

課題名	ゾウリムシ属の凍結保存技術の開発
課題管理者	藤島 政博 国立大学法人山口大学 大学院創成科学研究科
実施期間	2017 - 2018 年度
概要・実施体制	ゾウリムシ属の多様な種と重要株を永久保存するため、解凍後に安定して生細胞を得ることができる技術を開発する。
成果	<p>【概要】</p> <p>ゾウリムシ属の <i>Paramecium aurelia</i> (ヒメゾウリムシ) と <i>P. caudatum</i> (ゾウリムシ) では DMSO を用いた凍結保存の成功例が複数の論文等で報告されているが、生存率が低く再現性が不安定なために実用化はされていない。そこで、自家生殖能力のない種では、低温(約 10℃)で分裂速度を抑えて系統保存が行なわれているが、細胞分裂回数に依存した老化と変異の蓄積は避けられず、安定して高い生存率が得られる技術開発が喫緊の課題である。平成 29 年度は、<i>P. caudatum</i> と <i>P. bursaria</i> (ミドリゾウリムシ) を使用して緩慢凍結法と急速凍結法で解凍後に生存細胞が得られる条件の検討を試みた(事業代表者 山口大学特命教授 藤島政博; 事業協力者 石巻専修大学教授 芳賀信幸、島根大学准教授 児玉有紀、筑波大学名誉教授 高橋三保子、北陸先端大学大学院大学准教授 松村和朗、信州大学准教授 秋山佳丈; 研究補助員 山口大学学術研究員 北島聖子)。その結果、DMSO を用いた凍結保護液と-80~-84℃のフリーザーを使った緩慢凍結法で、解凍後に <i>P. caudatum</i> と <i>P. bursaria</i> の生存細胞を得ることに成功し、現在、解凍後の生存クローンの細胞分裂速度、有性生殖能力および稔性への影響が調べられている。石巻専修大学は、安定して数%の生存細胞が得られる条件を見だし、解凍後の <i>P. caudatum</i> から 24 クローン以上を得た。さらに、液体窒素で凍結した <i>P. caudatum</i> からも解凍後に 3 クローンを得ることに成功した。山口大学では解凍後の <i>P. caudatum</i> の生存率が最大 29%に達する条件を見出したが、クローン化はできていない。しかし、解凍後の <i>P. bursaria</i> からクローラを維持した 5 クローンを得ることに成功し、安定して再現できる条件の検討を行っている。現在、解凍後の生存細胞の出現率をさらに高め、かつ、生存細胞のクローン化を妨げる主要因の回避と治癒の検討を行っている。</p> <p>【学会・シンポジウム等における口頭・ポスター】</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ゾウリムシの凍結保存の現状, ポスター発表, 藤島政博, Cryopreservation Conference 2017. つくば市、文部科学省研究交流センター 2 階国際会議場, つくば市, 2017/11/2, 国内 (ポスター). 2. 真核細胞のモデル材料として使用されてきたゾウリムシコレクションの展望, 口頭発表, 藤島政博, 第 91 回日本細菌学会総会ワークショップ 7「魅力ある研究素材としての第四期 NBRP コレクションの紹介と ABS 情報の最前線」, 福岡国際会議場, 2018/3/28, 国内 (口頭). <p>【「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み】</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ゾウリムシを用いて細胞内共生のしくみを解明する, 藤島政博, 青少年サイエンスセミナー2018 春, 主催 岩国市ミクロ生物館と岩国市, 岩国市由宇文化会館, 2018/3/18 2. 原生生物ゾウリムシ, 藤島政博, 田中健也, 村上理子, 第 40 回日本分子生物学会, 特別企画「NBRP 実物つきパネル展示」, 神戸ポートアイランド, 2017/12/6-8, 国内