

氏名	オン 碧	
学位の種類	博 士 ( 生命農学 )	
学位記番号	博 甲 第 10848 号	
学位授与年月日	令和5年3月24日	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当	
審査学術院	理工情報生命学術院	
学位論文題目	陸棲シアノバクテリア <i>Nostoc sp. HK-01</i> の乾燥と湿潤状態における細胞外物質の機能解析	
主査	筑波大学講師	博士 ( 学術 ) 横谷 香織
副査	筑波大学教授	博士 ( 工学 ) 市川 創作
副査	筑波大学准教授	博士 ( 農学 ) 吉田 滋樹
副査	筑波大学准教授	博士 ( 工学 ) 橋本 義輝
副査	三重大学助教	博士 ( 学術 ) 加藤 浩

## 論 文 の 要 旨

審査対象論文で著者は、紫外線をはじめ乾燥、真空、ガンマ線、重粒子線、及び幅広い温度等の各種環境に高い耐性を示し、3年の宇宙環境曝露後も生存可能な陸棲シアノバクテリア *Nostoc sp. HK-01* を生物材料として用いた研究について述べている。本論文の著者は、乾燥と湿潤を繰り返しながら生存し増殖する本株の細胞外物質 (ES: Extracellular Substances) の機能を解析している。

第1章では、序章としてシアノバクテリアの研究の歴史からシアノバクテリア全体のESの機能について述べている。著者は、シアノバクテリア種のESについて、種によりその組成は異なるが、一般的に多糖やDNA、およびタンパク質などで主に構成されていること、乾燥や塩、凍結および紫外線などの環境ストレスから細胞塊を保護することなどの既知の情報について、まずわかりやすく述べている。著者は、*Nostoc sp. HK-01* が、増殖の過程でESを生産すると共に、休眠細胞、栄養細胞、運動性細胞 (以下、ホルモゴニア)、及び異型細胞の4種類の細胞形態に分化する種であることを述べる一方で、ESが自身の休眠細胞の紫外線からの保護や細胞分化に及ぼす影響について、その詳細が未解明であることに注目し、細胞乾燥時および加水後の発芽過程におけるESの詳細な機能解析の必要性を述べている。

第2章において著者は、*Nostoc sp. HK-01* が生産するESと、同株の紫外線耐性との関係を明らかにした結果について述べている。ESを取り除いた乾燥細胞塊 (ES除去乾燥細胞) とESを取り除かず乾燥させた細胞塊 (ES未除去乾燥細胞) に、紫外線A、BおよびC波を20時間照射し、その後の休眠細胞の生存率を調べることで、同株のESが、紫外線C波 (UVC) に特化した細胞保護機能を具備することを明らかにしている。また、ESの光反射機能と吸収機能を調べた結果から、同株のESは紫外線を反射する機能は備えず、UVC波長域の光を著しく吸収することを初めて確認している。さらに、ESに含まれるUVCからの保護物質の探索を目的に、広い波長を透過するフッ化マグネシウム素材を用いた板にES試料を塗布し乾燥させ、ES除去乾燥細胞に被せ紫外線曝露を行うことで紫外吸収能を評価する著者独自の生物検定手法を確立している。著者は、この自身が開発した生物検定手法を用いて、*Nostoc sp. HK-01* のESに

おける紫外線吸収能と細胞保護活性を検証し、ES 画分試料から UVC 吸収物質を単離し構造解析を行い、細胞乾燥時の ES 量と細胞保護への寄与を数値的に示すことが可能であることを明らかにしている。さらにこの方法で単離した物質が、高等植物の成長制御物質に関連した構造をもつことや、*Nostoc* HK-01 の遺伝子情報との関係について初めて報告し、考察している。

第 3 章において著者は、乾燥細胞加水後の湿潤状態における ES が、*Nostoc* sp. HK-01 の細胞分化に与える影響を調べるために、ES 未除去乾燥細胞に濃度の異なる ES 溶液を与え、発芽試験を行った結果について述べている。ES の 80%メタノール不溶画分試料には発芽促進作用が、一方、その可溶画分試料が高濃度のときに発芽抑制作用が認められたことを記載している。著者は、*Nostoc* sp. HK-01 の ES の主な構成糖が発芽に関与している可能性を考慮し、4 種の単糖について同様に発芽試験を行い、その結果から、マンノースが高い発芽抑制効果を示すことを明らかにしている。また、運動性のホルモゴニアや光合成を行なう栄養細胞への分化誘導能について調べ、ES 粗抽出試料、80%メタノール可溶画分と不溶画分のいずれにおいても、100 ppm および 300 ppm で高いホルモゴニアの分化活性を示すことを明らかにした。この時、多糖（デンプン）を用いた既報の同様の試験とは異なる結果が得られたことから、著者は、ホルモゴニア分化に関わる特別な機能あるいは物質が ES 中に存在することを述べている。

著者は、上記の結果が、光合成微生物・シアノバクテリアの地球上過酷環境への導入のみならず、将来の長期有人宇宙探査における *Nostoc* sp. HK-01 の利用拡大や、ES の機能を利用した陸棲シアノバクテリアの閉鎖生態系内における循環利用に、多大に貢献することを著者の将来構想として明記し、将来の地球圏外居住への適用の可能性についても言及している。

## 審 査 の 要 旨

本論文では、乾燥と湿潤を繰り返しながら生存し増殖する陸棲シアノバクテリア *Nostoc* sp. HK-01 の細胞外物質 (ES: Extracellular Substances) の機能として、乾燥時の紫外線に対する防御、湿潤時の休眠細胞からの発芽誘導、および運動性細胞ホルモゴニアへの分化誘導について、詳細に解析している。著者は、自らが新たに開発した生物検定手法を用い、同株が生産する ES 中の UVC 吸収物質を探索・単離した成果は価値が高い。また、各種機器分析と遺伝子情報から、吸収物質の構造が高等植物における成長制御物質に関連することについて考察した内容は新規であり、重要な情報として高く評価される。湿潤環境条件下で、ES 中の物質が、休眠細胞の発芽や休眠細胞発芽後の運動性ホルモゴニアへの分化誘導制御を行い、環境に適した細胞形態に変化させる機能をもつことは、本研究ではじめて明らかにされた成果であり、今後の細胞分化機能研究の基盤にもなると考えられ、高く評価される。本論文で著者が見出した *Nostoc* sp. HK-01 の ES の新たな機能は、地球上の過酷環境や地球圏外有人居住にも応用が期待できるなど、将来を見据えた貴重な成果として高く評価される。

令和 5 年 1 月 19 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生命農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。