

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：14501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26550082

研究課題名（和文）原生動物ハリタイヨウチュウによる水質モニタリング法の生物学的基盤

研究課題名（英文）Biological basis of water quality monitoring method by protozoa

研究代表者

吉村 知里（Yoshimura, Chisato）

神戸大学・環境保全推進センター・助教

研究者番号：60362761

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：原生動物のハリタイヨウチュウは重金属などの環境汚染物質に対してきわめて鋭敏な反応（軸足の短縮反応）を示す。よって、この生物を用いた水質のモニタリングが可能である。しかし、なぜこの生物が環境汚染物質に鋭敏に反応するのかに関する生物学的な基礎研究はされていない。そこで、さまざまな化学物質に対するハリタイヨウチュウの反応を調べ、細胞外からの化学物質刺激による軸足短縮の機構を解析した。

研究成果の概要（英文）：Raphidiophrys contractilis show a very sensitive reaction to environmental pollutants such as heavy metals. Therefore, it is possible monitoring of water quality with this organism. However, there is no biological basic research on why this organism responds sensitively to environmental pollutants. Therefore, we examined the reaction of a Raphidiophrys contractilis and various chemicals. Then, we analyzed the response mechanism of organisms by extracellular chemical stimulation.

研究分野：環境情報

キーワード：原生動物 水質モニタリング

1. 研究開始当初の背景

(1) 水環境汚染を早い段階で検出してそれを未然に防止することは重要かつ必要であるが、通常の化学分析法は検出に時間がかかり、早期の段階での水質汚染を検出することは難しい。そこで、生物材料を用いた水質モニタリングの試みが、これまでもいくつかなされている。しかし、これらの方法には、いくつかの問題点や難点がある。生物の反応を検知するのに時間がかかる、大型の水槽と装置が必要である、検知感度が低い、維持管理に費用と手間がかかる、

水質汚染をより早い段階で検出するためには、上記のような問題点を克服する高性能(高感度・高速)の生物モニタリングシステムの開発が求められる。

(2) 原生生物は一般的に水中の有害物質に対する感度が極めて高い。私たちの研究グループは、原生生物の中でもハリタイヨウチュウの反応性が高いことを見出し(Khan, S.M.M.K. et al., Environ. Sci., 13: 193-200. (2006))この生物が水環境のモニタリングに有用であるとして特許を取得した(洲崎ら, 特許 5017647 号. (2012))。しかし、このような毒性発現の生物学的メカニズムについてはまったくわかっていない。そこで本研究課題では、水中のさまざまな有害物質がハリタイヨウチュウに引き起こす影響を細胞生物学的に解明する。

2. 研究の目的

原生生物の一種であるハリタイヨウチュウは重金属などの水質環境汚染物質に対してきわめて鋭敏な反応(軸足の短縮反応)を示すので、この生物を用いた水質のモニタリングが可能である。しかし、なぜこの生物が水質環境汚染物質に鋭敏に反応するのか、ということに関する生物学的な基礎研究はまったく行われていない。そこで、(1) さまざまな化学物質に対するハリタイヨウチュウの反応を網羅的に調べ、(2) 細胞外からの化学物質刺激による軸足短縮の機構を解析し、(3) この反応の生物学的意味について考察する。これにより、この生物を用いた水質検査法の妥当性と適用限界を知ることが本研究の目的とした。

3. 研究の方法

(1) 上水の水質基準のうち「健康に関する項目」に属する化学物質などの 30 項目について、ハリタイヨウチュウの反応特性を明らかにした。ハリタイヨウチュウは重金属類と一部の有機化合物に反応することがわかってきたが、詳細な反応性は水銀、ヒ素以外については不明であった。従って、既に調べた水銀とヒ素も含み 30 項目について、顕微鏡を用いて網羅的にハリタイヨウチュウの反応性を試験した。暴露時間は 20 分とし、10 個体の軸足の長さを測りその平均と標準偏

差を求めた。

(2) 細胞外からの化学物質刺激による軸足短縮の機構を解析するためにハリタイヨウチュウの細胞に水銀イオンを暴露させた。その様子を動画撮影し、ハリタイヨウチュウの軸足の変化を観察した。

(3) 軸足短縮の機構反応の生物学的意味について細胞外溶液に条件をつけて試作のモニタリング装置をもちいて実験した。ハリタイヨウチュウの軸足の伸縮にはカルシウムイオンが関わる。よって、カルシウムイオンと水銀イオンが含まれる場合と水銀イオンは含まれるが、カルシウムイオンがない場合の試料を比較実験した。また、軸足の伸縮を阻害するガドリニウムイオンと水銀イオンおよびカルシウムイオンを含有した試料にも暴露させた。

4. 研究成果

(1) 上水の水質基準の内、30 物質項目の 23 物質について物質の濃度に応じた軸足の短縮が観察された。他の 7 物質については軸足の短縮が見られなかった。これによりハリタイヨウチュウを用いた水質モニタリング法の性能に関する適用範囲を見極めることが可能となった。結果の一部を図 1 に記す。水銀は 1×10^{-5} M の低濃度で軸足の短縮が測定された。水銀イオンに対する感度は鋭敏なことを示すことがわかった。シアンに関しては 1×10^{-5} M の低濃度で若干の短縮は測定されたが、 1×10^{-3} M の濃度から有意差を示した。その他重金属では鉛、六価クロム、セレン、砒素、カドミウム、亜鉛が 1×10^{-5} M から 1×10^{-4} M の濃度で有意な短縮を示した。また、ジクロロ酢酸は 1×10^{-4} M の濃度から軸足の短縮が顕著に現れた。四塩化炭素は 5×10^{-4} M の濃度で有意な短縮を示したが 1×10^{-3} M の濃度で短縮は 5×10^{-4} M ほど見られなかった。しかし、濃度が濃くなるにつれて軸足は短くなっていった。その他の物質ではプロモジクロロメタン、ジクロロメタン、テトラクロロエチレン、トリクロロエチレン、ジクロロエチレン、クロロ酢酸、ホルムアルデヒド、プロモホルム、トリクロロ酢酸、ベンゼン、ふっ素、臭素、ほう素が高濃度で軸足の短縮が示された。軸足の短縮が見られなかった物質は、クロロホルム、ジオキサン、塩素酸、亜硝酸窒素、硝酸態窒素、ジプロモクロロメタン、マンガンであった。

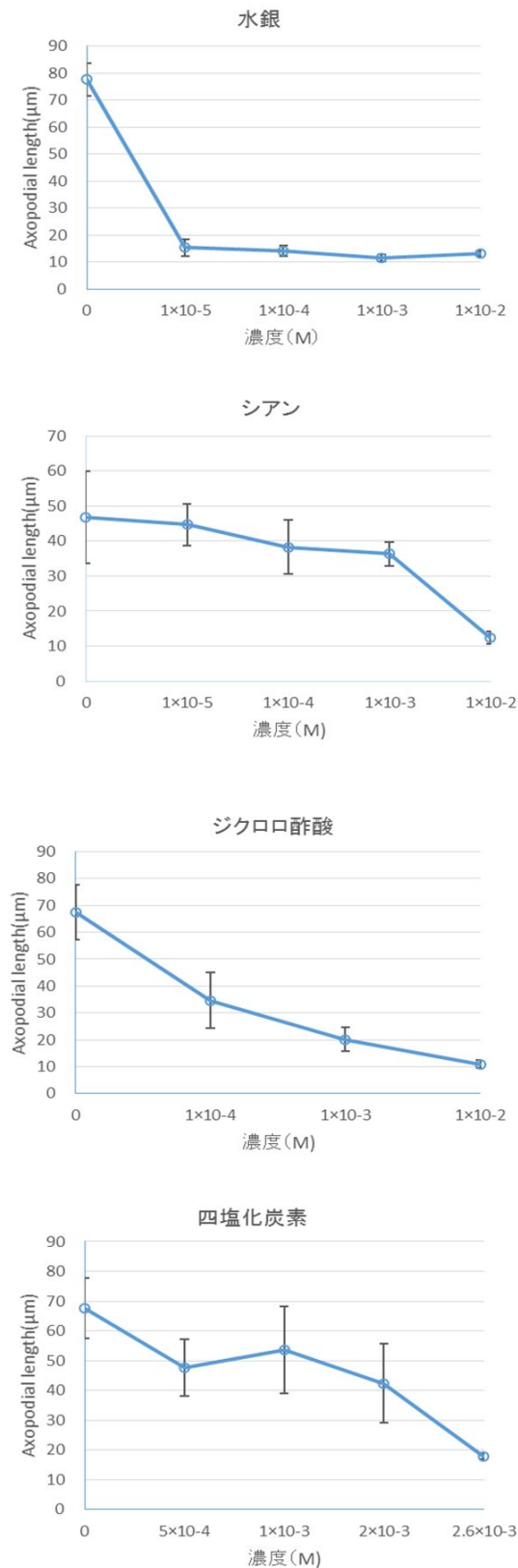


図1. 物質濃度別の軸足の変化
縦軸は軸足の長さを示している。横軸は濃度を示している。10 個体の軸足の長さの平均と標準誤差を表している。

(2) ハリタイヨウチュウは汽水域に生息しているため、コントロールは汽水を用いた。汽水を流入した場合、軸足は一旦短縮するが基底面に接着した状態で次第に伸長した。しかし、10 μM 水銀イオンが流入すると、軸足は短縮または断片化し次第に基底面から細胞体が剥がれた。断片化した軸足が基底面に張り付いたままでひきちぎれた状態で残存した。軸足は、基底面に張り付いているが水銀イオンによって軸足が断片化し細胞は水流によって剥がれて流された。つまり、軸足の断片化によって基底面から細胞は離脱した。すなわち、水銀イオンによるハリタイヨウチュウの基底面からの離脱は、軸足の先端での細胞接着が弱まった結果ではなく、軸足そのものが短縮・崩壊することにより軸足全体の耐久性が低下した結果であることが分かった。

(3) ハリタイヨウチュウは、軸足の先端に付着した餌虫を、軸足を収縮させることにより細胞体の近傍にまで引き寄せ捕食する。この際の軸足収縮のしくみは、図2に示すように理解されている。すなわち、機械受容 Ca²⁺チャネルの活性化により細胞外から流入した Ca²⁺により、軸足内微小管の脱重合と軸足の短縮が生じると考えられている。Hg²⁺などを含む有害物質による軸足収縮も、同様の機構が介在している可能性がある。これまでの予備の実験から、Hg²⁺による軸足の収縮現象には外液の Ca²⁺が必要で、機械受容 Ca²⁺チャネルの阻害剤である Gd³⁺により阻害されることがわかっている。このことは、他の有害物質による軸足短縮も同様の機序で生じている可能性がある。試作のモニタリング装置での測定でも同様の結果を得た。

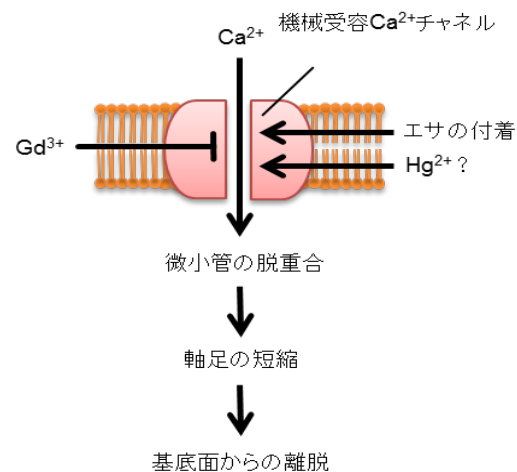


図2. 軸足の収縮機構についての作業仮説
ハリタイヨウチュウはエサを捕獲する際に、急速な軸足の収縮を示す。この行動により軸足の先端で捕獲された餌虫は細胞体へと運ばれる。軸足の収縮は、エサの接触刺激により機械受容 Ca²⁺チャネルが開き、その結果細胞外から流入した Ca²⁺により微小管が脱重合すると考えられている(文献3)。有害物質(たとえば Hg²⁺によっても、この経路が活性化されて、軸足の短縮が生じ、それによって基底面からの離脱が生じている可能性がある。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 9 件)

- 吉村知里、洲崎敏伸、原生動物ハリタイヨウチュウを用いた超小型で高感度な水質バイオモニタリング装置、大学発技術シーズ発表会、2014.12.16、大阪阪急ホテル(大阪)
- 吉村知里、松原さやか、洲崎敏伸、原生動物ハリタイヨウチュウを用いた水質モニタリング法の開発、日本水環境学会、2015.3.17、金沢大学(石川)
- 吉村知里、洲崎敏伸、原生生物ハリタイヨウチュウを用いた水質のバイオモニタリング、第 24 回環境化学討論会 2015.6.25、札幌コンベンションセンター(北海道)
- Chisato Yoshimura, Toshinobu Suzaki. A novel bio-monitoring system with the heliozoon *Raphidiophrys contractilis* for continuously detecting toxic substances in water. VII European Congress of Protistology (VII ECOP), 2015.9.9、セピリア大学(スペイン)
- 吉村知里、洲崎敏伸、原生動物ハリタイヨウチュウを用いた水質モニタリング法の提案、第 86 回日本動物学会、2015.9.19、新潟コンベンションセンター(新潟)
- 千原あかね、吉村知里、洲崎敏伸、有中心粒太陽虫の細胞表面に存在する珪酸質被殻について、第 86 回日本動物学会、2015.9.19、新潟コンベンションセンター(新潟)
- 吉村知里、洲崎敏伸、安全で安心な水の供給のためのハリタイヨウチュウを用いた水質モニタリングシステムの開発、第 4 回ネイチャー・インダストリー・アワード、2015.12.4、大阪科学技術センター(大阪)
- 吉村知里、安全・安心な水の供給に対応した水質バイオモニタリングシステムの開発、産学連携フォーラム、2016.2.29、神戸大学(兵庫)
- 吉村知里、洲崎敏伸、原生生物ハリタイヨウチュウを用いた高感度・高速な水質バイオモニタリングシステムの開発、2016 年環境科学学会年会、2016.9.9、首都

大学(横浜)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉村 知里 (YOSHIMURA, Chisato)
神戸大学・環境保全推進センター・助教
研究者番号：60362761

(2) 研究分担者

洲崎 敏伸 (SUZAKI, Toshinobu)
神戸大学・大学院理学研究科・准教授
研究者番号：00187692

(3) 連携研究者

()

研究者番号：