ、トンプソン先生宅のクリスマス会で祝杯を挙げたが、彼の“Congratulations”の大きな声でこれまでの2か月間の苦勞もすっかり報いられ、安堵と感動の記念すべき日となった。実は以前にこのプロジェクトについて話し合った際に、彼が口にした“by X’mas”は冗談とも思えたが、その後ずっと気になっていた。ところで、この系統的膜分離法を学会や論文で発表すると、その具体的な手法、特に外皮膜ゴーストの分離に関する問い合わせがあり、その都度トンプソン先生は‘special technique’などと応答していたが、ある時には公開実験のためにアイスバケットなど職人道具一式を積んで他大学に車を走らせ、集まった研究者の目前でその‘special technique’振りを披露したこともあった。なお、この系統的膜分離法の詳細は *Methods in Cell Biology* に掲載された (Nozawa, 1975)。クリスマスも終わり、すがすがしい気分新年 (1971 年) を迎え、次のプロジェクトである膜形式の研究に必要な膜脂質分析にとりかかり、各膜画分の脂質組成を薄層クロマトグラフィー (自製のシリカゲル薄層プレート) によって分離、定量分析し膜脂質局在の特異性を明らかにすることができた。

b) 膜形成 (Membrane formation) – 細胞膜系へのリン脂質分子の取り込み

前述したように生体膜は基本的にはリン脂質二重層から成り立っており、各膜画分へのリン脂質の取り込み (incorporation) の経時的分析から膜形成の動態を解析することができる。この実験に必須な系統的な膜画分分離法もすでに確立しており、これこそが留学の当初からの主たる目的であったため、その実験に心はずませた。具体的には、アイソトープ標識した脂質の前駆体 (^{14}C -酢酸, ^{14}C -パルミチン酸, ^{32}P) で細胞をパルスラベル (5 分間) した後に経時的に各膜画分を分離

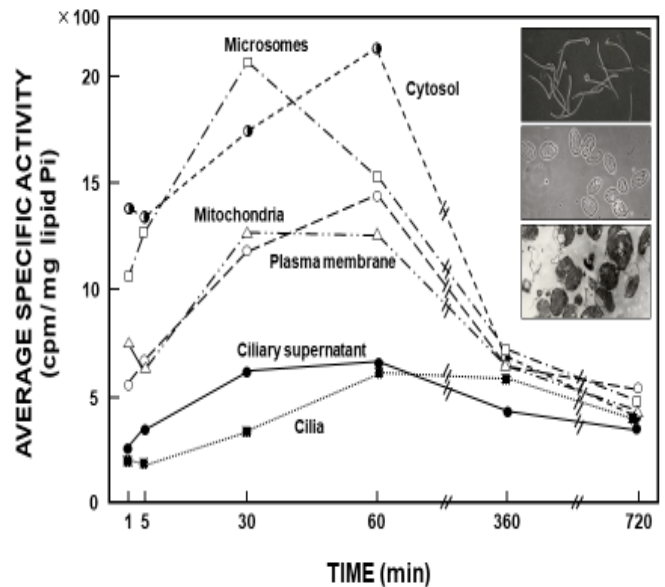


図 1. テトラヒメナ細胞の各膜画分における ^{14}C -パルミチン酸のリン脂質への取り込み。右上写真 (上から繊毛, 外皮膜, ミトコンドリア)。Nozawa and Thompson (1971b) を改変して転載。

し、それぞれのリン脂質のアイソトープ取り込み (比活性 (cpm)/リン脂質量) を測定した。 ^{14}C -パルミチン酸ラベルの例では、脂質生合成の場である小胞体画分 (ミクロソーム) とその上清は短時間 (1~5 分間) ですでに高い比活性を示すのに対し、表面膜系 (繊毛膜, 外皮膜) では低い取り込み状態が続き、膜系全体が平衡状態に達するには 6 時間を要した (図 1)。また、それぞれの膜画分の主要リン脂質 (PE, ホスファチジルエタノールアミン; PC, ホスファチジルコリン; 特異脂質 AEPL, 2-アミノエチルホスホノリピド) について、ミクロソーム比活性と繊毛膜比活性の比を経時的に調べると、ラベル 1 分間ではそれぞれの値は異なるが、6 時間後にはいずれのリン脂質もほぼ同じ値 (1~1.5) を示すようになる。このような傾向は ^{14}C -酢酸ラベルでも観察された。

これらの結果から、生合成の場である小胞体から‘intact’なリン脂質分子が、それぞれ離れた目的の膜に何らかの方法で移行することが推測された。つまり、リン脂質分子の‘transfer’機構にある種の vehicle (担体) が関与していると考え、それをキャリアタンパク (carrier protein) として細胞膜系間のリン脂質分子の移行動態モデルを提示した (Nozawa and Thompson, 1971b)。今日では肝細胞などで細胞内の詳細な移送機構が明らかにされているが、半世紀前のテトラヒメナ系ではこの仮説モデルを提案するのがやっとであった。ところで、この実験は正常対数期細胞を用いて行った。この時期は細胞分裂のために脂質やタンパク質の活発な *de novo* 合成が行われているため、リン脂質分子の膜への取り込みが net 合成によるものか、あるいは交換 (exchange) 反応によるものかが判然としない。

そこで、de novo 合成活性の低い非増殖 (non-growing) 系で同様な実験を行った。静止期細胞、栄養飢餓細胞 (無機培地)、脂質合成阻害剤 (TPIA) またはタンパク質合成阻害剤 (シクロヘキシミド) 存在下の細胞について検討したところ、正常対数期細胞の場合とほぼ同じ結果が得られたことから、リン脂質分子の膜取り込みの際に活発な交換反応 (既存脂質分子と新規合成脂質分子) が行われていることが推測された (Nozawa and Thompson, 1972)。

ついで、テトラヒメナ膜の特異脂質である AEPL とテルペノイドのテトラヒマノール (tetrahymanol) が表面膜 (繊毛膜, 外皮膜) に量的に多く局在する理由を検討した。そのメカニズムとして、小胞体で合成されたこれらの脂質分子が標的膜へ特異的に移送される可能性 (例えば特殊なキャリアータンパクの存在)、あるいは標的膜側において選択される可能性 (例えば酵素による分解) が考えられたが、解析の結果、これら両脂質は膜酵素による分解に抵抗性をもつためその結果として蓄積する、すなわち、後者が妥当な説であることが明らかになった (Thompson et al., 1971)。因みにテトラヒマノールは、哺乳動物の細胞膜コレステロールと同様な働きをしていると考えられている。

かくして、予定されていた膜形成プロジェクトを終えることになった。限られた 2 年間ではあったが、当初目標を超える成果を挙げることができ実に充実したテキサス大学での研究生活であった。その間、ただひたすらに研究に没頭するばかりで、世に言う ‘hard worker’ の立派な見本であった。不思議なことにこのことを内心誇らしく思っていたのかも知れない。出国を翌日に控え研究室の片づけを済ませ、鍵の返却のために小走りで事務局に向かう途中、夕日に映える大学のシンボルの時計塔を目にするや胸に熱いものを感じ、その時の光景は今にしてもなお鮮明に思い浮かぶ。トンプソン先生宅でのお別れ夕食会でも、まだ研究のことが話題となり奥さんから注意される一幕もあったが、終始和やかな雰囲気の中で 2 年間のオースチン生活の思い出に花が咲いた。そして翌日の朝、トンプソン先生はじめ教室員の見送りを受け、家族 4 人 (次女 4 ヶ月) 別れを惜しみつつオースチン空港を後にした

(1971 年 9 月)。その後何日かして、私が去った研究室を俳句に詠んで手紙とともに送ってくれた (写真 2)。

3) テトラヒメナ膜脂質の環境適応機構の研究 — 温度変化を中心に

上述したように留学 2 年間の主なプロジェクトであった膜形成 (膜脂質取り込み) に関しては、ほぼ当初目標を達成することができたが、その一方で細胞の生育環境変化に対する適応機構における膜脂質の役割に関心が募り、帰国後の研究課題として考えていた。細菌をはじめとして広く生物は、外界環境変化を的確に認識し、それぞれの適応機構を作動して膜脂質構成を修飾し、至適な膜状態を保持することが知られている (homeoviscous adaptation)。テトラヒメナ細胞には、多様な環境変化に対する適応能が高いこと、また各膜系画分の分離法が確立されていることなどの利点があり、環境適応・膜脂質プロジェクトに極めて好都合なモデル系と考え、帰国して間もなく予備的な実験を始めた。そんな中で、まさにエポックメイキングな Science 誌 (1972 年 2 月号) の論文を目にするや胸が高鳴った。SJ Singer & GL Nicolson による ‘Fluid mosaic model’ (流動モザイクモデル) の提唱であり、Robertson の単位膜説以降の変遷を経て誕生した実に画期的な生体膜モデルであった。そのニコルソン博士は、3 年後 (1975 年) に名古屋で講演した時に座長を務めた私にこの見事な記念サイン (図 2) を手渡ししながら、この膜流動モデルの着想は 28 歳の時であったと付け加えた。この膜モデルの出現によって、環境変化による膜脂質修飾は、膜流動性 (fluidity) の適応調節にとって重要であることが示され、関連領域の活発な膜研究が展開された。我々も当初計画に流動性関連の実験を積極的に取り入れることにし、その手法として電子スピン共鳴法 (ESR)、蛍光偏光、X 線回折法、またフリーズ・フラクチャー電子顕微鏡を用いた。

我々は、テトラヒメナ細胞ではさまざまな生育環境

Silent centrifuge
Once active cells now quiet too
Mourning your absence
Guy Thompson

写真 2. トンプソン先生作の惜別の俳句

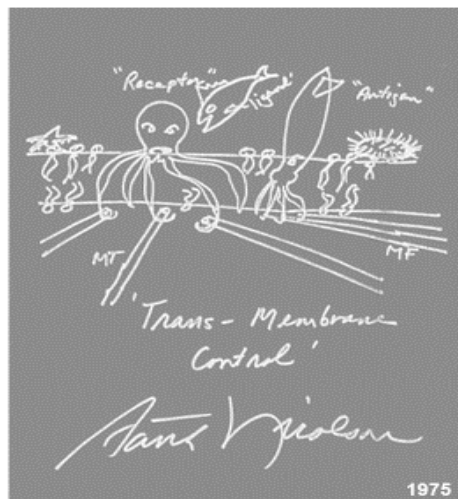


図 2. Nicolson 先生の ‘流動膜モデル’

因子（物理的因子として温度，化学的因子として薬物処理，栄養因子として脂質・その前駆体の添加，飢餓）の変化に対応して膜脂質の構成修飾が生じ，それに伴って膜流動性が変動することを多くの実験で示してきたが，その巧妙な適応修飾に感動するばかりであった．その1例としてエルゴステロール添加を紹介する．外膜系（外皮膜，絨毛膜）に局在する特異脂質のテトラヒメナールは外来エルゴステロールによって置換され，それに伴ってリン脂質・脂肪酸構成の修飾と膜流動性の低下が生じ，対照膜と比べて外皮膜のアデニル酸シクラーゼ活性が低くなり，活性化エネルギーの転移点も 8°C ほど低温側にシフトした．この結果は，膜の脂質構成・流動性の修飾と膜機能の密なる連係を反映している．ところで，以降は温度変化，なかでも低温ストレス応答を中心に述べる．なお，これらの内容に関して総括的に総説として日本学士院紀要 (Nozawa, 2011) にまとめた．

a) 温度変化による膜脂質構成・流動性の適応修飾 (Adaptive modification)

2つの温度変化の方法，すなわち定温（高温，低温）培養と低温シフト (shift) について検討した．なお，後者の実験の1部は日米協力科学研究プログラム（3年間）として行なわれ，これを機に院生の北島康男君がトンプソン研に留学することになった．

最初に定温（高温，低温）培養の実験であるが，*T. pyriformis* WH-14 細胞を 15°C，25°C，34°C で培養し，それぞれから分離した膜画分（絨毛，外皮膜，ミトコンドリア，ミクロソーム）の脂質構成を分析した．温度依存的な脂質分布の変動がみられたが，特に脂肪酸（アシル鎖）の変化が顕著であった．ここに 25°C 培養細胞からの膜画分について ESR による流動性測定の

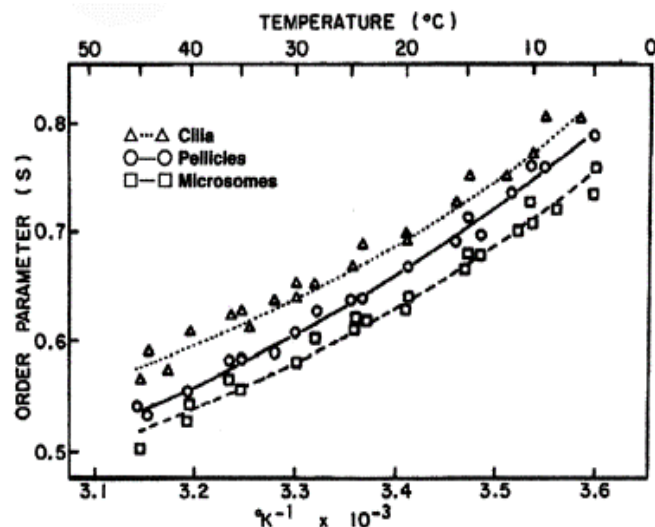


図3. テトラヒメナ細胞の絨毛膜，外皮膜，ミクロソームの流動性（電子スピン共鳴法によるオーダーパラメーター測定）. Nozawa et al. (1974) より転載．

データを示すが，ミクロソーム＞外皮膜＞絨毛膜の順で流動性が大きい（図3）(Nozawa et al., 1974)．また，低温（15°C）培養細胞由来の各膜画分の流動性は，いずれも高温（34°C）細胞膜画分より大きく，脂肪酸組成の特徴的な修飾がよく反映されている．この論文には格別な思い出がある．ESR に関してまったくの素人の私は，大胆にも ESR 研究の第一人者の大西俊一先生（京大理・生物物理）を訪れ，手ほどき指導と共同研究をお願いしたところ快く受け入れていただき，その後足しげく京大通いをして興味深い成果を得ることができた．大西研の院生だった大木和夫君が後に我々の教室スタッフとなり膜流動性の研究が急速に進展した．

その一方で，好都合なことにトンプソン先生が高温耐性のテトラヒメナ株（ニューメキシコの湖から分離，39.5°C 生育可能）を入手し，彼の提案で仮称 NT-1 株 (Nozawa・Thompson No. 1) とした．表1は，高温・低温培養細胞の膜脂質構成を示すが，これが NT-1 細胞を使った共同研究プロジェクトの第1号の論文となった (Fukushima et al., 1976)．低温（15°C）細胞から調製した絨毛膜の PC 含量は高温（39°C）膜画分の約半分に減少するが，PE の変動はほとんどない．外皮膜とミクロソームでは，低温で AEPL 増加・PE 減少が見られる．アシル鎖組成では更に顕著な温度依存性が認められ，いずれの膜でも低温由来のものは U/S（不飽和/飽和脂肪酸）比が大きく，高温細胞の膜系では飽和脂肪酸の割合が大きい．ただし，変動する脂肪酸の種類も膜によって異なり，外皮膜・ミクロソームではリノール酸 (C18:2^{Δ9,12})，リノレン酸 (C18:3^{Δ6,9,12}) が増減するのに対し，絨毛膜では特異脂肪酸のシリエン酸 (C18:2^{Δ6,11}) が著しく変動する．

次に2つ目の温度変化，すなわち低温シフトにおける膜脂質・流動性修飾とそのメカニズムについて検討した．高温（39°C）培養細胞を30分間かけて（0.8°C/分）で15°Cにシフトし経時的に膜脂質構成・流動性の

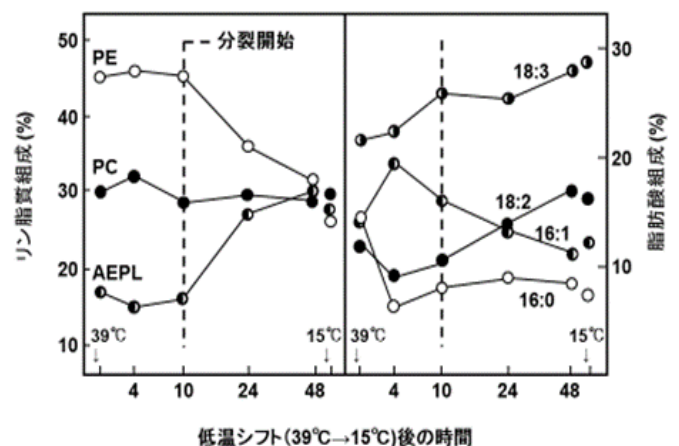


図4. 低温シフト（39°C → 15°C）による全細胞のリン脂質・アシル鎖の組成変化. Nozawa and Kasai (1978) を改変して転載．

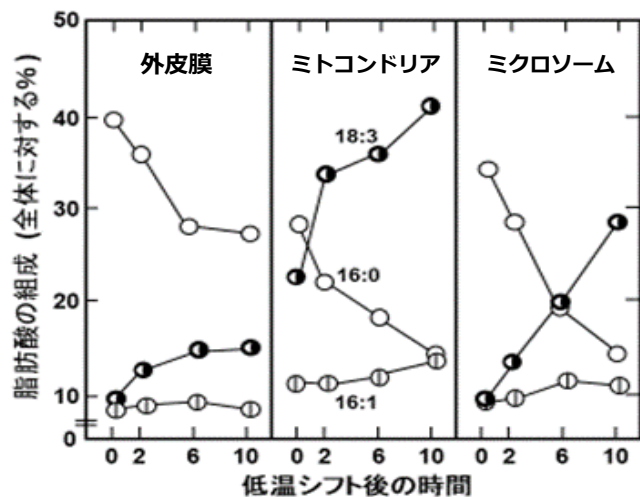


図 5. 低温シフト (39°C → 15°C) による各膜画分のアシル鎖の組成変化. Maruyama et al. (1982) を改変して転載.

変化を調べた. ここにシフト後の全細胞のリン脂質・脂肪酸変動を示すが, 10 時間まではリン脂質はほとんど変化しないが, それ以降は AEPL 増加・PE 減少が続く, 48 時間では 15°C 定温培養細胞の構成とほぼ同じになる (図 4).

一方, リン脂質とは対照的に脂肪酸 (アシル鎖) の変動は顕著で, シフト後早期 (4 時間内) のパルミトオレイン酸 (C16:1^{Δ9}) の増加と, パルミチン酸 (C16:0) の減少, ついで C18:2^{Δ9,12}・C18:3^{Δ6,9,12} の増加が生じる. 48 時間ではリン脂質の場合と同様に 15°C 定温培養細胞の脂肪酸組成とほぼ同じようになる. これらの変

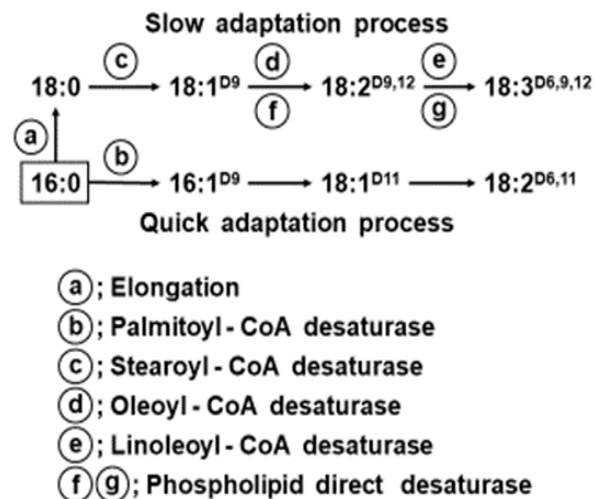


図 6. テトラヒメナ細胞における低温適応プロセス.

動傾向は, 外皮膜, ミトコンドリア, ミクロソームでも見られたが, ミクロソームが最も顕著であった (図 5).

この C16:0 減少・C16:1 増加 (不飽和反応; desaturation) は, 低温ストレスに極めて鋭敏に応答するプロセスで, 我々は迅速 (quick) 適応と呼び, C18:2・C18:3 増加を遅発 (slow) 適応として区別した (図 6).

ついでこの膜脂質修飾に伴う膜状態の変化をフリーズ・フラクチャー電顕で観察した. シフト前細胞 (39°C 培養) の外皮膜の膜タンパク粒子は均一分布を示すが, 低温シフト直後には著しい凝集が生じ, 膜は流動性の小さい堅い (rigid) 状態となる. しかし, 時間

表 1. 高温・低温培養細胞の膜脂質構成

	Cilia			Pellicles			Microsomes		
	15°C	24°C	39°C	15°C	24°C	39°C	15°C	24°C	39°C
Phospholipid composition									
2-Aminoethylphosphonolipids (AEPL)	40.0	37.0	36.4	30.8	32.9	19.1	22.9	20.8	14.7
Phosphatidylethanolamines (PE)	20.8	21.4	20.0	33.2	36.2	49.2	34.1	35.5	43.9
Phosphatidylcholines (PC)	15.8	18.1	30.0	18.9	21.4	23.5	30.0	27.6	32.4
Fatty acid composition of phospholipids									
C14:0	6.0	3.9	6.7	8.4	9.6	8.9	7.2	7.4	7.3
C16:0	16.8	19.4	16.8	12.7	15.8	16.4	8.9	10.4	13.2
C16:1 ^{Δ9}	14.4	7.7	8.3	9.9	7.4	7.1	8.8	9.8	8.7
C18:0	2.5	3.8	6.1	0.7	2.0	3.0	0.5	1.4	2.2
C18:1 ^{Δ9}	6.9	8.0	11.7	7.4	8.5	12.6	8.1	7.1	13.9
C18:2 ^{Δ9,12}	9.0	9.7	8.1	16.2	13.8	10.5	19.5	17.7	13.0
C18:3 ^{Δ6,9,12}	27.2	28.2	20.7	28.0	27.4	18.5	31.8	31.2	21.4

Fukushima et al. (1976) を改変して転載

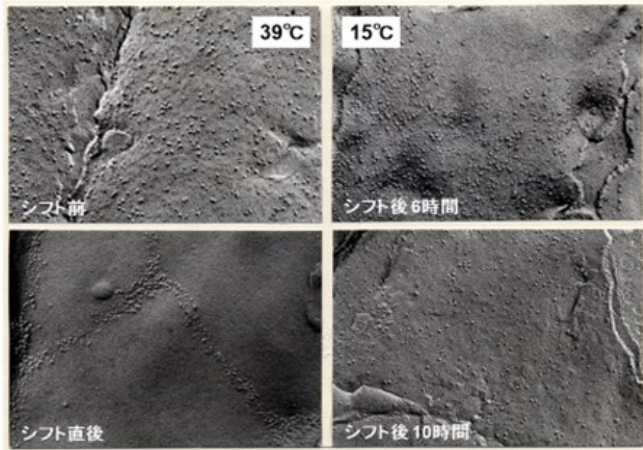


図7. 低温シフト (39°C → 15°C) による外皮膜タンパク粒子の分布変化. Nozawa and Kasai (1978) を改変して転載.

経過とともに凝集は緩和され 10 時間では元の均一分布に復元する (図 7). さらに興味深いことに、膜流動性の復元修飾に呼応して細胞は低温シフト後に停止していた分裂を再び開始する. なお、この低温シフトにおける膜脂質構成と膜流動性の相互関連は、ESR, 蛍光偏光, X 線回折 (阪大基礎工学・三井利夫先生グループと共同研究) などの物理化学的な方法によっても裏付けられた.

b) 脂肪酸不飽和化酵素の活性調節機構

低温シフトによって膜流動性が減少し不飽和脂肪酸が増加することから、脂肪酸不飽和化酵素 (Fatty acid desaturase, FDSase) 活性は流動性によって調節されるという作業仮説をトンプソン研との共同論文で提示した (Martin et al., 1976; Kasai et al., 1976). たとえば、不飽和脂肪酸 (C18:2, C18:3) あるいはエルゴステロールの培地添加によって膜流動性はそれぞれ増大あるいは減少し、前者では不飽和化活性は低下し後者では上昇した. トンプソン研グループは、麻酔薬による流動性増大に伴う不飽和化活性の低下などの知見を加え、FDSase の局在する小胞体の流動性減少が酵素分子の立体配置を変え活性化をもたらすという流動性直接調節説 (Fluidity self-regulation) を強調した (Nandini-Kishore et al., 1977; Kitajima and Thompson, 1977). そのような状況下で、我々は FDSase の量的調節、すなわち酵素誘導 (induction) を示唆する実験結果から、誘導説を優先する立場となり両グループの間に微妙な雰囲気が生じることとなったが、原著論文は別として共著の著書・総説では両説を対等に扱ってきた. 主張の違いは研究上のことであって、友好関係は何ら変わることなく今でもなお続いている.

さらに、我々は迅速適応 (C16:0 → C16:1) を司るパルミトイル CoA 不飽和化酵素 (DSase) と遅発適応 (C18:2 → C18:3 増加) を触媒するステアロイル CoA DSase について検討した. C16:0 不飽和化反応が、タン

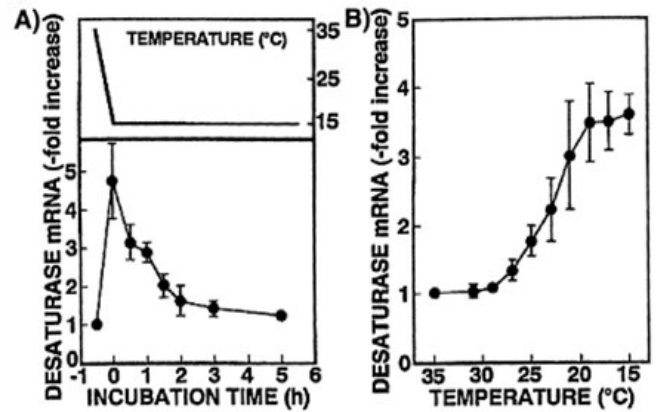


図8. 低温シフト (35°C → 15°C) 後 (A) とシフト過程 (B) における delta 9 脂肪酸不飽和化酵素の mRNA 発現の変化. Nakashima et al. (1996) を改変して転載.

パク質合成阻害剤 (シクロヘキシミド) の前処理によって抑制され、またシフト 2 時間後のミクロソームの両不飽和化酵素の活性上昇も起こらないことから、酵素誘導の可能性を指摘した (Nozawa and Kasai, 1978; Fukushima et al., 1979; Umeki et al., 1982). さらに次のステップとして、delta 9 アシル CoA DSase の遺伝子クローニングを行い、低温シフトによる mRNA 発現を調べた (Nakashima et al., 1996). 35°C から 15°C にシフトすると、直後に最大発現ピークが見られるが、シフト後の温度変化と発現の関係を詳しく調べると、冷却過程の 27°C で急速に mRNA 発現量が増大する (図 8). この結果から、delta 9 アシル CoA DSase の活性調節は転写レベルで行われていることが示されたが、実は酵素誘導説を提示してからすでに 10 余年も経ていた. この実験の契機となったのは、渡辺良雄先生 (筑波大・生物) からの *T. thermophila* cDNA ライブラリーの供与であった. またその後、低温ストレス応答性の遺伝子探索を differential display 法で行い、高等生物の p38 SAPK に類似した MAP キナーゼの *TpMAPK* と *TpNrK* を同定・クローニングし、低温ストレスによる mRNA の発現増大を示した (Wang et al., 1998; Nakashima et al., 1999). この結果から、脂肪酸不飽和化酵素の誘導における MAP キナーゼの関与が推測されたが、その検討がなされないままに未解決課題として残された. ところで、これら 2 編の論文は、私にとってはテトラヒメナ研究の修了証でもあり、奇しくも時を同じくして大学の定年退職を迎えることになった.

4) テトラヒメナ・カルモデュリンの研究 - 幸運な巡り合わせ

カルモデュリン (Calmodulin, CaM) は、哺乳動物のほとんどすべての組織に存在し、さらに無脊椎動物や植物にも広く分布している 4 つの Ca^{2+} 結合部位をもつ分子量約 16,000 のタンパク質である. その生理作用も各種の酵素タンパク質や他の機能タンパク質との結合

を介して物質代謝、細胞運動、細胞分裂など多くの細胞機能を制御している。私がカルモデュリンを耳にした頃は国内外問わず急速な研究展開の最中であり、自分がこの研究の世界に立ち入るなどとは想像すらしなかった。実は上述した膜脂質研究の過程で、膜流動性の修飾がもたらす膜機能の変化を検討するために、外皮膜に局在するアデニル酸シクラーゼ (ACase)、グアニル酸シクラーゼ (GCCase) について活性化エネルギーの転移温度を調べていた。ACase では予期した結果が得られたが、GCCase は活性が喪失し測定できず、その原因が疑問として残った。その‘なぜ GCCase は’の疑問を明らかにするために、この酵素の生化学的性状について検討することにした。言うなれば、この疑問が私のテトラヒメナ・カルモデュリン (T・CaM) 研究との関わりの方となった。以下にその後の T・CaM の同定に至るまでの経緯について述べるが、いくつかの幸運な巡り合わせによって期待した以上の成果を上げることができた。ただし、膜脂質研究の場合とは異なり、T・CaM の実験はむしろ巡り合えた共同研究者によって先導されたのが実情である。したがって、この研究成果は‘serendipity’というよりむしろ、‘spin-off’の方が適切であろう。これらの経緯も含め T・CaM の細胞機能を中心として、渡辺良雄先生との共著で著書 (分担執筆) (Watanabe and Nozawa, 1982) にまとめた。

a) Endogenous activating factor (EAF) から T・CaM

膜結合 T・GCCase の活性化機構メカニズムを検討するために院生 2 人 (長尾清治君、工藤修三君) を伴って、GCCase 研究者の中沢欽哉先生 (愛知県心身障害者コ

ロニー・発達障害研究所) を訪れ共同研究をお願いした。哺乳動物組織の GCCase 活性は Mn^{2+} 依存性であるのに対して、T・GCCase は Mg^{2+} 要求性を示し特異的であった。ついで、テトラヒメナ細胞のホモジネートの 105,000×g 遠心上清の影響を調べたところ、タンパク質の濃度依存的な膜 GCCase の活性化が認められたが、上清の加熱処理やトリプシン処理によってその活性化が喪失することから、タンパク質性の‘endogenous activating factor (EAF)’の存在が推測された (表 2) (Nakazawa et al., 1979)。

この内容を日本生化学会で発表して会場を出たところで、CaM 研究の先駆者の垣内史郎先生 (阪大・高次神経研)、八木康一先生 (北大・理) から共同研究のお誘い受け、早速に 3 研究室の役割分担を決め急ぎのプロジェクトとして進めることにした。というのは、JJ Blum 先生グループ (Duke 大) も同じような方向で研究が進められていたからである。ある時には、Blum 先生と私はそれぞれの研究室を訪問する機会もあったが、お互いに T・CaM を意識しているだけに、詳細には触れなかったが、終始和やかな雰囲気でのディスカッションであった。我々の T・GCCase 活性化因子 (EAF) の分離・精製ならびに T・GCCase の特性解明のために長尾君が垣内研グループの研究に参加した。

この幸運な巡り合わせに続き、図らずも次なる巡り合わせが待っていた。日本原生動物学会 (横浜, 1978 年) での鈴木保博さん (渡辺研の院生) のテトラヒメナ・カルシウム結合タンパク質 (TCBP; *Tetrahymena* calcium-binding protein) の発表であった。その内容からして、これこそが我々の求めている EAF であろうとの思いで胸が高鳴り、発表後直ちにその貴重なサンプルの試供と共同研究をお願いし、T・GCCase 活性化の有無を検討することになった。果たせるかな、TCBP が見事に T・GCCase を活性化し、歓喜の極みであった。そこで早速、論文発表と国際生化学学会 (トロント, 1979 年 7 月) で発表することになり、2 編の連続論文 (Suzuki et al., 1979; Nagao et al., 1979) の投稿原稿を郵送してトロントに向かった。学会では TCBP による T・GCCase 活性化、および CaM との関係が注目された。その 3 か月後に Blum 研からの画期的な論文 (Jamieson et al., 1979) を目にした時、1979 年における目まぐるしい T・CaM 発見のレース展開の 1 つの区切りと思えた。‘Presence of calmodulin in protozoa’ と題するその論文に、我々のトロント学会の抄録が引用され、後生動物・植物由来のいかなる CaM による GCCase 活性化の報告がないことを根拠に、TCBP と彼らの CaM が同一タンパク質であるかは明確でないと指摘された。その翌年には、室伏 宏先生グループ (東大・理) はチューブリン・セファロース 4B カラムによる簡便分離法で T・CaM を単離した (Kumagai et al., 1980)。ついで、TCBP の PDE (ブタ脳) 活性化、アミノ酸組成、カルシウム結合活性などのデータに基づいて、‘TCBP is indeed a calmodulin’ として発表したが (Suzuki et al., 1981)、こ

表 2. 105,000×g 上清のグアニル酸・アデニル酸シクラーゼ活性への影響

	シクラーゼ活性 (ナノモル/分/mgタンパク)		
	タンパク量 (μg)	グアニル酸	アデニル酸
コントロール	0	0.155	0.035
未処理上清	10	0.268	—
	20	0.342	—
	30	0.457	0.032
	50	0.573	0.029
	100	0.642	0.031
熱処理上清	50	0.059	—
コントロール	0	0.193	—
未処理上清	50	0.540	—
トリプシン処理上清	50	0.187	—

Nakazawa et al. (1979) を改変して転載

の 'indeed' には、我々のさまざまな思いが込められている。かくして、2 年間にわたる EAF → TCBP → T · CaM の変遷はピリオドを迎えた。

b) T · CaM, T · GCaase の特異性—似て非なるもの

T · CaM による T · GCaase の活性化は予期せぬ新発見であったが、その活性化が、どちらか一方あるいは両方の特異性に起因するかを明らかにするために由来が異なる CaM と GCaase について検討した (垣内研・八木研との共同研究)。最初にウシ脳、イソギンチャク、ホタテ貝から分離した CaM および外国研究者から供与された CaM (ホウレンソウ、粘菌、ウミシイタケ、ウニ) は、いずれも T · GCaase 活性化作用がないこと (図 9)、また各組織 (ラット脳、ラット肺、ヒト血小板、ウニ精子) の GCaase 活性に対して T · CaM はなんら影響しないなどから、T · CaM と T · GCaase の両者ともに特異的であることが分かった (Kakiuchi et al., 1981)。

なお、別の実験からゾウリムシ CaM は T · CaM と同程度に T · GCaase を活性化するが、ゾウリムシ GCaase を活性化しないことが示され、近縁の原生生物でありながら GCaase の特異性を反映し、生物進化の観点からも興味深い (Kudo et al., 1981)。また一方で、T · CaM はウシ脳 CaM と同じように、PDE (ウシ脳)、ACase (ラット脳)、 Ca^{2+} · Mg^{2+} -ATPase (赤血球)、ミオシン軽鎖キナーゼ (ニワトリ)、NAD キナーゼ (植物) などを Ca^{2+} 依存的に活性化することができ、哺乳動物の CaM との共通性がみられる (Kudo et al., 1982)。さらに、アミノ酸組成に関しても、T · CaM (147 アミノ酸) と哺乳動物由来の CaM (148 アミノ酸) は基本的には共通するところが多く、たとえば CaM に特徴的なアミノ酸のトリメチルリジン (Tml) を含み、ヒスチジン・チロシンが少なく、トリプトファン・システインは欠如している。

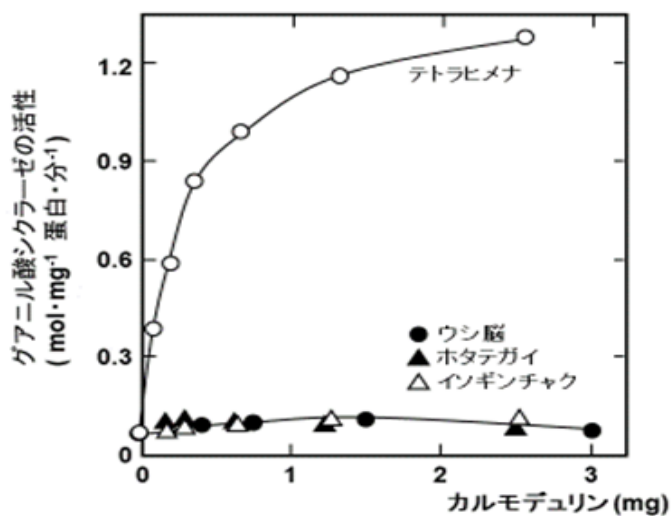


図 9. 各種カルモデュリンの T · GCaase 活性に対する影響。 Kakiuchi et al. (1981) を改変して転載。

c) T · CaM の一次構造と部位特異的変異

上述のように、T · CaM の特異性および他の CaM との部分的な共通性がみられるが、その仕組みを解明するためには T · CaM 分子の特性のさらなる検討が必要とされた。そこでまず最初に、T · CaM の一次構造を分析することにしたが、幸いにして専門家の成田耕造先生 (阪大・蛋白研) の協力が得られた。T · CaM と哺乳動物 CaM の違いは予測されたが、実際に前者の一次構造を解析してみると、その差は予想より大きいものであった。ウシ脳 CaM (148 アミノ酸) と比較すると、最初の Ala (アセチル化) から 69 位 (Leu) までは全く同じであるが、T · CaM (147 アミノ酸) では 11 個のアミノ酸の置換と 146 位のスレオニンの欠失が認められたが、これらは主に第 3, 第 4 の Ca^{2+} 結合ドメインでみられる (Yazawa et al., 1981)。その中でも 86 位 (Arg → Ile), 135 位 (Gln → His), 143 位 (Gln → Arg) の置換と 146 位のスレオニン欠失が T · GCaase の活性化に関与している可能性が推測された。この論文は、想えば 2 年ほど前にスタートした '急ぎの' 共同研究プロジェクトの最後の発表となったが、そのメンバーの中には既に他界された先生もおられ感慨深いものがある。

ところで、1980 年代になるとわが研究室の中心テーマもヒト・高等動物細胞の膜脂質を介する細胞内シグナル伝達に移り、また T · CaM に関しては期待以上の成果が得られたこともあって CaM 研究も終段階に近づきつつあった。ところが、それから数年を経たある日に、意を決してタンパク質の大腸菌発現で経験豊富な松木 滋先生 (キリンビール薬理研究所, 前橋) に電話で無理なお願いをしたが、社内研究で多忙にもかかわらず快く引き受けて下さり、前橋の研究所を訪れ具体的な打ち合わせを行った。その内容とは、T · CaM の C-末領域のアミノ酸置換が T · GCaase 活性化をもたらすであろうとの推測の是非を科学的に裏付けるには、ラット脳 CaM の部位特異的変異 (site-directed mutagenesis) による T · GCaase 活性に対する影響を明らかにすることが必要であり、そのためのリコンビナント変異 CaM の作製であった。

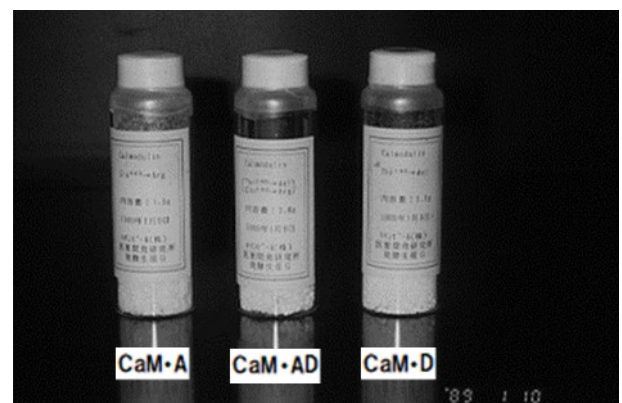


写真 3. リコンビナント変異カルモデュリン (1.1 ~ 1.6 g)

それに先立ち、ラット CaM・cDNA（自治医大・野島博先生から供与）を大腸菌で効率よく発現させる方法を検討したところ、従来の方法に改良を加えることによって大腸菌培養液 1 L から約 100 mg のリコンビナント CaM を回収できる高発現システムを開発することができた（Matsuki et al., 1990）. 実際に 1 g ほどのリコンビナント CaM を目の前にし（写真 3）、かつては高価なため mg 単位でしか購入できなかった頃を思うと、バイオテクノロジーの威力を改めて痛感させられた。

ついで、満を持して念願であった変異 CaM による T・GCas 活性化の有無を検討した。C-末領域に関する 3 種類のラット変異 CaM、すなわち CaM・A（Gln-143 → Arg）、CaM・D（Thr-146 欠失）、CaM・AD（Gln-143 → Arg/Thr-146 欠失）を作製し、ラット脳 PDE と T・GCCase の活性化に対する影響を調べたところ、PDE 活性化ではこれら 3 種類の変異 CaM と野生型 CaM（wCaM）と差が認められなかったが、待望の G・GCCase 活性に関しては興味深い結果が得られた。図 10 に示すように、wCaM と CaM・D は T・GCCase を活性化しないのに対して、CaM・A と CaM・AD は活性化することができた。活性の程度は T・CaM の半分ほどであるが、その活性化の Ca^{2+} 濃度依存性には大差がなかった。これらの結果から、T・CaM の Arg-143 が T・GCCase の活性化に必須であり、Thr-146 欠失は関係しないことが明らかにされた（Nagao et al., 1990）。

これもまた幸運な巡り合わせによるものであり、この 2 編の共同論文をして私の‘原始’ CaM 研究は終わりを迎えることになったが、‘なぜ GCCase は’の疑問に端を発してからすでに 10 年が経っていた。渡辺研の T・CaM 研究は、沼田 治先生に引き継がれ、機能を中心とした分子生物学的な研究が続けられ多くのすぐれた成果が得られている。

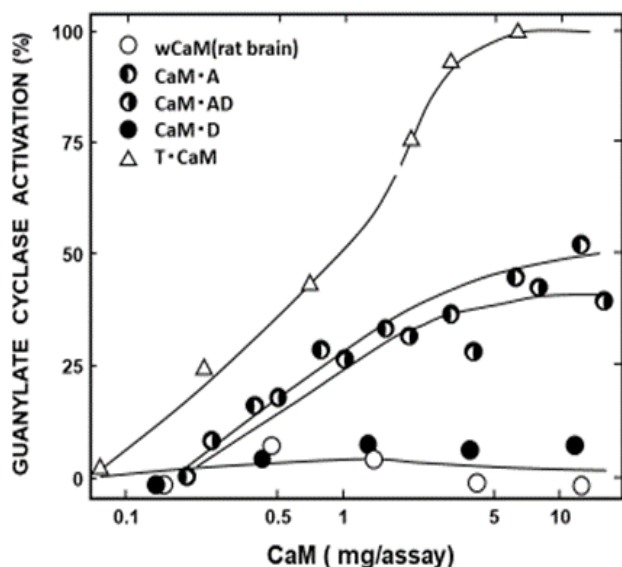


図 10. リコンビナント変異カルモデュリンによる T・GCCase 活性化。Nagao et al. (1990) より転載。

5) おわりに

本稿の執筆にあたり、内容がテトラヒメナ研究の回顧ということもあって、とりあえず PubMed の *Tetrahymena*, Nozawa で検索してみると 141 件がヒットしたが、その最初は論文（J. Cell Biol., 1971）で最後は総説（Proc. Jpn. Acad., Ser. B, 2011）であった。このリストの中には、ここで話題にした主要研究の膜形成、膜脂質適応、カルモデュリンに直接関連する約 60% とその他のテトラヒメナ研究のものが含まれている。これを機に年代順の業績リストを眺めながら、当時を思い起こし苦勞を共にした教室員はもとより国内外の共同研究者に対して改めて感謝するばかりである。また、G Csaba 教授グループ（Semmelweis 大）との共同研究には格別な思い出がある。ハンガリー科学アカデミーの 2 国間共同研究プログラムでテトラヒメナの hormone imprinting（刷り込み）の研究を行ったが、その領域で著名な Csaba 先生はじめ研究者 6 人が交代で我々の研究室に滞在し、多くの成果を得ることができ感謝された。このような事情もあってか、予想外にもセンメルワイズ大から名誉博士号が授与されたが（1985 年、写真 4）、370 年もの歴史を持つ大学で行われた古式ゆかしい授与式にこれまでにない大きな感銘を受け、その時の感動と興奮の光景は今もなお強い印象として心に残っている。

長きにわたる原生生物テトラヒメナの研究は、私のライフワーク後半の哺乳動物細胞におけるシグナル伝達の研究にとって貴重な基盤となった。

最後に、これまでのテトラヒメナ研究において直接あるいは間接的に協力していただいた多くの方々に重ねて感謝とお礼を申し上げたい。また、この終活の回顧文を執筆する機会を与えていただいた前編集長の廣野雅文先生に感謝するとともに、日本原生生物学会のさらなる発展を祈念したい。



写真 4. 名誉博士号授与（センメルワイズ大学）、ラテン語の手書き

6) 引用文献

- Fukushima, H., Martin, C. E., Iida, H., Kitajima, Y. and Thompson, G. A. (1976) Changes in membrane lipid composition during temperature adaptation by a thermo-tolerant strain of *Tetrahymena pyriformis*. *Biochim. Biophys. Acta*, 431(1), 165–179.
- Fukushima, H., Nagao, S. and Nozawa, Y. (1979) Further evidence for changes in the level of palmitoyl-CoA desaturase during thermal adaptation in *Tetrahymena pyriformis*. *Biochim. Biophys. Acta*, 572(1), 178–182.
- Jamieson, G. A., Jr., Vanaman, T. C. and Blum, J. J. (1979) Presence of calmodulin in *Tetrahymena*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 76(12), 6471–6475.
- Kakiuchi, S., Sobue, K., Yamazaki, R., Nagao, S., Umeki, S., Nozawa, Y., Yazawa, M. and Yagi, K. (1981) Ca^{2+} -dependent modulator proteins from *Tetrahymena pyriformis*, sea anemone, and scallop and guanylate cyclase activation. *J. Biol. Chem.*, 256(1), 19–22.
- Kasai, R., Kitajima, Y., Martin, C. E., Nozawa, Y., Skriver, L. and Thompson, G. A. (1976) Molecular control of membrane properties during temperature acclimation. Membrane fluidity regulation of fatty acid desaturase action? *Biochemistry*, 15(24), 5228–5233.
- Kitajima, Y. and Thompson, G. A. (1977) Differentiation of food vacuolar membranes during endocytosis in *Tetrahymena*. *J. Cell Biol.*, 75(2), 436–445.
- Kudo, S., Ohnishi, K., Muto, Y., Watanabe, Y. and Nozawa, Y. (1981) *Paramecium* calmodulin can stimulate membrane-bound guanylate cyclase in *Tetrahymena*. *Biochem. Int.*, 3(3), 255–263.
- Kudo, S., Muto, Y., Nagao, S., Naka, M., Hidaka, H., Sano, M. and Nozawa, Y. (1982) Specificity of *Tetrahymena* calmodulin in activation of calmodulin-regulated enzymes. *FEBS Lett.*, 149(2), 271–276.
- Kumagai, H., Nishida, E., Ishiguro, K. and Murofushi, H. (1980) Isolation of calmodulin from the protozoan, *Tetrahymena pyriformis*, by the use of a tubulin-Sepharose 4B affinity column. *J. Biochem.*, 87(2), 667–670.
- Martin, C. E., Hiramitsu, K., Kitajima, Y., Nozawa, Y., Skriver, L. and Thompson, G. A. (1976) Molecular control of membrane properties during temperature acclimation. Fatty acid desaturase regulation of membrane fluidity in acclimating *Tetrahymena* cells. *Biochemistry*, 15(24), 5218–5227.
- Maruyama, H., Banno, Y., Watanabe, T. and Nozawa, Y. (1982) Studies on thermal adaptation in *Tetrahymena* membrane lipids. Modification of positional distribution of phospholipid acyl chains in plasma membranes, mitochondria and microsomes. *Biochim. Biophys. Acta*, 711(2), 229–244.
- Matsuki, S., Ozawa, T., Nagao, S., Hirata, H., Kanoh, H. and Nozawa, Y. (1990) High-level expression of complementary DNA encoding rat calmodulin in *Escherichia coli*. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 12(3), 284–291.
- Nagao, S., Matsuki, S., Kanoh, H., Ozawa, T., Yamada, K. and Nozawa, Y. (1990) Site-directed mutagenesis of glutamine residue of calmodulin. Activation of guanylate cyclase of *Tetrahymena* plasma membrane. *J. Biol. Chem.*, 265(11), 5926–5929.
- Nagao, S., Suzuki, Y., Watanabe, Y. and Nozawa, Y. (1979) Activation by a calcium-binding protein of guanylate cyclase in *Tetrahymena pyriformis*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 90(1), 261–268.
- Nakashima, S., Wang, S., Hisamoto, N., Sakai, H., Andoh, M., Matsumoto, K. and Nozawa, Y. (1999) Molecular cloning and expression of a stress-responsive mitogen-activated protein kinase-related kinase from *Tetrahymena* cells. *J. Biol. Chem.*, 274(15), 9976–9983.
- Nakashima, S., Zhao, Y. and Nozawa, Y. (1996) Molecular cloning of delta 9 fatty acid desaturase from the protozoan *Tetrahymena thermophila* and its mRNA expression during thermal membrane adaptation. *Biochem. J.*, 317(1), 29–34.
- Nakazawa, K., Shimonaka, H., Nagao, S., Kudo, S. and Nozawa, Y. (1979) Magnesium-sensitive guanylate cyclase and its endogenous activating factor in *Tetrahymena pyriformis*. *J. Biochem.*, 86(2), 321–324.
- Nandini-Kishore, S. G., Kitajima, Y. and Thompson, G. A. (1977) Membrane fluidizing effects of the general anesthetic methoxyflurane elicit an acclimation response in *Tetrahymena*. *Biochim. Biophys. Acta*, 471(1), 157–161.
- Nozawa, Y. (1975) Isolation of subcellular membrane components from *Tetrahymena*. *Methods Cell Biol.*, 10, 105–133.
- Nozawa, Y. (2011) Adaptive regulation of membrane lipids and fluidity during thermal acclimation in *Tetrahymena*. *Proc. Jpn. Acad., Ser. B, Phys. Biol. Sci.*, 87(8), 450–462.
- Nozawa, Y., Iida, H., Fukushima, H., Oki, K. and Onishi, S. (1974) Studies on *Tetrahymena* membranes: temperature-induced alterations in fatty acid composition of various membrane fractions in *Tetrahymena pyriformis* and its effect on membrane fluidity as inferred by spin-label study. *Biochim. Biophys. Acta*, 367(2), 134–147.
- Nozawa, Y. and Kasai, R. (1978) Mechanism of thermal adaptation of membrane lipids in *Tetrahymena pyriformis* NT-1. Possible evidence for temperature-mediated induction of palmitoyl-CoA desaturase. *Biochim. Biophys. Acta*, 529(1), 54–66.
- Nozawa, Y. and Thompson, G. A. (1971a) Studies of membrane formation in *Tetrahymena pyriformis*. II. Isolation and lipid analysis of cell fractions. *J. Cell Biol.*, 49(3), 712–721.
- Nozawa, Y. and Thompson, G. A. (1971b) Studies of mem-

- brane formation in *Tetrahymena pyriformis*. III. Lipid incorporation into various cellular membranes of logarithmic phase cultures. *J. Cell Biol.*, 49(3), 722–730.
- Nozawa, Y. and Thompson, G. A. (1972) Studies of membrane formation in *Tetrahymena pyriformis*. V. Lipid incorporation into various cellular membranes of stationary phase cells, starving cells, and cells treated with metabolic inhibitors. *Biochim. Biophys. Acta*, 282(1), 93–104.
- Suzuki, Y., Hirabayashi, T. and Watanabe, Y. (1979) Isolation and electrophoretic properties of a calcium-binding protein from the ciliate *Tetrahymena pyriformis*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 90(1), 253–260.
- Suzuki, Y., Nagao, S., Abe, K., Hirabayashi, T. and Watanabe, Y. (1981) *Tetrahymena* calcium-binding protein is indeed a calmodulin. *J. Biochem.*, 89(1), 333–336.
- Thompson, G. A., Bambery, R. J. and Nozawa, Y. (1971) Further studies of the lipid composition and biochemical properties of *Tetrahymena pyriformis* membrane systems. *Biochemistry*, 10(24), 4441–4447.
- Thompson, G. A. and Nozawa, Y. (1972) Lipids of protozoa: phospholipids and neutral lipids. *Annu Rev Microbiol.*, 26, 249–278.
- Thompson, G. A. and Nozawa, Y. (1977) *Tetrahymena*: a system for studying dynamic membrane alterations within the eukaryotic cell. *Biochim. Biophys. Acta (Biomembranes)*, 472(1), 55–92.
- Umeki, S., Fukushima, H., Watanabe, T. and Nozawa, Y. (1982) Temperature acclimation mechanisms in *Tetrahymena pyriformis*: effects of decreased temperature on microsomal electron transport. *Biochem. Int.*, 4, 101–107.
- Umeki, S. and Nozawa, Y. (1996) Adenylate and guanylate cyclases in *Tetrahymena*. *Prog. Mol. Subcell. Biol.*, 17, 40–60.
- Wang, S., Nakashima, S., Sakai, H., Numata, O., Fujiu, K. and Nozawa, Y. (1998) Molecular cloning and cell-cycle-dependent expression of a novel NIMA (never-in-mitosis in *Aspergillus nidulans*)-related protein kinase (TpNrk) in *Tetrahymena* cells. *Biochem. J.*, 334(1), 197–203.
- Watanabe, Y. and Nozawa, Y. (1982) Possible roles of calmodulin in ciliated protozoan *Tetrahymena*. In: *Calcium and Cell Function*. Academic Press, New York, pp. 297–323.
- Yazawa, M., Yagi, K., Toda, H., Kondo, K., Narita, K., Yamazaki, R., Sobue, K., Kakiuchi, S., Nagao, S. and Nozawa, Y. (1981) The amino acid sequence of the *Tetrahymena* calmodulin which specifically interacts with guanylate cyclase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 99(4), 1051–1057.
- ## 7) 私に関わったテトラヒメナ関連の著書・総説
- ### 「著書」
- Nozawa, Y. (1975) Isolation of subcellular membrane components from *Tetrahymena*. In: *Methods in Cell Biology*, Vol. 10. Academic Press, New York, pp. 105–133.
- Nozawa, Y. and Thompson, G. A. (1979) Lipids and membrane organization in *Tetrahymena*. In: *Biochemistry and Physiology of Protozoa*. Academic Press, New York, pp. 276–338.
- Nozawa, Y. (1980) Modification of lipid composition and membrane fluidity. In: *Membrane Fluidity: Biophysical Techniques and Cellular Regulation*. Humana Press, New Jersey, pp. 399–418.
- Watanabe, Y. and Nozawa, Y. (1982) Possible roles of calmodulin in ciliated protozoan *Tetrahymena*. In: *Calcium and Cell Function*. Academic Press, New York, pp. 297–323.
- Hori, T. and Nozawa, Y. (1982) Phosphonolipids. In: *New Comprehensive Biochemistry*, Vol. 4. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, pp. 95–128.
- Thompson, G. A. and Nozawa, Y. (1984) The regulation of membrane fluidity in *Tetrahymena*. In: *Biomembranes*, Vol. 12. Plenum Publishing, New York, pp. 392–432.
- Kőhidai, L., Kovács, P., Nozawa, Y. and Csaba, G. (1986) Drug induced membrane perturbation in *Tetrahymena pyriformis*, Studies on lectin binding. In: *Advance in Protozoological Research*, Vol. 33. pp. 179–184.
- Umeki, Y. and Nozawa, Y. (1987) Regulation of membrane fluidity in unicellular organisms. In: *Advances in Membrane Fluidity*, Vol. 3, Alan R. Liss, New York, pp. 239–257.
- Umeki, S. and Nozawa, Y. (1993) Lipid composition of membranes involved in membrane traffic in *Tetrahymena*. In: *Membrane Traffic in Protozoa – Advances in Cell Molecular of Membranes* Vol. 2B. JAI Press, Greenwich, pp. 447–465.
- Umeki, S. and Nozawa, Y. (1993) Adenylate and guanylate cyclases in *Tetrahymena*. In: *Progress in Molecular and Subcellular Biology*, Vol. 17. Springer-Verlag, Berlin, pp. 40–60.
- 野澤義則 (1977) 原生動物 (*Tetrahymena*) . 生化学実験講座, 第 14 巻 生体膜. 日本生化学会 (編), 東京化学同人, 東京, pp. 245–249.
- 野澤義則 (1977) 原生動物における膜形成の研究. 生化学実験講座, 第 14 巻 生体膜. 日本生化学会 (編), 東京化学同人, 東京, pp. 492–503.
- 野澤義則 (1978) ホスホノリピドと生体膜. C-P 化合物の生化学—アミノホスホン酸とホスホノリピド. 堀太郎・堀口雅昭 (編), 学会出版センター, pp. 173–222.

- 長尾清治・野澤義則 (1981) グアニル酸シクラーゼ・カルモデュリン—Ca²⁺ 受容蛋白質. 日高弘義・垣内史朗 (編), 講談社サイエンティフィク, 東京, pp. 67-71.
- 野澤義則 (1981) 原生動物細胞—医学・生物学の実験系として. 講談社サイエンティフィク, 東京.
- 大木和夫・野澤義則 (1986) 単細胞膜における脂質研究. 続生化学実験講座 第3巻 膜脂質と血漿リポタンパク質 (上). 日本生化学会 (編), 東京化学同人, 東京, pp. 311-316.
- 長尾清治・野澤義則 (1986) テトラヒメナのカルモデュリン. 続生化学実験講座 第6巻 細胞骨格の構造と機能 (下). 日本生化学会 (編), 東京化学同人, 東京, pp. 419-426.
- 野澤義則 (1987) 細胞膜の機能脂質. 生物科学の新しい展開—分子から細胞へ. 「科学」編集部 (編), 岩波書店, 東京, pp. 194-201.
- 「総説」**
- Thompson, G. A. and Nozawa, Y. (1972) Lipids of protozoa: phospholipids and neutral lipids. *Annu Rev Microbiol*, 26, 249-278.
- Thompson, G. A. and Nozawa, Y. (1977) *Tetrahymena*: a system for studying dynamic membrane alterations within the eukaryotic cell. *Biochim. Biophys. Acta (Biomembranes)*, 472(1), 55-92.
- Nozawa, Y. (1982) Environmental adaptation of *Tetrahymena* - Significance of membranes. *Prog. Protozool.* 1, 59-73.
- Nozawa, Y. and Nagao, S. (1986) Functional aspects of calmodulin in protozoa. *Insect. Sci. Appl.* 7, 267-277.
- Nakashima, S. and Nozawa, Y. (1999) Stress-responsive gene expression in *Tetrahymena*. *Acta Biol. Hung.*, 50(4), 413-424.
- Nozawa, Y. (2011) Adaptive regulation of membrane lipids and fluidity during thermal acclimation in *Tetrahymena*. *Proc. Jpn. Acad., Ser. B, Phys. Biol. Sci.*, 87(8), 450-462.
- 野澤義則 (1973) *Tetrahymena* 細胞の膜系と脂質—膜分離, 脂質局在性, 代謝, 膜合成. 蛋白質核酸酵素, 18, 719-734.
- 野澤義則 (1974) C-P 脂質と繊毛膜 (特集 脂質への招待). 化学, 29, 856-863.
- 野澤義則 (1975) 生体膜の流動性と機能. 生化学, 47, 52-82.
- 野澤義則 (1977) テトラヒメナの膜脂質調整機構—膜脂質の環境適応に関連して. 膜, 2, 342-352.
- 野澤義則 (1979) 生体膜脂質の調整機構—環境適応に関連して. 生化学, 51, 314-347.
- 長尾清治, 野澤義則 (1981) テトラヒメナのカルモデュリンとその特異性. 生化学, 53, 535-539.
- 大木和夫, 野澤義則 (1981) 生体膜脂質の動的構造と修飾. 油化学, 30, 636-642.
- 野澤義則 (1982) 細胞膜の動態と機能—脂質の役割. 日界面学会誌, 13, 1-10.
- 工藤修三, 長尾清治, 野澤義則 (1982) 原生動物の細胞機能とカルモデュリン—酸素活性からみたカルモデュリンの機能. 蛋白質核酸酵素 (臨時増刊 Ca²⁺ 受容蛋白質), 27, 2160-2176.
- 野澤義則 (1983) 細胞膜の機能脂質. 科学, 53, 616-623.
- 野澤義則 (1984) テトラヒメナ細胞の膜脂質修飾 (特集 原生動物の細胞工学). 細胞工学, 13, 697-704.
- 野澤義則, 長尾清治, 武藤吉徳 (1985) テトラヒメナ細胞. 化学と生物, 23, 593-599.
- 野澤義則 (1986) 生体膜構造と流動性 (特集 生体膜). ファルマシア, 22, 1363-1369.
- 野澤義則 (1991) 細胞膜脂質の機能的側面—機能脂質. 科学, 5, 341-348.

総説

ミドリゾウリムシとクロレラを用いた二次共生の成立および維持機構の解明の研究

児玉 有紀

Yuuki KODAMA

島根大学学術研究院農生命科学系

〒690-8504 島根県松江市西川津町 1060

要旨

ミトコンドリアや葉緑体を生み出した細胞内共生は現在でも多くの生物同士で見られ、新たな機能と構造の獲得による真核細胞の進化や多様化の原動力となっている。しかし、その成立機構や維持機構はほとんど明らかにされていない。著者らは、細胞内共生研究の新たなモデル生物として注目されている、繊毛虫のミドリゾウリムシとその細胞内に共生する緑藻クロレラを用いて、ミドリゾウリムシの食胞内に取り込まれたクロレラを経時的に追跡にする最適条件を確立し、クロレラの感染過程の全容を明らかにした。さらに、共生藻の有無で変化する遺伝子発現の変化を調べた。最近では、マヨレラを用いた実験も行っている。

キーワード：ゾウリムシ、緑藻、細胞内共生、トランスクリプトーム解析

はじめに

著者がミドリゾウリムシを使った研究を始めてから15年が経過した。ミドリゾウリムシの特徴について詳しく知ったのは、大学3年生の時に受講した藤島政博教授（当時山口大学理学部）の「共生生物学」という講義であった。その時までは、「細胞内共生生物を取り除くと、宿主は弱ったり生存できなくなったりする」と理解していたのだが、ミドリゾウリムシは共生クロレラ無しでも単独で生存できることを知り衝撃を受けた。さらに、ミドリゾウリムシを使った研究がまださほど進んでいないことを知り、自分が挑戦してみたいと奮起して研究生活をスタートさせた。ミドリムシと間違われがちで、まだまだ知名度の低い生物であるが、ミドリゾウリムシを使った研究発表は毎年の日本原生生物学会大会では複数行われており、ミドリゾウリムシに関する研究論文も国内外から複数発表されている。著者が研究を始めた頃と比較すると、明らかに研究者数が増加したと感じる。本総説では、ミドリゾウリムシの有用性や過去の研究成果をまとめ、著者らの最新の研究結果を報告させていただく。

1. ミドリゾウリムシについて

ミトコンドリアや葉緑体を生み出した細胞内共生は現在でも多くの生物で見られ、新たな機能と構造の獲得による真核細胞の進化や多様化の原動力となっている。しかし、細胞内共生成立のための分子メカニズムはほとんど明らかにされていない。その最も大きな原因は、ほとんどの細胞内共生生物においては、互いの存在が生存に不可欠なまでに宿主と共生体の細胞機能の統合が進んでいるため、人為的な共生体の除去や再共生の誘導実験ができないためである。これを可能にするのが、繊毛虫のミドリゾウリムシ (*Paramecium bursaria*) である。ミドリゾウリムシは細胞質内に約700細胞の共生クロレラを保持しており、各クロレラはperialgal vacuole (PV) 膜と呼ばれる特殊な膜に包まれている。このPV膜は食胞膜由来であると考えられているが、PV膜には宿主のリソソームが融合しない。共生クロレラはミドリゾウリムシに光合成産物の酸素やマルトースなどの糖類を与えていると報告されている (Brown and Nielsen, 1974; Pado, 1967)。ミドリゾウリムシの共生藻について Hoshina and Imamura (2011) は、起源の異なる複数の緑藻類が独立してミドリゾウリムシに共生したことを報告しており、さらに保科ら (2006) は、ミドリゾウリムシの共生藻が全て *Chlorel-*



Tel/Fax: 0852-32-6438
E-mail: kodama@life.shimane-u.ac.jp
Received: 18 Feb 2019; Accepted: 15 Mar 2019.

la とは言い切れないと提起している (保科ら, 2006). なお, 著者らの研究では主に, *Chlorella variabilis* を用いて実験を行なっているが (Kodama et al., 2007; Kodama and Fujishima, 2016a), 本総説ではこれまでに *Chlorella* spp. を材料に行われた研究についても触れる都合上, それらをまとめてクロレラ (単離状態や再共生過程のもの), あるいは共生クロレラ (ミドリゾウリムシに共生状態のもの) と表記させていただく. 宿主のミドリゾウリムシは共生クロレラに CO_2 や NH_3 , 光合成活性上昇因子などを与えている (Albers et al., 1982; Albers and Wiessner, 1985; Kamako and Imamura, 2006; Reisser, 1986). クロレラを共生者として保持することによってミドリゾウリムシは飢餓や密閉条件下でも長期間生存可能であるだけでなく (Karakashian, 1975; 児玉と藤島, 未発表), 酵母菌やバクテリアの感染から保護されることが知られている (Görtz 1982). また, 共生クロレラを持つミドリゾウリムシの分裂速度は, 持たないミドリゾウリムシより速い (Görtz, 1982; Karakashian, 1963, 1975). 驚くべきことに, 三輪 (2018) は細いガラス管にミドリゾウリムシを数十細胞封じ込めることで酸欠と飢餓の状態を作り出し, 光を当てたまま放置しておいたところ, ミドリゾウリムシの細胞数が定期的に増減して 14 年間も生き続けたと報告している. これは, ゾウリムシとクロレラとの間で相利共生の関係が完全に確立したということを示唆している. ミドリゾウリムシの寿命は正確には明らかにされていないが, 3,000 回以上は分裂すると言われている (三輪, 2018). 通常のゾウリムシの分裂回数は 700 回程度であると考えられているので (Smith-Sonneborn, 1981), ミドリゾウリムシの分裂回数は圧倒的に多く, 三輪 (2018) の実験条件下はそれよりもはるかに多いと予想される. 前述のとおりミドリゾウリムシと共生クロレラの間では代謝産物の授受が行われ, 相利共生の関係であるにも関わらず, 適切な培養条件下においては, まだ互いの存在が生存に必須な段階ではない. ミドリゾウリムシを暗闇で培養したり, X 線照射や DCMU や, パラコート, タンパク質合成阻害剤のシクロヘキシミドで処理すると, ミドリゾウリムシ 1 細胞あたりの共生クロレラ数が徐々に減少し, 最終的には完全にクロレラを除去することが可能である (Hosoya et al., 1995; Karakashian, 1963; Reisser, 1976; Weis, 1984). このようにして人為的に共生クロレラを除去したミドリゾウリムシを, 本総説ではクロレラ除去細胞と呼ぶ. このクロレラ除去細胞は他種のゾウリムシと同様に, バクテリアなどの餌を与えて培養することが可能である. 一方でミドリゾウリムシから単離されたクロレラも, 適切な培養条件下で培養が可能である. それだけではなく, 別々に培養した両者を混合すると, クロレラはクロレラ除去細胞に摂食され, 再び共生を確立させることが可能である. これは, 両者の関係が原生動物細胞への藻類の細胞内共生, つまり二次共生の初期段階にあることを示しており, 二次共生の

成立機構解明のモデル材料になると 50 年以上前から考えられてきた (Siegel and Karakashian, 1959). しかし, この材料を使った二次共生の研究はほとんど進展していなかった.

2. ミドリゾウリムシへのクロレラの再共生過程

共生クロレラを人為的に除去したミドリゾウリムシと, ミドリゾウリムシから単離した共生クロレラを混合した直後の細胞と数日後の細胞を比較すると, その変化は一目瞭然であった (図 1). クロレラ除去細胞と混合した直後は食胞膜内にパッキングされた状態のクロレラが (図 1A), どのようにして, またどのタイミングで, 図 1B のように細胞質中に散在するようになるのか, ミドリゾウリムシにとって餌生物であるはずのクロレラが, どのようにして消化を免れて共生に至るのか, 疑問は募るばかりであった. そこで著者らはまず, クロレラ除去細胞とクロレラの混合の条件と, クロレラ除去細胞に取り込まれなかった外液のクロレラを完全に洗浄する方法の検討を行った. 先行研究では, 外液のクロレラの除去に遠心を使っていたために, クロレラ除去細胞と同程度に重いクロレラの除去ができずに失敗していたが, 著者らはクロレラ除去細胞とクロレラの混合時間を 1.5 分間に限定し, その後直ちに目開き $15\ \mu\text{m}$ のナイロンメッシュフィルターで濾過することによって, ほぼ完全なクロレラの除去に成功し, 宿主の食胞に取り込まれたクロレラの運命を追跡する最適条件を開発することができた (Kodama and Fujishima, 2005). この条件検討から 15 年経った今でも, 同じ条件の元で実験を行なっている. 現在, 大量の細胞に, 同調して二次共生を誘導することが可能な真核生物は, ミドリゾウリムシだけである. 著者らは

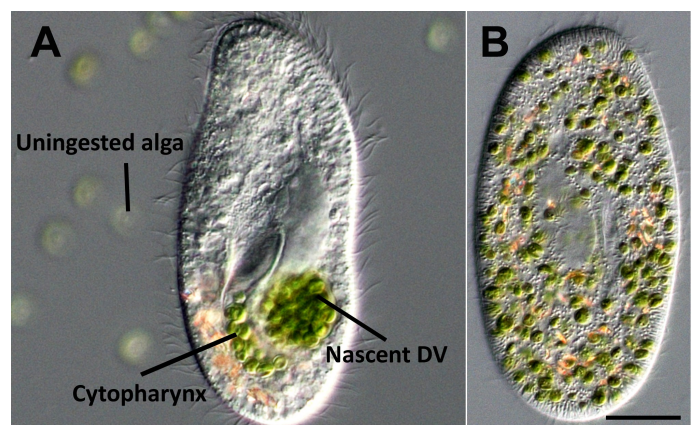


図 1. クロレラ除去細胞とミドリゾウリムシから単離したクロレラを混合した直後 (A) と, 24 時間後 (B) の微分干渉顕微鏡写真. (A) では食胞膜内にパッキングされた状態 (Nascent DV) のクロレラは, 24 時間後には細胞質中に散在しているのが分かる (B). Uningested alga, クロレラ除去細胞に取り込まれなかったクロレラ. Cytopharynx, 細胞咽頭. Nascent DV, 形成直後の食胞.

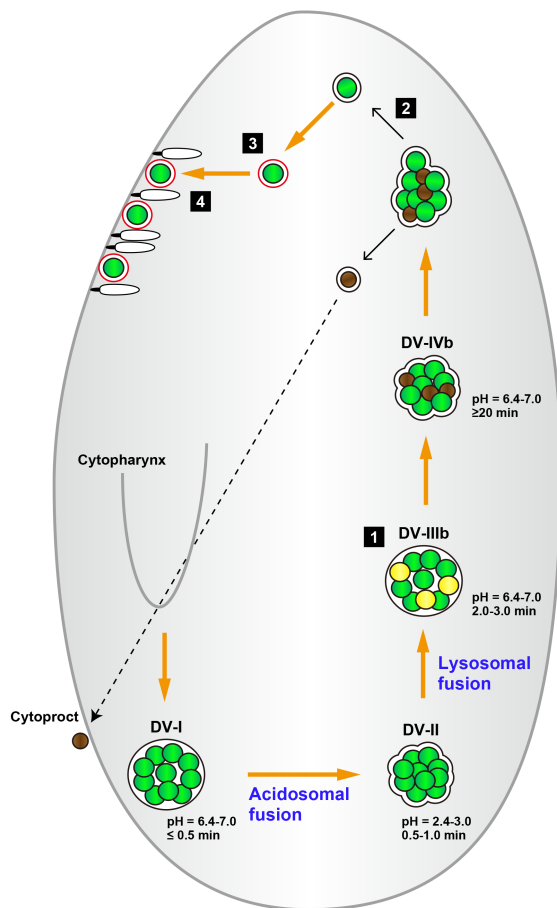


図 2. クロレラ除去細胞へのクロレラの再共生過程の模式図。クロレラの再共生の成立には本文中に述べた 4 つのプロセスが必須である。Kodama and Fujishima (2016b) から引用。

この方法を用いることで、長年手付かずであった二次共生の成立機構解明の突破口を開けたと感じている。

上記の方法を使って宿主食胞に取り込まれたクロレラの運命を 10 秒単位で追跡した結果、従来の定説では、クロレラはリソソーム融合前に食胞膜から脱出するとされていたが (Meier and Wiessner, 1989), それを覆すクロレラの再共生過程の全容が明らかになった。再共生成立には次の 4 つのプロセスが必須であった (図 2)。プロセス 1: クロレラ除去細胞とクロレラを混合してから 3 分後に、アシドソームとリソソームが融合した宿主食胞内で一部のクロレラが一時的に消化酵素に耐性を示す。プロセス 2: クロレラ除去細胞とクロレラを混合してから 30 分以降に、食胞膜の出芽によってクロレラが宿主細胞質中に 1 つずつ遊離する。プロセス 3: 細胞質中に遊離したクロレラを包む食胞膜が、宿主リソソーム融合を阻止する PV 膜に分化する。プロセス 4: クロレラを包む PV 膜が宿主細胞表層直下に接着して安定化し、24 時間後には細胞分裂を開始して細胞内共生が成立する。なお、本研究で用いたミドリゾウリムシは、ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) ゾウリムシから入手可能である。

3. 再共生過程の 4 つのプロセスの調節機構に関する研究

ここでは、上記の 4 つのプロセスの調節機構に関する著者らの研究成果についてご紹介させていただく。

プロセス 1 の同一食胞内の一部のクロレラのみが宿主リソソーム消化酵素耐性を示す原因は、クロレラの宿主食胞内での位置、クロレラの種や株の違い、クロレラと宿主のタンパク質合成活性の有無とは無関係であった (Kodama et al., 2007)。しかし、クロレラ除去細胞との混合前に恒暗条件下で 24 時間培養したクロレラは、宿主食胞内での消化酵素耐性を失うことが明らかになった (Kodama and Fujishima, 2014)。この現象について詳細を調べたところ、恒明条件下で培養したクロレラは、宿主食胞内の酸性化を遅らせる働きがあることが分かった (Kodama et al., 2017)。Fok et al. (1987) は、食胞にリソソームが融合するためには、その前にアシドソームが融合することが必要であると報告している。従って、食胞内の酸性化が遅延することで、リソソームの融合も遅れると予想される。このように、共生クロレラは、宿主の食胞の分化のタイミングに影響を与える。図 3 は、ミドリゾウリムシから単離したクロレラの増殖の時期 (A) と、その時期のクロレラのクロレラ除去細胞への再共生率 (B) の関連性を示している。(B) が示すように宿主外でクロレラを培養すると、培養開始から 6 日後の定常期初期のクロレラと比較して、培養開始から 13 日後の定常期後期のクロレラには消化酵素耐性がほとんど見られず、クロレラ除去細胞に取り込まれたほぼ全てのクロレラが消化されることが明らかになった (Kodama and Fujishima, 2016a)。増殖期に比較的近い活発な生理活性をもつクロレラは、光合成も活発に行なっていると予測される。前述のように、恒暗条件下で予め培養したクロレラは、宿主食胞内での消化酵素耐性を失うので (Kodama and Fujishima, 2014)、クロレラの増殖の時期と消化のされやすさは関連しているのではないかと考えている。図 4 は、クロレラ除去細胞にミドリゾウリムシから単離した直後の生きたクロレラ (A)、10 分間ボイルして殺したクロレラ (B)、直径が 3 μm のラテックスビーズ (C) を与え、LysoSensor™ Yellow/Blue DND-160 で染色したクロレラ除去細胞の蛍光顕微鏡写真である。LysoSensor™ Yellow/Blue DND-160 は酸性オルガネラ内の pH によって蛍光強度が変化するため、食胞内のおおよその pH を知るができる。観察の結果、生きたクロレラは酸性の小胞であるアシドソームが融合した宿主食胞内の酸性化を遅らせることができるが (図 4A, 矢尻)、ボイルしたクロレラやラテックスビーズにはその働きは無いことを明らかにした (図 4B, C, 矢印)。生きたクロレラを取り込んだ食胞の直径の大きさと消化の関係性について、直径の大きい食胞 (つまり、多数のクロレラを包んだ食胞) 内のクロレラの方が、直径の小さな食胞 (つまり、クロレラを少数しか包んでいな

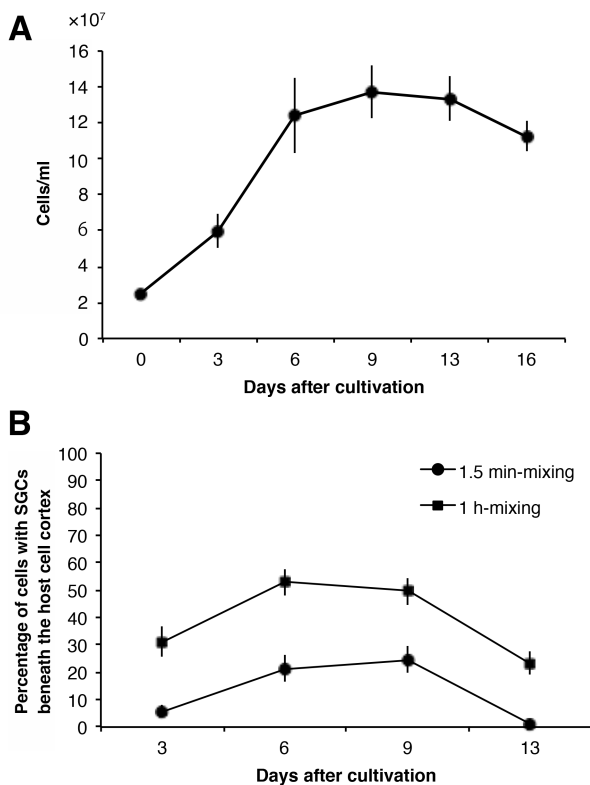


図 3. 改変 BBM (Modified Bold's Basal Medium, MBBM) (Agarkova et al., 2008) 中で培養した *C. variabilis* NC64A 株の増殖の時期 (A) と、各時期のクロレラをクロレラ除去細胞に与えた時の共生率 (B). (A), (B) の横軸はいずれも培養日数を示している. (A) のグラフが示すように、1 ml あたり 2.5×10^7 cells の細胞密度に調整したクロレラを MBBM 中で培養すると、培養 6 日目には定常期初期に、9 日目には定常期に達した. 13 日目には死滅期に突入した. (B) のグラフが示すように、クロレラ除去細胞とクロレラを 1.5 分 (黒丸) または 1 時間 (黒四角) 混合し、その時の共生率を調べた. 1 細胞ずつで存在する緑色の消化を免れたクロレラが、宿主細胞表層直下に複数接着していた場合、その宿主にはクロレラが共生していると定義した (Kodama and Fujishima, 2005). 共生率は、クロレラが定常期に達するまでは徐々に上昇したが、その後は減少し、死滅期に突入したクロレラはほぼ全て消化された. 混合時間の長さに関わらず、同様の傾向が見られた. グラフ (A) のバーは標準誤差を、グラフ (B) のバーは 95% 信頼限界を示している. Kodama and Fujishima (2016a) から引用.

い食胞) 内のクロレラと比較すると、消化されるクロレラの数が少ないことが明らかになっている (Kodama et al., 2007). この結果から、直径の大きな食胞には宿主のリソソームが融合していない可能性や、融合しても食胞内にリソソーム酵素が充満していない可能性が考えられたが、リソソームの指標酵素である酸性フォスファターゼ活性を検出する Gomori 染色による食胞の観察によって、直径の大きな食胞でも食胞全体に酸性

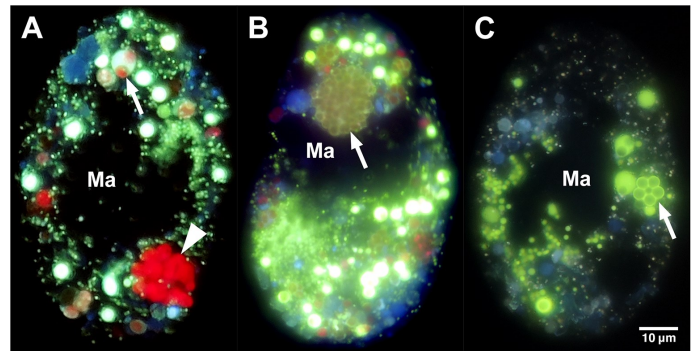


図 4. LysoSensor™ Yellow/Blue DND-160 で染色したクロレラ除去細胞の蛍光顕微鏡写真. クロレラ除去細胞と生きたクロレラ (A), 10 分間ボイルして殺したクロレラ (B), 直径が $3 \mu\text{m}$ のラテックスビーズ (C) を 1.5 分間のみ混合し、その LysoSensor™ Yellow/Blue DND-160 で 10 分間染色して、蛍光顕微鏡で観察した. 多数の生きたクロレラを包んだ直径の大きな食胞内には蛍光は観察されなかった (A, 矢尻). 一方で、生きたクロレラを 2 細胞しか包んでいない直径の小さな食胞内には、酸性を示す蛍光が観察された (A, 矢印). ボイルしたクロレラを包んだ食胞 (B, 矢印) と、ラテックスビーズを包んだ食胞 (C, 矢印) 内には、食胞の直径に関わらず、酸性を示す蛍光が観察された. Ma, 大核. Kodama et al. (2017) から引用.

フォスファターゼ活性が存在することが明らかになっている (Kodama and Fujishima, 2009b). クロレラ除去細胞に取り込まれてから 3 分後には食胞膜にリソソームが融合し、食胞内容物の消化が始まる (Kodama and Fujishima, 2005). そのため、クロレラのリソソーム消化酵素への耐性は、食胞内に取り込まれた後に獲得するのでは遅く、クロレラが消化されるか消化されないかの運命は既に食胞膜に取り込まれる前に決まっているのではないかと予測している. 直径の大きい食胞には消化を免れる運命にあるクロレラも多く含まれていると考えられるので、多数のクロレラを包んだ食胞内のクロレラの方が消化されにくいのかもかもしれない.

プロセス 2 の食胞内から細胞質中への遊離については、 $3 \mu\text{m}$ 程度の直径を持つ顆粒なら酵母菌などのクロレラ以外の細胞やラテックスビーズでも誘導され、この現象が直径依存的に誘導されることを明らかにした (Kodama and Fujishima, 2005). この食胞膜の出芽には、ミトコンドリアや葉緑体の分裂に重要な役割を果たすダイナミンの関与が強く示されている (Kodama and Fujishima, 2012b). クロレラの食胞膜からの出芽は精密に行われており、予め同一食胞内に直径が $0.2 \mu\text{m}$ のラテックスビーズを共に取り込ませておいても、クロレラのみが 1 細胞ずつ出芽するようである (角田と児玉, 未発表データ).

以下の実験結果から、プロセス 3 の PV 膜の機能の獲得には、共生クロレラが光合成時に合成するタンパク質が必要であることが示唆されている. 低濃度のシク

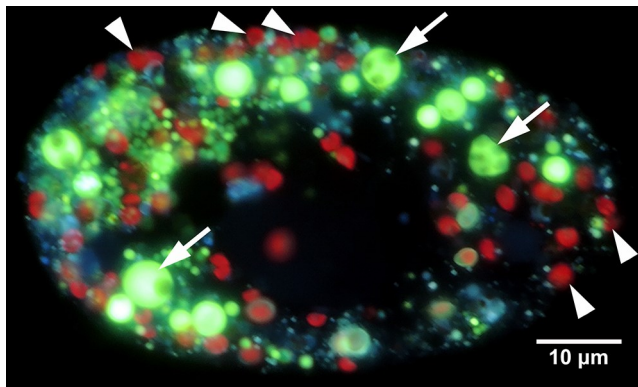


図 5. クロレラ除去細胞とミドリゾウリムシから単離したクロレラを 1.5 分間のみ混合し、2 時間半後に LysoSensor™ Yellow/Blue DND-160 で染色した蛍光顕微鏡写真。矢尻は 1 細胞ずつ宿主細胞表層直下に接着したクロレラを示している。このようなクロレラは PV 膜に包まれていると考えられている (Kodama and Fujishima, 2005)。蛍光は食胞内のみを観察され (矢印)、PV 膜内には観察されなかった (矢尻)。Kodama et al. (2017) から引用。

ロヘキシミド処理により、クロレラのタンパク質合成を選択的に阻害することが可能である (Ayala and Weis, 1987)。この処理によって、PV 膜の膨張、宿主細胞表層直下からの共生クロレラを包んだ PV 膜の遊離、および PV 膜内の共生クロレラの消化が同調的に誘導されることを発見し、この現象を *synchronous perialgal vacuole swelling (SPVS)* と名付け、その誘導の調節機構と PV 膜の機能を推測した (Kodama and Fujishima, 2008; Kodama et al., 2011)。なお、これらの現象は、恒明条件下でシクロヘキシミド処理を行なった時にのみ起こり、恒暗条件下での処理や、光合成阻害剤の DCMU を添加して処理を行なった時には誘導されなかった (Kodama and Fujishima, 2008)。また、前述の LysoSensor™ Yellow/Blue DND-160 を用いて、図 5 のように食胞膜 (図 5, 矢印) と PV 膜 (図 5, 矢尻) を識別できることを明らかにした (Kodama et al., 2017)。

プロセス 4 のクロレラの接着については、その場所に予め存在しているトリコシストの局所的除去を伴い、共生クロレラの有無がトリコシストの数と配置を可逆的に変化させることが明らかになっている (Kodama and Fujishima, 2009a; Kodama and Fujishima, 2010; Kodama and Fujishima, 2016b)。さらに、クロレラの宿主細胞表層直下への接着は、宿主の前端と後端以外の場所から起こることを発見した。細胞前端にクロレラが接着しにくい理由としては、その部分のトリコシストが他の部分と比較して除去されにくいため (もしくは発射されにくいため) であると考えられている。実際に、リゾチームでクロレラ除去細胞を処理することで人為的にトリコシストを除去すると、細胞の前端にもクロレラが接着できるようになる (Kodama, 2013)。表層直下に接着した共生クロレラは、細胞を高

速で遠心することで同調的に離脱を誘導することが可能である。この離脱した共生クロレラは宿主の原形質流動を必要条件として、遠心後 10 分以内に再び細胞表層直下に接着する (Kodama and Fujishima, 2013)。細胞表層直下に接着した全てのクロレラは、クロレラ除去細胞と混合してから 3 日以内に宿主の栄養状態に合わせて分裂を開始し、細胞内共生を成立させることも明らかにした (Kodama and Fujishima, 2012a)。木下らは、共生クロレラを持つミドリゾウリムシが示す薬剤耐性や接合活性のサーカディアンリズムの発現が、クロレラ除去細胞にクロレラを感染させてから 3~4 日後であることを明らかにし、再感染したクロレラの共生成立が 3~4 日後であることを示している (木下ら, 2009)。著者らの研究結果は、木下らの報告による共生成立のタイミングと一致している。

4. クロレラと共生前後の細胞のトランスクリプトーム解析

著者らはクロレラとの共生前後のミドリゾウリムシのトランスクリプトーム解析を行い、共生クロレラの有無による宿主ミドリゾウリムシの遺伝子発現の変化を初めて明らかにした。クロレラとの共生前後で発現が変化する宿主の遺伝子数は 6,698 であった。共生クロレラを持つミドリゾウリムシではストレスタンパク質遺伝子の HSP70 の発現が、共生クロレラを除去したミドリゾウリムシでは抗酸化作用をもつグルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) 遺伝子の発現が増加することなどが明らかになった (Kodama et al., 2014)。共生クロレラの光合成に伴って放出される活性酸素種に対応するため、GST 遺伝子については、共生クロレラを保持するミドリゾウリムシの方で発現量が増加すると予測される。しかし、著者らのデータはその予測とは反対の結果を示した (Kodama et al., 2014)。この結果は Hörtnagl and Sommaruga (2007) の結果を支持するものとなったが、まだその理由については明らかにできていない。現在は、共生クロレラの有無で発現が変化する宿主遺伝子の部分塩基配列を使って合成ペプチドを作製し、それを抗原にした抗血清を使用して、クロレラ除去細胞と共生細胞における抗原の細胞内局在性を間接蛍光抗体法で比較している。さらに、ミドリゾウリムシと共生前後の *C. variabilis* NC64A 株のトランスクリプトーム解析を行っている。NC64A 株はかつてミドリゾウリムシの細胞内から単離されたクロレラであり、2010 年にクロレラ種では初めて全ゲノムが解読された (Blanc et al., 2010)。著者らは、ミドリゾウリムシから 50 年以上も前に単離され宿主外で継代培養されてきた NC64A 株も、クロレラ除去細胞への感染能力を維持していることを確認にしている (Kodama and Fujishima, 2016a)。刺胞動物やグリーンヒドラとそれらの共生藻のゲノム・トランスクリプトーム解析も国内外で行われており、共生に関連する遺伝子から、細胞内共生

立に至るプロセスの全容が明らかになりつつある (Hamada et al., 2018; 湯山, 2018)。

5. 細胞内に共生藻をもつアメーバ *Mayorella viridis* を用いた研究

ミドリゾウリムシ以外でも、クロレラ様の緑藻を共生させている繊毛虫やアメーバは多数存在しており、それらは冷涼な高地にある湿原で多数観察されている (月井, 2010)。かつては、ミドリゾウリムシと並んで細胞内共生研究の材料とされていた *Mayorella viridis* (以下、マヨレラと呼ぶ) であるが、最近ではほとんど研究論文が発表されていなかった。マヨレラの共生クロレラも PV 膜に包まれていることが観察されている (Cann, 1981)。さらに、共生クロレラの除去や共生クロレラの単離や再共生などの実験も可能である (<http://www.research.kobe-u.ac.jp/fsci-suzaki/microgallery/members/mviridis.html>)。このようにマヨレラとミドリゾウリムシには共通点が多い。そこで、著者はミドリゾウリムシで行なってきた実験の経験をマヨレラにも生かせないかと考えていた。そのような矢先、島根大学構内でマヨレラを採集することができた (図 6)。著者らが採集したマヨレラの共生藻は、まだクロレラとは同定されていないため、本総説では共生藻と呼ばせていただく。

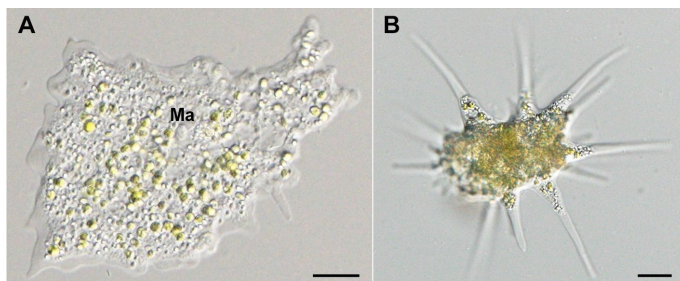


図 6. マヨレラ OA1 株の微分干渉顕微鏡写真。接着細胞 (A) と浮遊細胞 (B)。細胞内には共生藻が観察された。Ma, 大核。バー = 20 μm 。許可を得て Kawai et al. (2018) を改変。

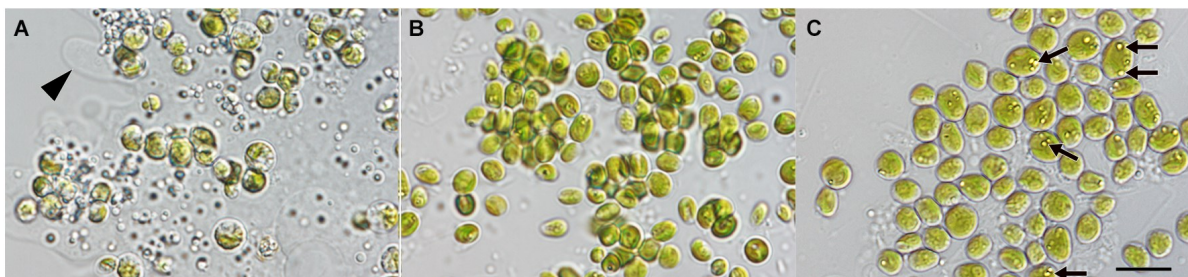


図 8. マヨレラ OA1 株の共生藻 (A) と、ミドリゾウリムシ Yad1g1N 株の共生クロレラ (B, C) の微分干渉顕微鏡写真。(C) のような潰れた状態の共生クロレラでは、液胞が観察しやすくなる (C, 矢印)。マヨレラの共生藻とミドリゾウリムシの共生クロレラの直径は同程度であったが、葉緑体の形態や液胞の数は異なっていた。(A) の矢尻はマヨレラの仮足を示している。バー = 10 μm 。Kawai et al. (2018) から引用。

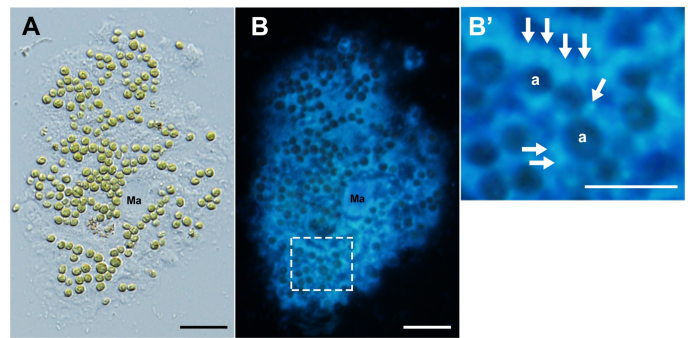


図 7. 4',6-Diamidino-2-Phenylindole (DAPI) で染色したマヨレラ OA1 株の微分干渉顕微鏡写真 (A) および蛍光顕微鏡写真 (B, B')。B' は B の四角で囲んだ部分の拡大写真。マヨレラのミトコンドリア (B', 白矢印) は、共生藻 (B', a) を取り囲むようにして局在している。Ma, 大核。a, 共生藻。バー = 10 μm 。許可を得て Kawai et al. (2018) を改変。

マヨレラ細胞質内の共生藻は原形質流動に乗って動いており (早川・洲崎, 2016)、ミドリゾウリムシの共生クロレラのように定着していない。マヨレラ細胞質内の共生藻の局在性を調べたところ、共生藻の周りには多数のミトコンドリアが存在していることが分かった (図 7B, B')。共生藻および寄生菌を包む包膜へのミトコンドリアの接着は、他の生物でも報告されており、細胞内共生における重要な現象であると示唆されている (Song et al., 2017; 早川・洲崎, 2016)。

図 8 はマヨレラの共生藻と、ミドリゾウリムシの共生クロレラの形態を比較した写真である。マヨレラ共生藻の直径は約 5 μm であった (図 8A)。共生藻の大きさはミドリゾウリムシの共生クロレラと同程度であったが、ミドリゾウリムシの共生クロレラの方がより濃い緑色をしていた (図 8B)。それぞれの葉緑体については、ミドリゾウリムシの共生クロレラの葉緑体は大きく濃い黄緑色をしていた。一方でマヨレラの共生藻には、細胞の半分以下の大きさ程しかない葉緑体や、ミドリゾウリムシの共生クロレラと比較すると色が薄い

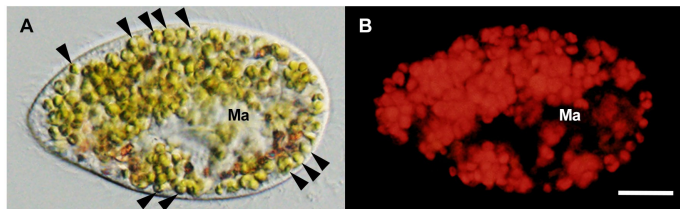


図 9. マヨレラ OA1 株由来の共生藻をもつミドリゾウリムシの微分干渉顕微鏡写真 (A) と蛍光顕微鏡写真 (B). (B) は共生藻のクロロフィル a の自家蛍光を示している. ミドリゾウリムシの細胞内には数百細胞の共生藻が観察された (A, B). ミドリゾウリムシの細胞表層直下に接着している共生藻も見られた (A, 矢尻). Ma, 大核. バー = 20 μm . Kawai et al. (2018) から引用.

葉緑体が観察された. ミドリゾウリムシの共生クロレラ内には, 1 細胞あたり複数個の小包が観察された (図 8C, 矢印). これらの小包は LysoSensorTM Yellow/Blue DND-160 で染色されることから, 液胞であると考えられる (Kodama and Fujishima, 2014).

マヨレラから共生藻を単離し, ミドリゾウリムシの共生クロレラ除去細胞と混合したところ, マヨレラ由来の共生藻はクロレラ除去細胞の細胞口から取り込まれて食胞を経由し, 図 9 のように細胞内共生を成立させた. その時のマヨレラ由来の共生藻のクロレラ除去細胞への共生率は約 87.5%であった (Kawai et al., 2018). 同様の条件でミドリゾウリムシ内の共生クロレラを単離し, クロレラ除去細胞へ再共生させた時の共生率は約 85%であった (児玉・藤島, 2008). したがって, ミドリゾウリムシ由来の共生クロレラとマヨレラ由来の共生藻とのクロレラ除去細胞への共生率はほぼ変わらない事が明らかとなった. しかし, マヨレラ由来の共生藻がクロレラ除去細胞に取り込まれて共生を成立されるまでの詳細な再共生過程の観察はまだ行っていない. また, ミドリゾウリムシの共生クロレラの細胞壁に特異的なモノクローナル抗体 (西嶋・藤島, 2007) を使った間接蛍光抗体法による観察の結果, この抗体ではマヨレラ由来の共生藻の細胞壁は標識されなかった (荒木・児玉, 未発表データ). 西嶋らのモノクローナル抗体の抗原はまだ明らかにされていないが, この結果は両者の細胞壁の性質が異なることを示唆している.

クロレラ除去細胞への共生率については有意差の見られなかった両者の共生藻であるが, 共生成立後の宿主細胞の増殖に与える影響については次のような違いが見られた (Kawai et al., 2018). マヨレラ由来の共生藻をクロレラ除去細胞に与えて共生させた細胞と, ミドリゾウリムシ由来の共生クロレラをクロレラ除去細胞に与えて共生させた細胞と, 飢餓条件下のクロレラ除去細胞の 3 種の細胞を一定条件下で培養し, 細胞数の変化と生存率を調べた (図 10). その結果, ミドリゾウ

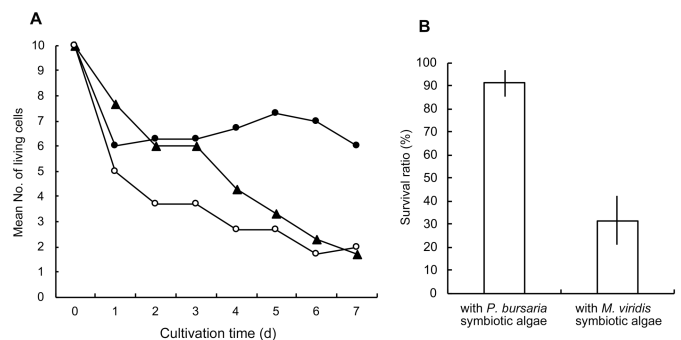


図 10. マヨレラ OA1 株由来の共生藻が, ミドリゾウリムシの増殖や生存に与える影響. (A) は生存細胞数の変化, (B) は生存率を示している. (B) は (A) と同様の実験を大量の細胞で行なった時の結果である. (B) では細胞数を 1 ml あたり 1,400 細胞に調整して実験を開始した. (A) の横軸は培養日数を示している. 飢餓条件下における, クロレラ除去細胞 (A, 白丸) と, マヨレラ由来の共生藻を持つ宿主細胞 (A, 黒三角) と, ミドリゾウリムシ由来の共生クロレラを持つ宿主細胞 (A, 黒丸) の生存細胞数の変化を調べた. ミドリゾウリムシ由来の共生クロレラを持つ宿主細胞は, 他の 2 種の宿主細胞と比較すると, 飢餓条件に耐性を示し, 生存細胞数の減少が緩やかであることがわかった. (B) は共生実験から 7 日後のミドリゾウリムシ由来の共生クロレラを持つ宿主細胞 (B, 左) と, マヨレラ由来の共生藻を持つ宿主細胞 (B, 右) の生存率を示している. マヨレラ由来の共生藻を持つ宿主細胞 (B, 右) の生存率は, ミドリゾウリムシ由来の共生クロレラを持つ宿主細胞 (B, 左) の生存率の 3 分の 1 程度であった. Kawai et al. (2018) から引用.

リムシ由来の共生クロレラと, マヨレラ由来の共生藻を持つ宿主細胞の細胞数と生存率における大きな差が見られた. 図 10A はそれぞれの共生藻をもつ宿主細胞数の変化を示している. ミドリゾウリムシ由来の共生クロレラを持つ宿主細胞 (図 10A, 黒丸) は, 2 日後以降は多少増殖する傾向が見られたが, マヨレラ由来の共生藻を持つ宿主細胞 (図 10A, 黒三角) と, クロレラ除去細胞 (図 10A, 白丸) は徐々に減少していくことが分かった. このように, マヨレラ由来の共生藻を持つ宿主細胞の生存率は, ミドリゾウリムシ由来の共生クロレラを持つ宿主細胞の生存率よりかなり低く, その値はクロレラ除去細胞とほとんど変わらない結果となった. 生存率についても, ミドリゾウリムシ由来の共生クロレラを持つ宿主細胞の方が (図 10B 左), マヨレラ由来の共生藻を持つ宿主細胞よりも約 3 倍高い結果になった (図 10B 右).

ミドリゾウリムシ由来の共生クロレラとマヨレラ由来の共生藻を持つ宿主細胞を比較すると, 細胞内の共生藻の色と宿主細胞の幅に違いが見られた. マヨレラ由来の共生藻はミドリゾウリムシよりも緑色が薄く, 宿主の細胞幅も細かった. 細胞幅を計測した結果, ミ

ドリゾウリムシ由来の共生クロレラを持つ宿主細胞は約 72.0 μm , マヨレラ由来の共生藻を持つ宿主細胞は約 49.8 μm であった (Kawai et al., 2018). これらの結果から, マヨレラ由来の共生藻はクロレラ除去細胞への共生能は持つが, ミドリゾウリムシに共生しても, マヨレラ由来の共生藻が光合成産物をミドリゾウリムシに提供する仕組みが成立しない, または提供していても微量であるなどの可能性が示唆された. 淡水カイメンやグリーンヒドラにおいては, その共生クロレラがグルコースを提供し, ミドリゾウリムシの共生藻は宿主にマルトースを提供していると報告されている (Muscatine et al., 1967; Hamada et al., 2018). マヨレラの共生藻の放出糖はまだ不明である. 今後は実際の放出糖の種類や, ミドリゾウリムシに共生したマヨレラ由来の共生藻と宿主間において, 物質の授受が行われているかどうかを調べる必要がある.

6. さいごに

今後はマヨレラだけでなく, 共生藻をもつ他の原生生物も研究材料としていきたい. また, ミドリゾウリムシ以外の *Paramecium* 属にクロレラを与え, 共生能を持つ種と持たない種の違いを明らかにしていきたい. 海洋における光合成共生系においては, イソギンチャクにおいてのみ, 宿主の飼育と共生者の培養, 共生系からの共生者の除去, 共生者がいない状態での増殖・飼育, 単離した共生者の再感染による共生系の再構築が可能とされている (丸山, 2018). 前述のとおり, ミドリゾウリムシとクロレラの共生系は上記の全てが可能であり, 培養も採集も非常に容易である. 前述のクロレラと共生前後の宿主細胞のトランスクリプトーム解析の論文 (Kodama et al., 2014) は, アクセス数が多い注目論文として BMC Genomics の Highly accessed article に認定された. 著者らの論文が, ついにミドリゾウリムシを用いた分子生物学の幕開けのきっかけとなっていれば大変喜ばしい. 著者らの基礎研究の成果を用いて, いずれは共生の成立に普遍的な現象の発見とその調節機構の解明に貢献できるのではないかと期待している. 藻類を共生生物として持つ動物は淡水や海水中に多数存在しているので, 本研究の成果は, 細胞内共生による細胞進化の機構の解明だけでなく, 共生関係の維持を通じた生態系の保全等の地球規模の問題解決にも貢献できる日が来るかもしれない. まだまだミドリムシと間違われがちなミドリゾウリムシであるが, この生物の魅力はミドリムシに勝るとも劣らない. クロレラ除去細胞とクロレラの再共生実験を行う度に, この現象を多くの人に見せたいと思う. この実験は著者が担当する学生実験では毎年行っており, 学生以上に自分が興奮している様子は否めないが, 餌生物であるクロレラが捕食者であるクロレラ除去細胞からの消化を免れて, たった数時間で共生を成立させる様子は生物の面白さや不思議さを与えるに違いないと

信じている. ミドリゾウリムシの魅力を後継者に伝え, ミドリゾウリムシの知名度を高くすることが著者の夢である.

謝辞

学会賞に推薦してくださいました, 茨城大学・三輪五十二名誉教授に深く感謝いたします. また, 本総説を執筆する機会を与えてくださいました, 廣野雅文 前編集長, 道羅英夫 和文誌「原生生物」編集長に深く感謝いたします. 原生生物の魅力や研究者倫理や様々なことをご教授いただき, 現在も共同研究者としてご支援いただいております, 山口大学・藤島政博教授 (特命) に深く感謝いたします. 本研究は, 日本学術振興会からの科研費若手研究 B (No. 24770228, No. 26840119; 研究代表者 児玉有紀), 科研費基盤研究 C (No. 17K07513; 研究代表者 児玉有紀) の助成を受けて実施されました.

引用文献

- Agarkova, I., Dunigan, D., Gurnon, J., Greiner, T., Barres, J., Thiel, G. and Van Etten, J. L. (2008). Chlorovirus-mediated membrane depolarization of *Chlorella* alters secondary active transport of solutes. *J. Virol.*, 82, 12181–12190.
- Albers, D., Reisser, W. and Wiessner, W. (1982) Studies of the nitrogen supply of endosymbiotic chlorellae in green *Paramecium bursaria*. *Plant Sci. Lett.*, 25, 85–90.
- Albers, D. and Wiessner, W. (1985) Nitrogen nutrition of endosymbiotic *Chlorella spec.* *Endocytobio. Cell Res.*, 2, 55–64.
- Ayala, A. and Weis, D. S. (1987) The Effect of Puromycin and Cycloheximide on the Infection of Algae-Free *Paramecium bursaria* by Symbiotic *Chlorellae*. *J. Protozool.*, 34, 377–381.
- Blanc, G., Duncan, G., Agarkova, I., Borodovsky, M., Gurnon, J., Kuo, A., Lindquist, E., Lucas, S., Pangilinan, J., Polle, J., Salamov, A., Terry, A., Yamada, T., Dunigan, D. D., Grigoriev, I. V., Claverie, J. M. and Van Etten, J. L. (2010) The *Chlorella variabilis* NC64A genome reveals adaptation to photosymbiosis, coevolution with viruses, and cryptic sex. *Plant Cell*, 22, 2943–2955.
- Brown, J. A. and Nielsen, P. J. (1974) Transfer of photosynthetically produced carbohydrate from endosymbiotic *Chlorellae* to *Paramecium bursaria*. *J. Protozool.*, 21, 569–570.
- Cann, J. P. (1981) An ultrastructural study of *Mayorella viridis* (Leidy) (Amoebida: Paramoebidae), a Rhizopod containing zoochlorellae. *Arch. Protistenkd.*, 124, 353–360.
- Fok, A. K., Ueno, M. S., Azada, E. A. and Allen, R. D. (1987) Phagosomal acidification in *Paramecium*: effects on lysosomal fusion. *Europ. J. Cell Biol.*, 43, 412–420.

- Görtz, H. D. (1982) Infections of *Paramecium bursaria* with bacteria and yeasts. *J. Cell Sci.*, 58, 445–453.
- Hamada, M., Schröder, K., Bathia, J., Kürn, U., Fraune, S., Khalturina, M., Khalturin, K., Shinzato, C., Satoh, N. and Bosch, T. C. G. (2018) Metabolic co-dependence drives the evolutionarily ancient *Hydra-Chlorella* symbiosis. *eLife* 2018;7:e35122.
- 早川昌志, 洲崎敏伸 (2016) ミドリゾウリムシにおける細胞内共生研究の現状と課題. 比較生理生化学, 33, 108–115.
- Hörtnagl, P. H. and Sommaruga, R. (2007) Photo-oxidative stress in symbiotic and aposymbiotic strains of the ciliate *Paramecium bursaria*. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 6, 842–847.
- Hoshina, R. and Imamura, N. (2011) Multiple Origins of the Symbioses in *Paramecium bursaria*. *Protist*, 159, 53–63.
- 保科 亮, 鎌戸伸一郎, 加藤 豊, 今村信孝 (2006) 日本産ミドリゾウリムシ細胞内共生藻について. 原生動物学雑誌, 39, 173–188.
- Hosoya, H., Kimura, K., Matsuda, S., Kitaura, M., Takahashi, T. and Kosaka, T. (1995) Symbiotic Algae-free Strains of The Green Paramecium *Paramecium bursaria* Produced by Herbicide Paraquat. *Zool. Sci.*, 12, 807–810.
- Kamako, S. and Imamura, N. (2006) Effect of Japanese *Paramecium bursaria* extract on photosynthetic carbon fixation of symbiotic algae. *J. Euk. Microbiol.*, 53, 136–141.
- Karakashian, M. W. (1975) Symbiosis in *Paramecium bursaria*. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 29, 145–173.
- Karakashian, S. J. (1963) Growth of *Paramecium bursaria* as influenced by the presence of algal symbionts. *Physiol. Zool.*, 36, 52–68.
- Kawai, S., Araki, S. and Kodama, Y. (2018) No mutual symbiosis following infection of alga-free *Paramecium bursaria* with symbiotic algae from *Mayorella viridis*. *Symbiosis*, 75, 51–59.
- 木下浩幸, 大森智志, 野崎学, 三輪五十二 (2009) ミドリゾウリムシのクロレラ再感染過程における共生成立時期. 原生動物学雑誌, 42, 88–89.
- Kodama, Y. (2013) Localization of attachment area of the symbiotic *Chlorella variabilis* of the ciliate *Paramecium bursaria* during the algal removal and reinfection. *Symbiosis*, 60, 25–36.
- Kodama, Y. and Fujishima, M. (2005) Symbiotic *Chlorella* sp. of the ciliate *Paramecium bursaria* do not prevent acidification and lysosomal fusion of host digestive vacuoles during infection. *Protoplasma*, 225, 191–203.
- Kodama, Y. and Fujishima, M. (2008) Cycloheximide induces synchronous swelling of perialgal vacuoles enclosing symbiotic *Chlorella vulgaris* and digestion of the algae in the ciliate *Paramecium bursaria*. *Protist*, 159, 483–494.
- Kodama, Y. and Fujishima, M. (2009a) Infection of *Paramecium bursaria* by Symbiotic *Chlorella* Species. In: *Endosymbionts in Paramecium*. Fujishima, M. (ed.). Springer Berlin Heidelberg, pp. 31–55.
- Kodama, Y. and Fujishima, M. (2009b) Timing of perialgal vacuole membrane differentiation from digestive vacuole membrane in infection of symbiotic algae *Chlorella vulgaris* of the ciliate *Paramecium bursaria*. *Protist*, 160, 65–74.
- Kodama, Y. and Fujishima, M. (2010) Induction of secondary symbiosis between the ciliate *Paramecium* and the green alga *Chlorella*. In: *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*. Vol. 1. Vilas, A. M. (ed.) Formatex Research Center, pp. 95–102.
- Kodama, Y. and Fujishima, M. (2012a) Cell division and density of symbiotic *Chlorella variabilis* of the ciliate *Paramecium bursaria* is controlled by the host's nutritional conditions during early infection process. *Environ. Microbiol.*, 14, 2800–2811.
- Kodama, Y. and Fujishima, M. (2012b) Characteristics of the digestive vacuole membrane of the alga-bearing ciliate *Paramecium bursaria*. *Protist*, 163, 658–670.
- Kodama, Y. and Fujishima, M. (2013) Synchronous induction of detachment and reattachment of symbiotic *Chlorella* spp. from the cell cortex of the host *Paramecium bursaria*. *Protist*, 164, 660–672.
- Kodama, Y. and Fujishima, M. (2014) Symbiotic *Chlorella variabilis* incubated under constant dark conditions for 24 hours loses the ability to avoid digestion by host lysosomal enzymes in digestive vacuoles of host ciliate *Paramecium bursaria*. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 90, 946–955.
- Kodama, Y. and Fujishima, M. (2016a) Differences in infectivity between endosymbiotic *Chlorella variabilis* cultivated outside host *Paramecium bursaria* for 50 years and those immediately isolated from host cells after one year of reendosymbiosis. *Biol. Open*, 5, 55–61.
- Kodama, Y. and Fujishima, M. (2016b) *Paramecium* as a Model Organism for Studies on Primary and Secondary Endosymbioses. In: *Biocommunication of Ciliates*. Witzany, G. and Nowacki, M. (eds.). Springer International Publishing, Switzerland, pp. 277–304.
- 児玉有紀, 藤島政博 (2008) 単細胞動物ミドリゾウリムシと緑藻クロレラとの細胞内共生成立機構. 原生動物学雑誌, 41, 117–132.
- Kodama, Y., Inouye, I. and Fujishima, M. (2011) Symbiotic *Chlorella vulgaris* of the ciliate *Paramecium bursaria* plays an important role in maintaining perialgal vacuole membrane functions. *Protist*, 162, 288–303.
- Kodama, Y., Nagase, M. and Takahama, A. (2017) Symbiotic *Chlorella variabilis* strain, 1 N, can influence the digestive process in the host *Paramecium bursaria* during early infection. *Symbiosis*, 71, 47–55.

- Kodama, Y., Nakahara, M. and Fujishima, M. (2007) Symbiotic alga *Chlorella vulgaris* of the ciliate *Paramecium bursaria* shows temporary resistance to host lysosomal enzymes during the early infection process. *Protoplasma*, 230, 61–67.
- Kodama, Y., Suzuki, H., Dohra, H., Sugii, M., Kitazume, T., Yamaguchi, K., Shigenobu, S. and Fujishima, M. (2014) Comparison of gene expression of *Paramecium bursaria* with and without *Chlorella variabilis* symbionts. *BMC genomics*, 15, 183.
- 丸山正 (2018) 浅海における光合成共生研究と深海の栄養共生 (特集 浅海における光合成共生研究と深海の栄養共生研究のクロストーク). *生物科学*, 69, 247–250.
- Meier, R. and Wiessner, W. (1989) Infection of algae-free *Paramecium bursaria* with symbiotic *Chlorella* sp. isolated from green paramecia. II. A timed study. *J. Cell Sci.*, 93, 571–579.
- 三輪五十二 (2018) 時間がわかるゾウリムシ. 時習館高校創立125周年記念論考集「みずから考え自ら成す」, 豊川堂書店, pp. 46–53.
- Muscattine, L., Karakashian, S. J. and Karakashian, M. W. (1967) Soluble extracellular products of algae symbiotic with a ciliate, a sponge and a mutant hydra. *Comp. Biochem. Physiol.*, 20, 1–12.
- 西嶋綾子, 藤島政博 (2007) *Chlorella vulgaris* と *C. sorokiniana* はミドリゾウリムシの細胞内に共存できない. *原生動物学雑誌*, 40, 28–29.
- Pado, R. (1967) Mutual relation of protozoan and symbiotic algae in *Paramecium bursaria*. *Acta Soc. Bot. Pol.*, 36, 97–108.
- Reisser, W. (1976) The metabolic interactions between *Paramecium bursaria* Ehrbg. and *Chlorella* spec. in the *Paramecium bursaria*–symbiosis. I. The nitrogen and the carbon metabolism. *Arch. Microbiol.*, 107, 357–360.
- Reisser, W. (1986) Endosymbiotic associations of freshwater protozoa and algae. *In: Progress in Protistology*. Vol. 1., Corliss, J. O. and Patterson, D. J. (eds.). Biopress Ltd., Bristol, pp. 195–214.
- Siegel, R. and Karakashian, S. J. (1959) Dissociation and restoration of endocellular symbiosis in *Paramecium bursaria*. *Anat. Rec.*, 134, 639.
- Smith-Sonneborn, J. (1981) Genetics and Aging in Protozoa. *Int. Rev. Cyt.*, 73, 319–354.
- Song, C., Murata, K. and Suzuki, T. (2017) Intracellular symbiosis of algae with possible involvement of mitochondrial dynamics. *Sci. Rep.*, 7:1221.
- 月井雄二 (2010) 淡水微生物図鑑 (原生生物ビジュアルガイドブック). 誠文堂新光社.
- Weis, D. S. (1984) The effect of accumulation time of separate cultivation on the frequency of infection of aposymbiotic ciliates by symbiotic algae in *Paramecium bursaria*. *J. Protozool.*, 31, 14A.
- 湯山育子 (2018) ゲノム、トランスクリプトームデータから明らかにされる刺胞動物—藻類の細胞内共生 (特集 浅海における光合成共生研究と深海の栄養共生研究のクロストーク). *生物科学*, 69, 214–222.

第52回 日本原生生物学会大会（水戸）のご案内（第1報）

大会長 北出 理（茨城大学）

第52回日本原生生物学会大会は、下記の日程で茨城大学・水戸キャンパスにおいて開催されます。水戸での開催は平成22年以来9年ぶりとなりますが、新しくなった大学図書館のホールが講演のメイン会場になる予定です。若い会員の皆さんのより一層の活性化を手助けするような大会にできればと思います。10月下旬の水戸は最低気温9℃、最高気温19℃程度と、だいぶ涼しい気候になってきますが、原生生物についての皆様の熱い議論を期待しております。ぜひ水戸大会にご参加下さい。



主な会場となる図書館と「覇者」の像

1. 会期

2019年10月25日（金）、26日（土）、27日（日）

10月25日（金）：評議員会、編集委員会、若手の会、若手の会・評議員会合同懇親会

10月26日（土）：大会第1日、総会、懇親会

10月27日（日）：大会第2日、シンポジウム

※ 上記予定については今後追加・変更する場合があります。その場合は現在準備中の学会大会ホームページにて、随時皆様にお知らせいたします。

2. 会場

茨城大学・水戸キャンパス (<https://www.ibaraki.ac.jp/generalinfo/campus/mito/>)

評議員会 : 図書館3階 セミナールーム

編集委員会 : 図書館3階 セミナールーム

若手の会 : 図書館3階 ライブラリーホール

総会・講演会場 : 図書館3階 ライブラリーホール

ポスター会場 : 図書館1階 ラーニングコモンズ

若手の会・評議員会合同懇親会 : 生協（福利センター）2階グリル

懇親会 : 茨苑会館（大学会館）食堂

※ 会場につきましても今後変更する場合があります。その場合も現在準備中の学会大会ホームページにて随時お知らせします。

- 3. 発表形式** 液晶プロジェクターを用いた口頭発表，およびポスター発表。
- ※ 発表演題数により，発表方法の変更をお願いする場合があります。
- 4. 参加申し込み** 要旨提出締め切りおよび事前参加申し込み締め切りは，2019年9月13日（金）（予定）です。
 申し込みの詳細等は次号の「原生生物」および大会ホームページでお知らせいたします。
- 5. 大会参加費等** 大会参加費等は，参加登録手続き後にお振り込みください。当日参加も受け付けますが，準備の都合上，できる限り事前の申し込みをお願いいたします。
- 大会参加費*：一般会員 3,000 円 学生会員 1,000 円 （*名誉会員，準会員は無料です。）
 （事前登録以後 一般会員 4,000 円 学生会員 1,000 円）
 懇親会費（予定）：学生会員 2,500 円 その他の会員 4,500 円
- 6. 昼食** 生協食堂以外に，大学周辺に定食の店，ラーメン屋，カレー屋等がございます。
 （27日は日曜のため食堂はお休みとなります。お弁当などを手配する予定です。）
- 7. 宿泊** 水戸駅周辺に各種ホテルがありますので，各自でご予約ください。
- 8. アクセス** 下記 URL をご覧ください。
<https://www.ibaraki.ac.jp/generalinfo/campus/mito/>
 JR 水戸駅からバスでお越しになる場合，北口 7 番または 5 番乗り場から「茨大前営業所」行などにご乗車いただき，「茨大前営業所」「茨大前」で降車下さい。時間は約 25 分，運賃は 330 円です。バス停から会場までは徒歩で 10 分程度です。
 利用できるバスの系統については，下記をご覧ください。
<http://www.ibako.co.jp/regular/univ/ibaraki-univ.html>
- 9. 大会事務局** 〒310-8512 水戸市文京 2-1-1 茨城大学 理学部 理学科
 第 52 回日本原生生物学会 大会事務局 北出 理
 TEL : 029-228-8375
 FAX : 029-228-8404
 E-mail : osamu.kitade.sci@vc.ibaraki.ac.jp

第51回 日本原生生物学会大会（松江）のご報告

大会長 児玉 有紀（島根大学）

第51回日本原生生物学会大会は、2018年10月19日（金）から21日（日）までの3日間の日程で、島根大学・松江キャンパスにおいて開催されました。一般会員45名、学生会員36名、非会員の招待講演者1名、非会員の中高教員2名、高校生2名の方々にご参加いただきました。2016年の第49回岡山大会で沼田治先生から大会長のお話をいただいた時は、自分に大会長という大役がつとまるか不安に思いました。これまでの人生を振り返ってみると、今までお世話になりっぱなしで、自ら計画してイベントを行うというのは私の苦手なことの一つでした。お引き受けするべきか迷ったのですが熟考して、主に次の2つの理由でお引き受けすることにしました。1つ目は精一杯のおもてなしをさせていただくことで、学部4年生の時からこれまでずっとお世話になっている、日本原生生物学会の皆様にも少しでも恩返しができるのではないか思ったからです。島根県と松江市の学会開催補助制度は以前から噂で知っており、実際に松江大会でも多大なご支援を頂戴しました。2つ目は、私が学生の時、2004年に藤島政博先生が大会長をされた山口大会が開催されました。私もスタッフの一員としてお手伝いさせていただきましたが、それがとても良い経験となっています。島根大学も同じ状況ですが、地方大学に全国から研究者が集まる機会は滅多にございません。また、山口大会で樋渡宏一先生に激励のお言葉をいただいたのは、今でも良く覚えており、私の大きな励みになっています。是非同じ経験を自分の研究室の学生さん達にもさせたいと思いました。

今回は、「将来の原生生物学者を育てたい」という思いの元に、中高生の方および、中高の先生方に参加していただきやすい大会になるように工夫しました。まず、岡山大会とつくば大会と同様に、中高生の方と中高の先生方は、参加費を無料にさせていただきました。中高生は学会員でなくても、一人につき一題、ポスター発表または口頭発表を可能にしました。また、大会3日目には、日本原生生物学会活性化委員会および若手の会との関連の公開シンポジウムを企画しました。シンポジストの皆様、ご講演をお引き受けいただきまして、ありがとうございました。

張り切って2年前から準備を始めていたのですが、大学の入試日程などが確定せず、結局本格的に動き出したのは平成30年度に入ってからでした。大会ホームページの更新作業も長い間止まっていました。大会まで1ヶ月もない9月28日に島根大学との共催が認められ、教室を広々と使えるようになりましたが、プログラムの原稿の締め切りと重なり、最後は余裕の無い状態で大会当日を迎えました。



大会長挨拶（山口大学、藤島政博先生ご提供）

19日には原生生物学会若手の会によるグループディスカッション「原生生物研究を盛り上げていくために若手にできることと、若手がやるべきこと。」が行われ、多くの若手研究者が参加し、活発な議論が行われたようです。また、名誉会員の浅井 博先生には「プロフェッショナル人として育み・育まれる方法とは何だろうか!」というタイトルで特別講演をしていただきました。若手の会終了後には、島根大学生協第二食堂において、若手の会・評議員会合同懇親会が行われました。合同懇親会には大変多くの方にご参加いただきました。合同懇親会の後に、食堂の片付けを手伝ってくださった皆様、本当に助かりました。ありがとうございました。合同懇親会の裏では、石田秀樹先生、石田研究室の学生さん、児玉研究室の学生さんが手のひらに豆を作りながらポスターパネルを運び、会場の設営をしてくれていました。

20日の9時からはいよいよ口頭発表が始まりました。松江大会では口頭発表16題、ポスター発表14題の一般講演がありました。今大会でも様々な研究対象、研究手法、研究内容の発表があり、活発な議論が交わされました。座長をお引き受けいただきました先生方、円滑な運営にご協力いただきましてありがとうございました。午後からはポスター発表が行われました。発表数の割に会場の講義室が広く心配していましたが、ポスター会場は熱気に包まれており、前半のみでは説明が終わらず後半も続けて発表された方もいらっしゃるということです。

総会の前には、東北大学の福田康弘先生に集合写真を撮影していただきました。福田先生の掛け声で一気



藤島政博先生による乾杯

に会場の雰囲気や和みました。総会では、日本原生生物学会・学会賞に島野智之会員（法政大学）の受賞の報告がなされました。総会後には受賞記念講演として、島野会員による「土壌環境を中心とした自由生活性の原生生物における種多様性及び生態の解明」が行われました。受賞記念講演後にはバスで懇親会会場の興雲閣に移動しました。バスの出発時間を予定より遅らせることになり、総会の時間を長めに確保しておくべきだったと反省しています。バスが会場近くに着いた際は既に日が暮れており、足元が悪くご迷惑をおかけしましたが、松江城周辺は松江水燈路でライトアップされており、会場は幻想的な雰囲気に包まれていました。藤島先生の乾杯でいよいよ懇親会が始まりました。松江にお越しになるのは初めてという声もたくさんお聞きしましたので、松江コンベンションビューローの多大なるご協力・ご支援のもと、大会懇親会の準備には特に力を入れておりました。幸運なことに、松江祭行列の前夜祭とも重なり、会場には鑿の音色が鳴り響いていました。懇親会の中盤では、島根県の伝統芸能の披露もありました。私達が予想していた以上に会員の皆様には盛り上がっていただき、大変嬉しかったです。沼田先生、美輪先生、藤島先生のどじょうすくい踊り体験では、会場が笑いに包まれました。どじょうすくい踊りに必要な小道具を用意しておくべきだったと後悔しております。この懇親会の様子は松江コンベンションビューローの情報誌に、「ユニーク・ベニユーの紹介」として掲載していただきました。

21日の9時から口頭発表が行われ、引き続き活発な議論が行われました。全ての演題終了後、ベストプレゼンテーション賞（BPA）・高校生研究発表奨励賞授賞式が行われました。今回は、西上幸範会員（北海道



沼田先生、藤島先生、三輪先生どじょうすくい踊り体験

大学）の「繊毛虫の固液界面への集合」と、松田達也会員（愛媛大学）の「緑藻と繊毛虫間の細胞内共生の進化における資源交換と外部環境からの供給を必須とする資源：3種モデル生態系を用いた実験的解析」にBPAが授与されました。また、太田垣匠氏と竹内美瑠氏（神戸高校）の「ボルボックスの教育環境における実験生物としての新たな可能性と、個体群密度が増殖速度に与える影響」に、高校生研究発表奨励賞が授与されました。午後からは、公開シンポジウム「実はこんなに魅力的！理科教育に役立つ原生生物たち」が開催されました。本シンポジウムには会員の皆様だけでなく、島根県の中高の先生方や松江市民の方、島根大学の教員や学部生・大学院生の方にも参加していただきました。若手の会会長の柴田あいか先生には、若手の会のこれまでの取り組みなどを紹介していただきました。ミクロ生物館館長の末友靖隆先生には、リアルタイムの顕微鏡像をスクリーンに映しながらご講演いただきました。これは末友先生のご講演中のお言葉ですが、まさに「命を感じながら」のご講演でした。日本原生生物学会活性化委員会委員長の園部誠司先生の



公開シンポジウム

ご講演では、大変ユニークな原生生物の細胞運動の動画をたくさんご紹介いただきました。本シンポジウムでは招待講演者として、国立遺伝学研究所の宮城島進也先生にもご講演いただきました。宮城島先生には細胞内共生と光合成生物の進化・多様化に関する最新の研究をご紹介いただき、ご研究内容は大変刺激になりました。シンポジウムが終了し、無事に全てのプログラムを終えることができました。シンポジウム終了後も会場ではディスカッションが続いていたのが印象的でした。

大会開催1週間前くらいから、夜中に突然目が覚めてあれやこれやと心配になり、眠れない日が続きました。しかし、大会終了後は多くの方からありがたいお言葉を頂戴しました。少しでも原生生物学会に恩返しすることができたのではないかと自己満足しています。これまで、幾つもの学会に参加して発表させていただきましたが、自分の発表の準備で精一杯でした。今回の経験を通して、学会運営側の苦労が初めて

分かりました。これからは感謝の気持ちを持って参加したいと思います。皆様と見た水燈路の景色は一生忘れません。ご参加いただきました皆様、松江までお越しいただきまして、本当にありがとうございました。松江大会の開催にあたり、松江コンベンションビューローの三宅様、沼田先生、細谷先生、北出先生、多くの研究者の方々からご支援いただきましたことを、改めて厚く御礼申し上げます。また、松江大会は石田研究室と児玉研究室の学生スタッフ全員の協力に支えられて無事に実施することができました。本当にありがとうございました。52回大会は北出 理大会長のもと茨城大学水戸キャンパスで開催されます。松江大会では大会運営に気を取られ、素晴らしいご講演に集中することができませんでしたので、水戸大会ではしっかり勉強させていただきます。それでは、水戸でまた会員の皆様にお目にかかれることを楽しみにしております。



第51回大会（松江） 参加者一同（東北大学、福田康弘先生ご提供）

平成 30 年度 学会賞 受賞者コメント

島野 智之 (法政大学)

「土壌環境を中心とした自由生活性の原生生物における種多様性及び生態の解明」として、名誉ある日本原生生物学会賞を頂き、大変に光栄です。ご推薦いただきました小林富美恵先生、選考委員の先生方、そして、何よりもこれまで学会で多くのことを学ばせていただいた学会員の皆様に心より感謝申し上げます。私の学位は土壌動物に関するもので、そのなかに、原生生物は全く入っていません。そこで、当時は日本原生動物学会という名称であった本学会に参加し、多くの先生方に質問をさせていただきご教示を受け、また、特に高橋忠夫先生（西九州大学）には、懇切丁寧なご指導をいただきました。故月井雄二先生（法政大学）にもスタートアップの時にはご指導を頂きました。故今井壯一先生（日本獣医生命科学大学）には、分類学の観点からも様々にご指導を頂きました。重ねて皆様には御礼を申し上げます。

当時の農林水産省の研究所において、土壌原生生物のポジションに研究員として着任してから、原生生物の勉強を最初から始めたにすぎません。しかし、そこから 20 年の時間が経ちました。最初のミッションは原生生物による生物防除（植物病原菌の防除）でした。土壌は多孔質でかつ水分が刻々に変化し、また、植物根とバクテリアが複雑に環境を変えていくという複雑な環境なので、原生生物の生態を知らなければならなかったため、環境 DNA という言葉もなく、土壌から出現する原生生物を、片っ端から同定していくような作業に明け暮れました。次第に、分子遺伝学的手法として、single cell PCR と形態情報、あるいは、土壌から直接 DNA を抽出する環境 DNA と DGGE 法（Denaturing gradient gel electrophoresis; 変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法）を用いて、土壌環境中の原生生物の生態を明らかにする方向を取り入れました。

国立大学法人宮城教育大学に赴任することをきっかけに、高橋忠夫先生から学んだ同定のための様々な繊毛虫の染色手法を足がかりに、さらに多くの手法を取り入れることで、記載分類も行うようになりました。

法政大学に赴任してからは、Global Soil Biodiversity Atlas (EU から出版, 2016) の原生生物の項目を担当したり、真核生物の分類体系の改訂 (Adl et al., 2019. Revisions to the Classification, Nomenclature, and Diversity of Eukaryotes, JEM) に 47 名の共著者のひとりとして参加したりしました。多くの先生方に執筆していただいた「アメーバのはなし-原生生物・人・感染症-」（朝倉書店）も、編者のひとりとして 2018 年に上梓できました。

誠に奇遇なことで驚いていますが、戦後まもない 1947 年に「原生動物」を出版された福井玉夫先生は、日本蜘蛛学会の創設に貢献されダニの論文がありますし、1971 年に日本人初の国際ダニ学会議の名誉会員になられた、今村泰二先生の最初の論文は原生生物です。このような、偉大な先輩方のように、私も原生生物とダニ類の両方の分野で頑張らなければならないと、強く感じております。

学会賞受賞の栄誉を励みに、今後ますます原生生物学の発展に貢献できるように、研究を進めて参りたいと思います。何卒、今後ともご協力・ご支援を宜しくお願い申し上げます。



受賞者と沼田 治会長（左）

平成 30 年度 BPA 受賞者コメント

「繊毛虫の固液界面への集合」

西上 幸範（北海道大学）

このベストプレゼンテーション賞は 2008 年のつくば大会から作られました。私が学生の頃に所属していた園部研究室は多くの優秀な学生がいて、学会発表をしている研究室の構成員でこの賞を受賞していないのは園部さんと私だけでした。したがって「園部さんと西上さんの発表はおもんない」と後輩からよく言われたものです。そのような経緯もあり、この賞を受賞できたことを本当に嬉しく思っています。

2018 年は私にとっての節目の年で 5 年間お世話になった京都大学の市川研究室から北海道大学の中垣研究室へ籍を移しました。市川研究室は物理学教室で、右も左も分からない私でしたが多くの人々に助けをもらいながら研究を進めることが出来ました。特に市川正敏先生をはじめ伊藤弘明さん（現：千葉大学）や大村拓也さん（現：マックスプランク研究所）にはとてもお世話になりました。北海道大学でもこれまでの研究を発展させ原生生物の面白さをつき詰めていきたいと思っています。

「緑藻と繊毛虫間の細胞内共生の進化における資源交換と外部環境からの供給を必須とする資源：3 種モデル生態系を用いた実験的解析」

松田 達也（愛媛大学）

この度は、素晴らしい賞をいただき大変光栄に思います。今回評価していただいた研究は、現在様々な環境で見られる細胞内共生がどのように変化または進化してきたのかを微生物で構成した合成生態系（マイクロコズム）を用いて解析したものです。特に、細菌食のテトラヒメナが緑藻と共生した結果起こった変化（大腸菌捕食の減少）を、アミノ酸とビタミンなどの資源利用の変化に着目し追究したものです。今回の学会が私の人生で初めて参加した学会でした。会員の皆様は優しい方ばかりで発表時のアドバイスは今後の研究に必要なことばかりでした。私にとって原生生物学会に参加できたことが感謝するところだと思います。今後も皆様との交流を通して得た知見を活かして精進したいと思います。ありがとうございました。



中垣俊之教授とともに



受賞者と沼田 治会長（左）

書 評



『プランクトンハンドブック 淡水編』

中山剛・山口晴代 著

出版社 : 文一総合出版
 出版日 : 2018 年 10 月 9 日
 ISBN : 978-4-8299-8154-2
 価格 : 1,800 円 (税別)
 URL : <https://www.bun-ichi.co.jp/tabid/57/pdid/978-4-8299-8154-2/Default.aspx>

矢吹 彬憲

Akinori YABUKI

海洋研究開発機構 海洋生物多様性研究分野
 〒237-0061 神奈川県横須賀市夏島町2-15

中山剛氏（筑波大学）と山口晴代氏（国立環境研究所）による淡水産プランクトンのハンドブックが文一総合出版より発刊された。淡水環境に生息する多様な微細藻や原生生物（&動物プランクトンの一部）が特定の分類群に偏ることなく網羅的に紹介されている。両名の淡水産プランクトンに関する深い造詣にはいつも感心していたし、本書に掲載されている生物の特徴を明確に伝えてくれる数々の写真はなるほど納得の素晴らしさである。各所に散りばめられたキュートでポップなイラストは、マンガ・もやしもんを彷彿させ予備知識がない人にも対象生物の魅力を伝えるのに一役かっている。深い知識に裏打ちされた生物進化や様々な形態的特徴に関する解説やコラムも本書の大きな魅力の一つであろう。「プランクトン」ハンドブックと名乗りながらも、底生性のアメーバなどについてもしっかり紹介されていることも大変ありがたい。本書1冊で普通に観察される身の回りほぼ全ての淡水産原生生物が紹介されている、と言っても過言ではないであろう。さらに、マイナーだが生物進化を議論する上では大変重要な原生生物もしっかりそれとなく紹介されていたりして、研究者の目線から見てもまさに「かゆいところに手が届いた」内容となっている。生物観察の補助としてのハンドブックの役割を超

え、原生生物の魅力、そしてその研究の奥深さをも伝える本書は、老若男女そして文系理系問わずに気軽に楽しめる良書であることは間違いない。諸姉諸兄はすぐに近くの池の水を本ハンドブックとともに顕微鏡観察してほしい。あるいは空いた時間にパラパラとただ眺めるだけでも、そこでまた淡水産原生生物の新たな魅力に気づけるだろう。これまでにも多様な原生生物を一般向けに紹介した書籍は多数出版されているが本書はその中においても屈指のクオリティを誇っており、一般の方々、特に小学生などの若い世代に原生生物そのものをより身近な存在として、そして魅力的な研究対象として再認識させてくれるだろう。新たなマスターピースの発刊とその紹介をする機会をここに得たことを素直に喜ばしく思う。



Tel: 046-867-9498; Fax: 046-867-9525
 E-mail: yabukia@jamstec.go.jp
 Received: 18 Feb 2019

学会活性化委員会からのお知らせ

委員長・末友 靖隆（岩国市ミクロ生物館）

就任のご挨拶

このたび、学会活性化委員長を拝命いたしました末友です。私が所属する岩国市ミクロ生物館は非常に小規模ですが、学会に所属される先生方をはじめ、全国の研究者の多大なご支援により、これまで着実に発展を続けることができました。次は、私が先生方に恩返しをさせていただく番です。

幸いにも、当館ではこの10年で600回を超える幼・小・中・高・大などを対象にした原生生物関連講座、年間約300件にも及ぶ原生生物分譲サービス、各種教材の開発など、学校教育の現場での原生生物の活用法に関するノウハウの蓄積がございます。これらは全て、準会員制度の整備にそのまま応用できるものばかりです。準会員制度の普及が学会の活性化にいかにより有用であるかは前委員長の園部先生が「原生生物 第1巻 第1号」で述べられた通りですが、小・中・高等学校教員の先生方との連携が重要であることは、当館でのこれまでの活動を通じた経験からも、その通りであると実感しております。学校教員の先生方の加入により、教育現場における原生

生物学分野の研究や、若手研究者の育成が促進されることが期待されます。

また、原生生物は「魅せる」教材としてもこの上なく有用です。ただの水滴にしか見えないものを顕微鏡で覗いてみると、眼前に突然、まるで水族館の大水槽のような光景が広がります。その驚きと感動は、まだ文字すら習っていない未就学児の目を輝かせ、理科嫌いな少年少女を研究大好き少年少女に変えてしまうほどの力を持っています。原生生物との運命の出会いを機に、その魅力に気付く子供が1人、また1人と増えていく。この積み重ねが、原生生物学をはじめとする基礎研究の重要性を社会に認知させることにも繋がる、私自身も感じている次第です。

まずは準会員制度の充実と周知を皮切りに前委員会の功績を受け継ぎ、委員の先生方や会員の皆様と力を合わせて学会の活性化のために専心努力する所存です。今後も一層のご指導ご鞭撻を賜りたく衷心よりお願い申し上げます。



原生生物に魅せられ、楽しく講義を受ける少年少女たち

学会等開催情報

◆国際会議

会議名 : International Toxoplasma Congress (TOXO XV)
期 日 : 2019年6月19日(水)～6月22日(土)
開催場所 : Quindio, Colombia
連絡先等 : 大会のHPはこちら (http://www.revistainfectio.org/toxo_XV/toxo_xv.html)

会議名 : The 8th European Congress of Protistology (VIII ECOP)
期 日 : 2019年7月28日(日)～8月2日(金)
開催場所 : Roma, Italy
連絡先等 : 大会のHPはこちら (<http://www.ecop2019.org/>)
(演題受付は2019年4月15日(月)まで)

会議名 : The 14th International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis (第14回国際細胞共生学会)
期 日 : 2019年9月1日(日)～9月5日(木)
開催場所 : Lille (リール大学), France
連絡先等 : 大会のHPはこちら (<http://ices-2019.univ-lille.fr/presentation-symposium-and-where-it-takes-place>)
(早期受付は2019年5月30日(木)まで)

会議名 : 30th Molecular Parasitology Meeting
期 日 : 2019年9月15日(日)～9月19日(木)
開催場所 : Woods Hole, USA
連絡先等 : 大会のHPはこちら (https://mbi-web.ungerboeck.com/wri/wri_p1_display.aspx?oc=10&cc=MPMHOME)

会議名 : American Society of Tropical Medicine and Hygiene, 68th annual Meeting
期 日 : 2019年11月20日(水)～11月24日(日)
開催場所 : Maryland, USA
連絡先等 : 大会のHPはこちら (<https://www.astmh.org/annual-meeting>)

学会員による著作物

「生老死の進化」 高木 由臣 (著)

京都大学学術出版会 ISBN 978-4814001811
2018年発行, 全 328 ページ, 価格 1,800 円 (税別)

「アメーバのはなし ―原生生物・人・感染症―」 永宗喜三郎・島野智之・矢吹彬憲 (編)

朝倉書店 ISBN 978-4-254-17168-6
2018年発行, 全 152 ページ, 価格 2,800 円 (税別)

「ノーベル賞に二度も輝いた不思議な生物 テトラヒメナの魅力」 沼田 治 (著)

慶応義塾大学出版会 ISBN 978-4-7664-2538-3
2018年発行, 全 128 ページ, 価格 1,800 円 (税別)

若手の会 通信

会長就任挨拶

矢崎 裕規 (東京大学)

新たに若手の会の代表を務めさせていただくことになりました, 東京大学医学部・大学院医学系研究科の矢崎裕規と申します. 2019 年度の若手の会は副会長に嶺井隆平さん (長浜バイオ大学), 会計に内之宮光紀さん (電力中央研究所), 庶務に塚越亮允さん (鳥取大学) を迎え役員総勢で 21 名となりました.

私の研究における興味は真核生物の大系統や初期進化の解明であり, 真核生物の多様性を支える原生生物こそが, これら多くの問題を解決できると信じ, 系統未知な新奇原生生物の探索や大規模配列データを用いた解析などに従事しています. 懸命に研究活動に勤しむ中で, 最近思うことがあります. 以前より真核生物研究における研究対象の中心はどうしても, 動物や陸上植物などの多細胞生物にあるように思えます. 実際に, 原生生物学会ではない他学会の会合に参加すると, 原生生物を扱う研究発表は下手をすると私ただ一人になることがあります. 私は原生生物こそが真核生物の様々な課題を解き明かすことができると信じていますので, 様々な学会で原生生物研究の存在感を高めていかなくてはならないと強く感じました. とはいえ, いきなり大それたことはできませんので, まずは若手の会でできる範囲から少しずつ着実に原生生物学を盛り上げていこうと思います. その第一弾として, 毎月 1 回関東圏の原生生物研究者や大学院生を含む若手研究者が活発に議論する原生生物・寄生虫・進化セミナーの開催運営を始めました (<https://kantoprotist.wixsite.com/tgef-protist>). 学会 ML でも案内させていただいていますが, 関東圏外の皆様におかれましてもご都合が合えば奮ってご参加下さい. また, 関西あるいは別の地域の原生生物研究コミュニティとのジョイントミーティングを行う機会も探っていきたいと考えています.

このように若手の会は少しずつではありますが, 原生生物学興盛のために活動しております. しかし, 若手の会, 若手研究者だけでは限界があります. 原生生物学会の中核を担う凄腕研究者の皆様, ぜひともお力添えください. なにとぞ, よろしくお願い申し上げます. 原生生物学会, 一丸となって頑張っていきたいです.

2018 年若手の会夏の合宿 活動報告

小林 真弓 (中央水産研究所)

毎年恒例となりつつある若手の会・夏の合宿を, 2018 年は滋賀県立琵琶湖博物館において開催した. 8 月 18~19 日にかけて 1 泊 2 日の日程で, ワークショップ, 研究発表, エクスカーションを実施した. 参加者



サンプリング方法のレクチャー (琵琶湖湖畔)

を本学会員だけに限らず原生生物を研究材料にしている人興味のある人を対象に広く募集したところ, 若手研究者 4 名, 大学院生 8 名, 学部生 3 名, 社会人 1 名, 計 16 名が集まった.

ワークショップは 2 日間かけて鈴木隆仁 学芸員を講師に迎え実施した. 琵琶湖から採集した生物のなかから各自で好きな生物を選び, 標本を作った. 時間が限られていたため簡易的な方法ではあったが, 標本作りの基礎を学ぶことができた. 研究発表は, 1 日目の夜に宿泊施設 (滋賀県青年会館アープしが) において実施した. 発表時間を 12 分, 質疑応答を 8 分と長めにとり, じっくりと議論できるようにした. 発表者は, 小林弘佳さん (日本女子大 M2, ヒメミカヅキモにおける性フェロモンによる生殖隔離と生殖干渉), 佐々木愛澄さん (奈良女子大 M2, 絨毛虫ブレファリズマにおける凍結保存法の確立), 嶺井隆平さん (長浜バイオ大 D1, 網羅解析を用いたクロレラ-ミドリゾウリムシ共生系の研究) の 3 名だった. 研究に関する議論や情報交換は深夜にまで及んだ. 希望者のみを対象としたエクスカーションでは, 収蔵庫見学を実施した. 動物や植物の標本だけでなく, 民族学などの貴重な資料を学芸



琵琶湖でサンプリングした生物の観察
(琵琶湖博物館の実習室)

員の解説付きで見学した。さらに、新種記載登録に用いられた原生生物のタイプ標本やパラタイプが保管されている様子も見ることができた。珍しいものを見ることができたという嬉しさだけでなく、標本管理の難しさについて学ぶ良い機会となった。

この合宿を通して若手との交流や知識を深めるだけでなく、それがきっかけで年次大会に参加するようになった人もおり、若手の会としては大変喜ばしい成果をあげることができた。今後も若手の会ではこのような原生生物を研究する若手が交流できる場を設けていきたい。そして、そこでの交流や人脈をもとに積極的に楽しんで研究活動を続けていきたいと考えている。

最後に、本合宿開催にあたり、ご尽力くださった滋賀県立琵琶湖博物館の鈴木隆仁 学芸員、楠岡 泰 博士に心から感謝申し上げます。この合宿は、本学会からの助成金及び本学会員の寄付金により実施されました。本学会員の皆様にも御礼申し上げます。

原生生物学会松江大会 若手の会 活動報告

柴田 あいか (立命館大学)

昨年の松江大会では1日目(10月19日)に若手の会企画にお時間をいただき、「若手研究交流会」「若手の会主催 浅井先生特別講演」を行いました。今回初めての試みとして、「若手研究交流会」を開催しました。これはお互いの研究を知って話をするを目的

に、研究を始めたばかりの学部生から先生方まで若手を中心として全員が一人前の研究者としてディスカッションをする場を設ける企画です。少人数でのグループディスカッションを行っていただき、自分の今おこなっている研究や所属している研究室を紹介していただきました。なかなか聞きにくい基礎的な質問をしたり、若手の会であったらうれしい企画を提案しあったりと和やかですが有意義な時間になったと思います。

また、「若手の会主催 浅井先生特別講演」では研究者としての心構えや姿勢について、お話いただきました。浅井先生の熱いお話に、今後自分たちがどのような研究をしていくべきかを考える良い機会となりました。「若手の研究者たちに伝えたいことがある」と今回の企画を提案いただいた浅井 博先生に深く感謝いたします。今回の企画を通じて、若手の会が若手同士だけでなく、若手と先輩研究者など人をつなげる場になっていけばいいなと感じました。

さらに、3日目(10月21日)の活性化委員会関連公開シンポジウムでは原生生物若手の会の紹介のための時間をいただき、原生生物若手の会のこれまでの活動について2017年度と2018年度の活動を中心に紹介させていただきました。原生生物観察会ブースも会場入口に設け、原生生物の実物や動画を展示し若手の会で作成している「原生生物採集・培養ガイドブック」も配布を行いました。

日本原生生物学会若手の会では、皆様のご意見を募集しています。ご意見、ご要望をお寄せ下さい。

また、若手の会役員も随時募集しています。興味のある方は(young.protistologists.jsp@gmail.com)までご連絡ください。

若手の会ホームページ <https://sites.google.com/site/youngprotistologists/>

2019年度 若手の会役員

会長	役員	
矢崎 裕規 (東京大学)	池田 理佐 (岡山大学)	西上 幸範 (北海道大学)
副会長	井坂 友紀 (奈良女子大学)	矢吹 彬憲 (海洋研究開発機構)
嶺井 隆平 (長浜バイオ大学)	大北 千紗 (奈良女子大学)	山根 菜摘 (奈良女子大学)
庶務	唐澤 宗宏 (神戸大学)	
塚越 亮允 (鳥取大学)	小森 美沙希 (奈良女子大学)	
会計	佐々木 愛澄 (奈良女子大学)	
内之宮 光紀 (電力中央研究所)	柴田 あいか (立命館大学)	
ホームページ	白鳥 峻志 (海洋研究開発機構)	
桐間 惇也 (あすたむらんど徳島)	末友 靖隆 (岩国市ミクロ生物館)	
柴田 実咲 (奈良女子大学)	谷口 篤史 (基礎生物学研究所)	
梁瀬 隆二 (筑波大学)	中村 憲章 (福井県立大学)	

平成 30 年度評議員会

日 時：2018 年 10 月 19 日（金）15:00 ～ 17:00
 会 場：〒690-8504 松江市西川津町 1060
 島根大学生物資源科学部 1 号館 11 階セミナー
 室 3
 出席者：沼田 治，岩本 政明，北出 理，児玉 有紀，
 園部 誠司，道羅 英夫，永宗 喜三郎，春本
 晃江，福田 康弘，細谷 浩史
 欠席者：遠藤 浩，小林 富美恵，西山 学即，廣野 雅
 文，松岡 達臣，八木田 健司
 オブザーバー：次期評議員
 議 題：総会提出議題等の検討

平成 30 年度総会

日 時：2018 年 10 月 20 日（土）15:00 ～ 16:00
 会 場：〒690-8504 松江市西川津町 1060
 島根大学松江キャンパス大学ホール

議事

I 報告事項

1 庶務関係

細谷 浩史・北出 理 庶務担当より，以下の報告が
 あった．

イ．会長・評議員選挙とその結果について，春本晃江
 新会長と 16 名の評議員（有川 幹彦，安藤 元紀，石田
 正樹，児玉 有紀，小林 富美恵，島野 智之，末友 靖
 隆，杉浦 真由美，洲崎 敏伸，道羅 英夫，永宗 喜三
 郎，西上 幸範，沼田 治，堀 学，八木田 健司，矢吹
 彬憲）が選出されたこと，また今回から電子選挙が導
 入されたことが報告された．

ロ．日本学術会議への協力学術研究団体登録申請の状
 況，月井 雄二記念国際交流基金の設立，学会賞等選考
 委員長の会長への委嘱および，松江大会についての報
 告があった．

ハ．会員の異動（平成 30 年 10 月 16 日現在）

		(昨年報告数)
賛助会員	1 団体	(1 団体)
名誉会員	7 名	(7 名)
終身会員	11 名	(5 名)
一般会員	107 名	(113 名)
学生通常会員	31 名	(36 名)
学生 1 年会員	8 名	(11 名)
合計	165 名	(173 名)
		新入会 19 名，退会 27 名

ニ．永年会費（永年会員）制の適用を原則 65 歳以上の
 会員とする，メール評議員会での決定が報告された．

ホ．永年会員制度，会員逝去の場合の対応，評議員と
 その選出方法，ベストプレゼンテーション賞の授与に
 関して会則内規の改定が承認されたことが報告され
 た．

2 編集関係

廣野 雅文 編集長より，以下の報告があった．

イ．Journal of Protistology の平成 30 年の投稿論文数と審
 査状況，投稿規定の作成について．

ロ．「原生生物」誌の平成 30 年の発行状況と投稿規定
 の作成について．

ハ．J-Stage における閲覧状況について．

ニ．編集に関する内規の変更が報告された．発行する
 雑誌名と発行の形態の修正，編集委員の任期の設定，
 Editorial Board の創設と選任手続き，学会 HP 編集業務
 の記載を中心とする改訂である．

3 その他

イ．沼田 治 会長より，学会賞に島野 智之 会員「土
 壌環境を中心とした自由生活性原生生物の種多様性及
 び生態の解明」が選ばれた事が報告された．

ロ．島野 智之 生物多様性会議委員より，日本分類学
 会連合第 17 回総会報告があった．

ハ. 園部 誠司 活性化委員会委員長より、活性化委員会報告があった。内容は松江大会での活性化委員会・若手の会共催シンポジウムについて、準会員のサポート体制に関するアンケート結果についてである。

ニ. 春本 晃江 国際委員より、2018年7月13～15日に開催された韓国とのジョイントミーティングと次の合同ミーティング、ACOPの状況、今後の国際学会(ICOP, ECOP)の開催予定、国際委員の今後の課題について報告があった。

ホ. 柴田 あいか 若手の会会長より、若手の会の平成30年度活動報告と会計報告があった。

II 審議事項

1 会計関係

イ. 平成29年度会計決算報告および会計監査報告

永宗 喜三郎 会計担当より報告がなされた後、菅井俊郎、楠岡 泰 両監事による監査報告があり、承認された。

ロ. 平成30年度中間報告

永宗 喜三郎 会計担当より平成30年度の中間報告がなされ、承認された。

ハ. 平成31年度予算案について

永宗 喜三郎 会計担当より次年度の予算案について報告がなされ、原案通り承認された。

2 庶務関係

イ. 細谷 浩史・北出 理 庶務担当より、会則第4条の改訂が提案され、承認された。永年会費制および準会員の記載の追加と、冊子体学会誌送付の廃止および非会員の投稿条件の変更にともなう文言の削除である。

3 その他

イ. 春本 晃江 国際委員より説明があり、国際委員の業務内容が確認され、承認された。また次々期年大会は、韓国の原生生物学会との合同企画を含めたものとして神戸で行い、法政大学(東京)での大会を2021年に延期することが承認された。

平成29年度 日本原生生物学会一般会計決算報告

1. 収入の部

科 目	予算額	決算額
前年度繰越金	2,530,533	2,753,925
学会費 (*1)	842,500	993,000
賛助会費	0	0
寄付	0	41,195
雑収入 (*2)	10,000	0
利息	226	23
計	3,388,259	3,788,143

*1: 学会費納入率 103.7%

*2: 沼田会長より(筑波大学補助費残金)

2. 支出の部

科 目	予算額	決算額
学会誌印刷代(含郵送費 *1)	250,000	127,193
編集諸経費・謝金 (*2)	500,000	9,699
NL印刷代・諸経費	10,000	2,256
庶務諸経費・謝金	50,000	28,186
会計諸経費・謝金	10,000	1,188
大会補助費	200,000	200,000
奨励賞副賞費	40,000	0
若手の会助成金	50,000	50,000
日本分類学会連合分担金	10,000	10,000
日本分類学会連合等会議費旅費	10,000	0
通信費	15,000	0
振替手数料	3,000	864
小 計	1,148,000	429,386
次年度繰越金	2,240,461	3,367,278
計	3,388,461	3,796,664

*1: H28年度発刊分

*2: アーカイブ pdf化費用 500,000円分はH30年度へ繰越

平成 29 年度 日本原生生物学会特別会計（国際交流基金）決算報告

1. 収入の部

科 目	予算額	決算額
前年度繰越金	952,687	952,687
利息	114	8
計	952,801	952,695

2. 支出の部

科 目	予算額	決算額
国際学会参加援助金	450,000	0
振込手数料	0	0
支出総計	450,000	0
次年度繰越金	502,801	952,695
計	952,801	952,695

平成 29 年度 日本原生生物学会特別会計（学会基金）決算報告

1. 収入の部

科 目	予算額	決算額
前年度繰越金（定期預金）	1,034,123	1,034,123
利息	124	10
計	1,034,247	1,034,133

2. 支出の部

科 目	予算額	決算額
	0	0
次年度繰越金	1,034,247	1,034,133
計	1,034,247	1,034,133

平成 31 年度 日本原生生物学会一般会計予算案

1. 収入の部

科 目	予算額
前年度繰越金	2,867,278
学会費	803,000
雑収入	10,000
利息	26
計	3,680,304

2. 支出の部

科 目	予算額
学会誌印刷代（含郵送費）	50,000
編集諸経費・謝金	10,000
学会活性化委員会経費	200,000
庶務諸経費・謝金	50,000
会計諸経費・謝金	10,000
大会補助費	200,000
奨励賞副賞費	40,000
若手の会助成金	50,000
日本分類学会連合分担金	10,000
日本分類学会連合会議旅費（2 名分）	10,000
通信費（サーバー利用料）	15,000
振替手数料	3,000
支出総計	648,000
次年度繰越金	2,032,304
計	3,680,304

平成 31 年度 日本原生生物学会特別会計（国際交流基金）予算案

1. 収入の部

科 目	予算額
国際交流基金・前年度繰越金	452,702
利息	7
計	452,709

2. 支出の部

科 目	予算額
国際学会参加援助金	450,000
次年度繰越金	2,709
計	452,709

平成 31 年度 日本原生生物学会特別会計（基金）予算案

1. 収入の部

科 目	予算額
前年度繰越金	1,034,143
利息	10
計	1,034,153

2. 支出の部

科 目	予算額
	0
支出総計	0
次年度繰越金	1,034,153
計	1,034,153

2001 年	長澤 秀行（帯広畜産大学） トキソプラズマ感染に対する宿主免疫シス テム
2002 年	春本 晃江（奈良女子大学） 繊毛虫における細胞間相互作用
2003 年	洲崎 敏伸（神戸大学） ユーグレナの細胞体変形運動
2004 年	（受賞者なし）
2005 年	（受賞者なし）
2006 年	（受賞者なし）
2007 年	（受賞者なし）
2008 年	（受賞者なし）
2009 年	（受賞者なし）
2010 年	岩本 政明（情報通信研究機構） テトラヒメナの大核と小核の核膜孔複合体 タンパク質の研究
2011 年	（受賞者なし）
2012 年	（受賞者なし）
2013 年	（受賞者なし）
2014 年	月井 雄二（法政大学） 接合型の遺伝解析に基づくゾウリムシの種 分化過程に関する研究
2015 年	園部 誠司（兵庫県立大学） 原生生物における運動の分子機構に関する 研究
2016 年	小林 富美恵（杏林大学） マラリア原虫感染に対する宿主免疫機構
2017 年	児玉 有紀（島根大学） ミドリゾウリムシを用いた二次共生の成立 機構の研究
2018 年	島野 智之（法政大学） 土壌環境を中心とした自由生活性の原生生 物における種多様性及び生態の解明

その他

学会賞受賞者名一覧等

日本原生生物学会賞受賞者名

1991 年	沼田 治（筑波大学） テトラヒメナの多機能タンパク質の研究
1992 年	田邊 和裕（大阪工業大学） マラリア原虫の寄生に関する分子生物学的 研究
1993 年	彼谷 邦光（国立環境研究所） 環境適応における脂質分子の役割
1994 年	今井 壯一（日本獣医畜産大学） ルーメン内繊毛虫の分類学的研究
1995 年	見上 一幸（宮城教育大学） ゾウリムシの二核性と核分化の研究
1996 年	藤島 政博（山口大学） ゾウリムシとホロスポラの共生における宿 主－共生生物間相互作用
1997 年	（受賞者なし）
1998 年	芳賀 信幸（石巻専修大学） イマチユリン：未熟期の分子機構
1999 年	廣野 雅文（東京大学） クラミドモナスの非保存的アクチン
2000 年	松岡 達臣（高知大学） 繊毛虫ブレファリスマのキノン光センサー と光シグナリング

日本原生生物学会教育賞受賞者名

2016 年	楠岡 泰（琵琶湖博物館） 微小生物の魅力を伝える琵琶湖博物館
2017 年	（受賞者なし）
2018 年	（受賞者なし）

日本原生生物学会奨励賞受賞者名

2004 年	杉浦 真由美（奈良女子大学） 繊毛虫ブレファリスマにおける接合誘導物 質の分子生物学的研究
2005 年	有川 幹彦（奈良女子大学） 太陽虫の細胞質および核における Ca^{2+} 依存 性収縮系の解析
2006 年	（受賞者なし）
2007 年	西原 絵里（東京医科歯科大学）

2008 年	<i>Amoeba proteus</i> の収縮胞における水集積機構の研究
	児玉 有紀 (筑波大学)
	ミドリゾウリムシと共生クロレラの細胞内共生成立機構の研究
2009 年	Kim Thi Phuong Oanh (Vietnam Academy of Science and Technology)
	Stop codon reassignment in ciliates: evidence for different modes of stop codon recognition by ciliate eRF1s
2010 年	福田 康弘 (東北大学)
	Nuclear proteins and chromosome structures of the ancestral dinoflagellate <i>Oxyrrhis marina</i>
2011 年	保科 亮 (立命館大学)
	ミドリゾウリムシ共生藻の分類学的研究
2012 年	明松 隆彦 (ヨーク大学)
	繊毛虫テトラヒメナのプログラム核死
2013 年	(受賞者なし)
	(受賞者なし)
2014 年	西上 幸範 (京都大学)
	試験管内再構築系を用いたアメーバ運動における細胞質ゾルーゲル変換機構に関する研究
2015 年	(受賞者なし)
	(受賞者なし)
2016 年	末友 靖隆 (岩国市ミクロ生物館)
	原生生物の認知度向上と教育分野への利活用
2017 年	矢吹 彬憲 (海洋開発研究機構)
	新規系統の発見と理解から読み解く真核生物の多様性と進化プロセス
2018 年	(受賞者なし)
	(受賞者なし)

第 20 回	東京都	昭和 61 年	小山 力
第 21 回	山口市	昭和 62 年	星出 一巳
第 22 回	つくば市	昭和 63 年	渡辺 良雄
第 8 回	国際原生動物学会		
	つくば市	平成元年	樋渡 宏一
第 23 回	長崎市	平成 2 年	神原 廣二
第 24 回	伊勢原市	平成 3 年	金田 良雅
第 25 回	奈良市	平成 4 年	菅沼 美子
第 26 回	石巻市	平成 5 年	樋渡 宏一
第 27 回	帯広市	平成 6 年	鈴木 直義
第 28 回	小金井市	平成 7 年	鶴原 喬
第 29 回	東広島市	平成 8 年	細谷 浩史
第 30 回	水戸市	平成 9 年	三輪 五十二
第 31 回	岐阜市	平成 10 年	野澤 義則
第 32 回	仙台市	平成 11 年	渡辺 彊
第 33 回	金沢市	平成 12 年	遠藤 浩
第 34 回	神戸市	平成 13 年	洲崎 敏伸
第 35 回	高知市	平成 14 年	松岡 達臣
第 36 回	東京都	平成 15 年	今井 壯一
第 37 回	山口市	平成 16 年	藤島 政博
第 38 回	帯広市	平成 17 年	長澤 秀行
第 39 回	神崎市	平成 18 年	高橋 忠夫
第 40 回	富山市	平成 19 年	野口 宗憲
第 41 回	つくば市	平成 20 年	沼田 治
第 42 回	石巻市	平成 21 年	芳賀 信幸
第 43 回	水戸市	平成 22 年	三輪 五十二
第 44 回	奈良市	平成 23 年	春本 晃江
第 45 回	姫路市	平成 24 年	園部 誠司
第 46 回	東広島市	平成 25 年	細谷 浩史
第 47 回	仙台市	平成 26 年	見上 一幸
第 48 回	東京都	平成 27 年	八木田 健司
第 49 回	岡山市	平成 28 年	安藤 元紀
第 50 回	つくば市	平成 29 年	沼田 治
第 51 回	松江市	平成 30 年	児玉 有紀

これまでの大会開催地及び大会長

	開催地	開催年度	大会長
第 1 回	小平市	昭和 42 年	藤田 潯吉
第 2 回	吹田市	昭和 43 年	猪木 正三
第 3 回	広島市	昭和 44 年	尾崎 佳正
第 4 回	東京都	昭和 45 年	松林 久吉
第 5 回	徳島市	昭和 46 年	尾崎 文雄
第 6 回	仙台市	昭和 47 年	樋渡 宏一
第 7 回	奈良市	昭和 48 年	稲葉 文枝
第 8 回	東京都	昭和 49 年	石井 圭一
第 9 回	大阪市	昭和 50 年	高田 季久
第 10 回	東京都	昭和 51 年	盛下 勇
第 11 回	岐阜市	昭和 52 年	野澤 義則
第 12 回	横浜市	昭和 53 年	斎藤 実
第 13 回	吹田市	昭和 54 年	中林 敏夫
第 14 回	つくば市	昭和 55 年	渡辺 良雄
第 15 回	広島市	昭和 56 年	重中 義信
第 16 回	東京都	昭和 57 年	石井 俊雄
第 17 回	津 市	昭和 58 年	安達 六郎
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

会長・副会長・各種委員・評議員一覧

(平成 31 年 4 月 12 日 現在)

会 長：春本 晃江

副 会 長：洲崎 敏伸

庶 務：洲崎 敏伸

庶務補佐：杉浦 真由美

会 計：有川 幹彦

編 集：

委員長：洲崎 敏伸

英文誌編集長：廣野 雅文

英文誌担当：有川 幹彦, 岩本 政明

和文誌編集長：道羅 英夫

和文誌担当：矢吹 彬憲

HP 担当：西上 幸範，梁瀬 隆二
杉浦 真由美，春本 晃江

生物多様性会議委員：
島野 智之

監事：
芳賀 信幸，細谷 浩史

特命委員：
沼田 治，細谷 浩史

学会賞等選考委員：
春本 晃江（委員長），園部 誠司，小林 富美恵

評議員：
有川 幹彦，安藤 元紀，石田 正樹，児玉 有紀，
小林 富美恵，島野 智之，末友 靖隆，
杉浦 真由美，洲崎 敏伸，道羅 英夫，
永宗 喜三郎，西上 幸範，沼田 治，堀 学，
八木田 健司，矢吹 彬憲

国際委員：
春本 晃江（会長），洲崎 敏伸，永宗 喜三郎

学会活性化委員会委員：
末友 靖隆（委員長），園部 誠司，堀 学，
児玉 有紀，有川 幹彦，洲崎 敏伸（庶務）

事務局からのお知らせ

庶務 洲崎 敏伸（神戸大学）・庶務補佐 杉浦 真由美（奈良女子大学）

2019年7月28日～8月2日に、第8回ヨーロッパ原生生物学会議（VIII European Congress of Protistology (ECOP) – ISOP Joint meeting）がローマ市（イタリア）で開催されます（<http://www.ecop2019.org/>）。そこで、日本原生生物学会の若手会員を対象として、この学会に参加して優れた研究内容の発表を行う方への助成金（旅費と宿泊費の補助として各15万円）を交付することになりました。2月28日の締め切りまでに8名からの応募があり、a) これまでの研究業績 b) 発表予定の研究の重要性・新規性・独創性 c) これまでの本学会で

の活躍度（本学会での研究発表・本学会機関紙への論文発表）d) 若手の会などでの本学会への貢献度、を考慮し選考を行った結果、5名の若手会員（仲村康秀氏，西上幸範氏，矢崎裕規氏，梁瀬隆二氏，千原あかね氏：順不同）を採択予定者として決定し、3月10日付で発表しました。なお、本助成金は、昨年設立された月井雄二記念国際交流基金より支出されます。これは、故月井雄二先生のご遺族から、ご遺産の一部を当学会の若手会員の国際学会参加の援助に使用することを目的としてご寄付いただいたものです。

会費等振り込み先

郵便振替口座

郵便振替口座番号：01300-6-103583

加入者名：日本原生生物学会

銀行振り込み口座

ゆうちょ銀行（金融機関コード：9900）

店番：139 カナ店名：イチサンキュウテン（139店）

当座貯金 口座番号：0103583

受取人カナ氏名：ニホンケ`ンセイセイフ`ツカ`ツカイ

原生生物（GENSEI-SEIBUTSU） 第2巻 第1号

平成31年5月15日 発行

編集兼発行者：日本原生生物学会

発行所：日本原生生物学会

事務局：庶務担当 洲崎 敏伸，杉浦 真由美

E-mail: gajsp@protistology.jp

編集局：〒422-8021 静岡県静岡市駿河区大谷 836

静岡大学 グリーン科学技術研究所 遺伝子実験棟内

「原生生物」編集長：道羅 英夫

Tel/Fax: 054-238-6354

E-mail: dora.hideo@shizuoka.ac.jp
