



Title	Live confocal imaging techniques for visualizing biomineralization processes in reef building marine calcifiers
Author(s)	Ohno, Yoshikazu
Citation	
Issue Date	2017-03-24
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/36526">http://hdl.handle.net/20.500.12000/36526</a>
Rights	

平成 29年2月16日

琉球大学大学院  
理工学研究科長 殿

論文審査委員

主査 氏名 中村 崇



副査 氏名 藤田 和彦



副査 氏名 大瀧 丈二



副査 氏名 伊藤 竜一



### 学位（博士）論文審査及び最終試験の終了報告書

学位（博士）の申請に対し、学位論文の審査及び最終試験を終了したので、下記のとおり報告します。

#### 記

申請者	専攻名 海洋環境学 氏名 大野良和	
指導教員名	中村 崇	
成績評価	学位論文 <input checked="" type="checkbox"/> 合格 <input type="checkbox"/> 不合格	最終試験 <input checked="" type="checkbox"/> 合格 <input type="checkbox"/> 不合格
論文題目	Live confocal imaging techniques for visualizing biomineralization processes in reef building marine calcifiers (共焦点ライブイメージング法によるサンゴ礁石灰化生物の生物鉱化過程の可視化)	
審査要旨（2000字以内） 学位論文の概要：サンゴ礁地形を形成する造礁サンゴ類や有孔虫における骨格や殻の形成過程およびメカニズムにはこれまで多数の説が提案されている一方、その詳細については依然不明な点が多い。特に、サンゴの骨格形成においては造骨組織に隣接する部位において比較的高いpH状態が一様に維持された状態で、結晶構造が作られるという簡略的な理解のみに留まっており、実態として形成される精巧なサンゴ骨格構造との間にギャップが存在していた。そこで本研究では、それらの理解を深化させるべく、生体内での骨格形成過程についての顕微観察手法による詳細解明を目指した研究を展開した。		

(次頁へ続く)

(続き)

研究では、枝状サンゴ種の一つである *Acropora digitifera* の初期ポリプを対象に、結晶毒性が出にくい低濃度カルセイン添加海水下での飼育実験系を確立し、これらの観察に共焦点レーザー顕微鏡を用いたことで、生きたサンゴの造骨組織周辺における動的な骨格形成過程の詳細を可視化することに成功した。この研究では、共生藻を親から取り込まず、環境から取り込む「水平伝播型」サンゴ種の幼生を対象にしつつ、神経ペプチドを用いた変態形成による稚サンゴ形成をおこない、それらに上述の染色手法を用いることで、これまで不明であった稚ポリプ期の生きた造骨組織内における骨格形成プロセスを初めて明らかにした。観察実験の結果、稚ポリプ期には、ポリプ軟組織の底部に存在する造骨組織内において、石灰化母液を含む液胞状構造が局所的に形成されながら、それらが拡大縮小を繰り返しつつ稚サンゴ底部に存在する造骨域内で結晶構造を作り上げていくという過程が確認された。さらに、海水中の pH を高精度に可視化する手法を確立したうえで、飼育海水中に酸を添加する実験を組み合わせたことで、稚サンゴ周囲の海水 pH 低下に続き、石灰化母液を含む液胞状構造内の pH 条件が急変した場合においても、骨格形成部位における pH が速やかに元の状態に戻されることを確認、サンゴ体内における造骨組織内での能動的な pH 制御の可能性を強く示唆した。さらに、有孔虫の一種である *Amphisorus kudakajimensis* を対象にした実験では前述のカルセイン染色を併用することで、仮足構造や細胞形態の詳細な可視化を進めるなどの研究をおこなった。

本研究で得られた新知見は、今後石灰化に関与するタンパク質の発現動態や局在性等に関する実験や知見と組み合わせることで、造礁サンゴ類をはじめとする海洋生物群における石灰化メカニズムの全貌解明の糸口となると考えられる。さらに、将来の気候変動影響下での骨格および殻形成の潜在的な維持能力・環境応答能を適切に評価する一つの目安にもなりえるなど、理学的にも有用であろうと考えられる。

海洋環境学専攻の学位（博士）審査にかかる最終試験をH29年2月16日に琉球大学理学部114号教室にて実施した。パワーポイントによるスライドを用いた40分間の発表で、主要な研究内容についての背景・手法・結果および考察についての説明をおこなった後、20分間の口頭試問を実施した。質疑応答では、審査委員を含めた参加者からの専門的な質問に対して、本研究および関連する知見を基にした回答を行った。最終試験後、主査および副査3名による学位（博士）審査委員会を同日15:15から理系複合棟615号室にて開催し、提出された学位論文が博士の学位論文に相当するものと判断し、学位論文の審査を合格とした。また、最終試験における発表ならびに質疑応答において、申請者は専門分野および関連分野の十分な知識ならびに琉球大学大学院理工学研究科博士後期課程修了者として十分な研究能力を有していることが確認できたので、大野 良和 氏の学位論文および最終試験について4名の委員全員一致にて合格を妥当とする判定を行った。