

提出日平成 18 年 5 月 23 日

調査航海概要報告書

1. 航海番号 / レグ名 / 使用船舶 : YK05-45 / よこすか、しんかい6500
2. 研究課題名 : 相模湾底生生物のライブストックと生存保管の可能性に関する研究
提案者 / 所属機関 / 課題受付番号 : 三輪哲也 / 海洋研究開発機構 /
研究課題名 : 相模湾ハオリムシ及びシロウリガイの共生コンソーシアム解析
提案者 / 所属機関 / 課題受付番号 : 佐藤孝子 / 海洋研究開発機構
3. 首席研究者 / 所属機関 : 三輪哲也 / 海洋研究開発機構
4. 乗船研究者 三輪 哲也 能木 裕一 山本 康晶 小山 純弘 吉田 尊雄 桑原 宏和
小西 聡史 藤原 義弘 三宅 裕志 三縄 和彦 植田 育男 中井 武
森 浩二 神保 充 伊藤 麻貴
5. 調査海域 : 相模湾
 - (1) (初島北東)
35° 01.0N、35° 06.4N 139° 12.0E、139° 14.0E (水深 : 800 ~ 1,300m)
 - (2) (相模海丘)
35° 03.6N、35° 07.2N 139° 18.6E、139° 22.2E (水深 : 800 ~ 1,500m)
 - (3) (初島南東)
34° 59.0N、35° 01.0N 139° 12.0E、139° 14.0 E (水深 : 800 ~ 1,300m)
6. 実施期間 : 平成 17 年 12 月 6 日 (火) ~ 12 月 13 日 (火)

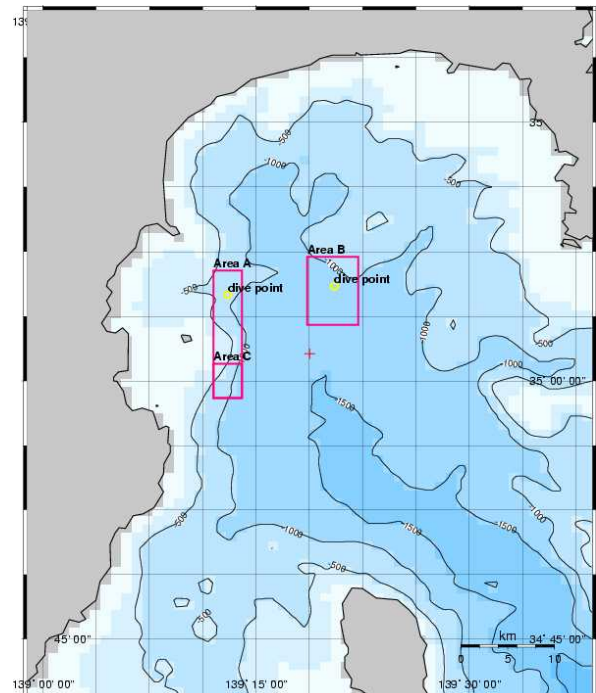
調査航海概要 (目的、背景、実施項目や手法、わかったことなど焦点を絞り明確に記入してください。研究上の confidential 事項については記載する必要はありません。)

目的と背景

本航海は相模湾深海における 2 つの研究課題を遂行するために行われた。

1) 深海生物は、採集後、ほとんどがすぐに死滅し、一部、捕獲後ある程度生存する。これまで、すぐ死滅する生物に対しては、生存状態での研究というのはあきらめられていた。本研究は、この問題を解決する。

本航海では生物の多様性と分布が最も良くわかっている相模湾において、深海生物の捕獲を行い、深海からのリフトアップ時に受ける物理ストレスから生物を保護し、環境コントロールをしながら生物捕獲を試みることを目的とする。平成 16 年度に同様の実験を試みたが、圧力変動を装置上のミスからおさえられず、試みは失敗に終わった。そこで新規に生存捕獲装置を改造し、問題点を改善し、再度の完全な捕獲を試みる。さらに、深海生物のライブストック技術を確認するため、相模湾近隣の水族館設備と共同で飼育管理を行い、生物・細胞資源の確保

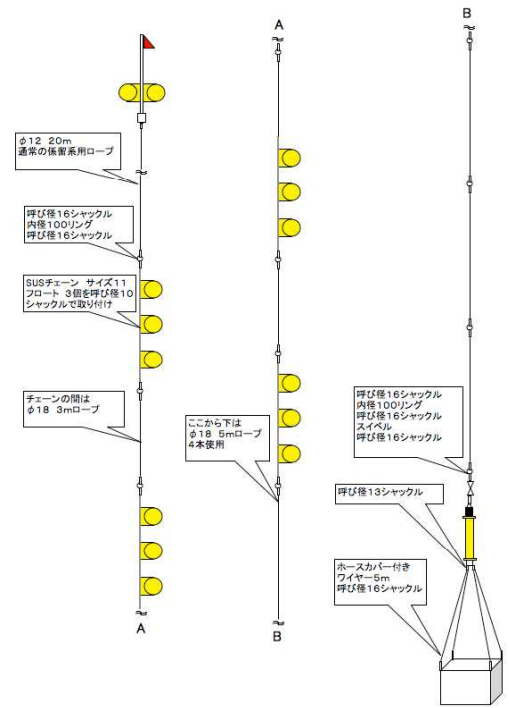


に努める。

2) JAMSTEC による相模湾潜航では、これまで初島沖の冷湧水生物コロニーを中心として詳細に調査が行われてきた。それらはバクテリアマットや、シロウリガイ、シンカイヒバリガイ等の二枚貝が主なターゲットであった。しかし、初島沖のハオリムシ2種や相模海丘のシロウリガイ等は、その存在が知られているが、環境中の微生物も含めた共生コンソーシアムの解析は全く行われていない。現在、シロウリガイや鹿児島島の浅海サツマハオリムシを中心として共生細菌のゲノム解析が進んできている。そこで本研究では、ゲノム解析以後を視野に入れ、それら共生菌を含めた化学合成共生生物生態系の1)相模湾のシロウリガイやハオリムシの共生生物コンソーシアムが、深度や場所の異なる他の冷湧水コロニー間でどのように異なるかを堆積物も含めた微生物多様性解析で明らかとし、2)宿主生物であるハオリムシ2種に関して、その共生生態系も含めた基礎研究、生育速度の測定や、幼生の発生、共生関係の確立などの生理学的研究や、サツマハオリムシの遺伝子の発現パターンの解析(以後 EST 解析と呼ぶ)を試行した結果明らかとなってきた高発現遺伝子群について、深海のハオリムシでの発現解析を始めとする比較ゲノム解析研究を行い、3)シロウリガイ共生細菌全ゲノム解析で明らかにされ始めている各遺伝子群と、環境中のゲノムを総括的に解析する手法による遺伝子ライブラリー間での比較を行い、その遺伝子の水平伝播などを検討する。以上の3つを主な目的として調査を行う。また、環境中の微生物群集を培養などの手法でも調査することで、今までの研究では行われて来なかった有用遺伝子の探索も同時に行う。

実施項目

- ・「DEEPAQUARIUM」深海生物の生存捕獲装置を用いた深海生物の採取。深海からのリフトアップ時において、圧力減圧、温度上昇などの物理ストレスから生物を保護し、環境コントロールをしながら生物採取を行う装置をしんかい6500に搭載し、その状態を観察しながら生物採取を行った。
- ・「シャトルエレベーター」しんかい6500とは別系統に、深海へ、または深海から荷物を搬送するための小型カーゴと係留系からなるシステム。500kgのリフトアップが可能。しんかい6500との併用によって、1回における生物回収量が飛躍的に増大した。
- ・「ステイナー」生態を把握するため、染色液(ネオランブルー)を放出し、特定の生物を染める事が出来る小型の生物染色装置。サガミハオリムシをターゲットに染色を行い、深海での生物代謝と成長速度を計測する。
- ・「スラップガン」生物採取用の駆動装置。水中モーターと生物をため置くキャニスター間を、可動なホースで連結し、水流によって生物を吸引する装置
- ・「無菌採泥器」深海のある特定の地点の微生物がどのような物が棲息しているか調べる場合、その現場環境以外の微生物の混入を防ぐ必要がある。また、当然陸上由来や人間由来の菌の混入も防ぐ必要がある。そのための滅菌した器具。採泥を行う際は遠心管上部2cmに有る開口部を堆積物中で水平にずらし採取を行う。採取後、ジャケットに戻し密閉状態を保つ。無菌採泥器を保持する箱は、深海で冷やされた海水が貯まっているため、「しんかい6500」海上に引き上げ揚収する間にサンプルの温度上昇を防ぐ効果がある。



概要

これまでの深海生物の生存記録、特に相模湾でのシロウリガイ、ハオリムシなどは、大気圧飼育の場合1週間程度の生存保存しか出来なかった。今回は1ヶ月程度まで延命させるため、可能な限りのストレスフリーでの採取、採取後の温度管理、圧力管理などを行う事とした。採取したハオリム

シ類はサガミハオリムシと *Alaysia* sp. であった。*Alaysia* sp. は親の体内で発生し、幼生となって出てくるのが明らかになった。親の体内には未受精卵からトロコフォア幼生までが確認された。*Alaysia* sp. を飼育していた飼育水からは大量の幼生が確保された。

シロウリガイは船内での状態は非常に良く、水管を伸ばし、自ら泥に潜る行動が見られた。小型個体の生存率が高いことがわかった。今回得られたシロウリガイは船上では死亡率は非常に低く、特に 850m から得られたシロウリガイはすべて状態良く生存していた。

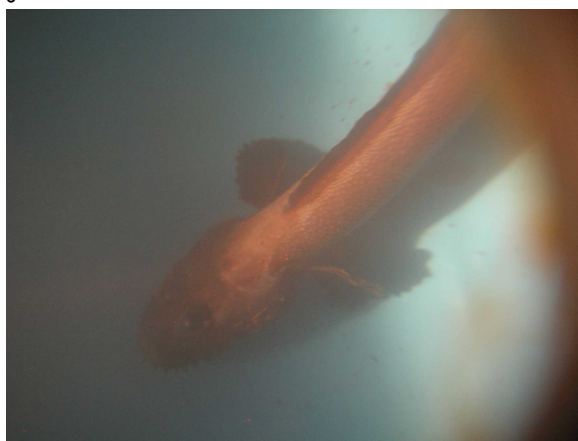
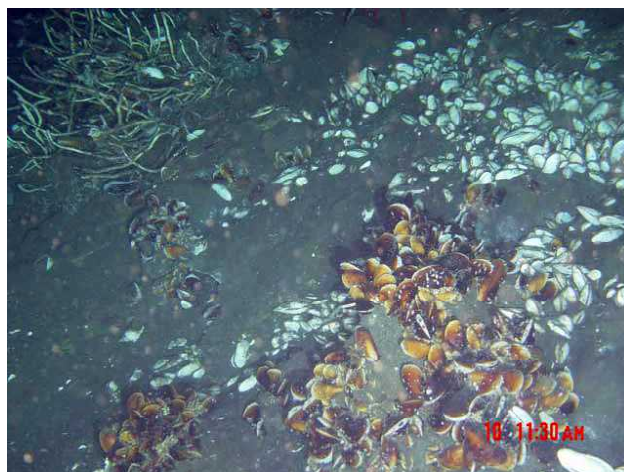
ハオリムシは体内に硫黄酸化細菌等の化学合成細菌を共生させることで生育しているが、この共生関係はハオリムシが幼生になった後に成り立つものと考えられている。今回は、化学合成細菌である硫黄酸化細菌およびメタン酸化細菌を分離・培養を試みた。また、同環境中存在し、化学合成共生細菌のエナジーソース（硫化水素、メタン）を生成する偏性嫌気性菌についても併せて分離・培養を行った。5 潜航において、ハオリムシならびに周辺土壌から 16 サンプルを回収し、微生物の増殖を検討している。

無菌採泥器により採取した堆積物の種類は深度 853 -1168m の化学合成生物群集生息域の堆積物 7 種類と深度 853 -1168m のコントロールサンプルとしてノーマル海底の 3 種類、非無菌のプッシュコアラで採取した深度 853 -1152m の化学合成生物群集生息域の堆積物 4 種類の計 14 種類のサンプルを採取した。また、バクテリアトラップとしてセルロース重合単体をシャーレに入れた物をシャトルエレベーターに設置し 2 日後に回収を行うことを各 2 回行った。また、初島南東沖サイト、初島北東沖、相模海丘の各潜航時に「しんかい」のペイロードとして設置し各海域に持って行きその日の内に回収することを行った。採取した堆積物サンプルは培養プレートに塗布し培養せずに冷蔵庫保管中である。残りのサンプルは DNA 分析用と菌株分離源として使用するため小分けし、液体窒素中にて凍結保存を行っている。セルロース重合単体も冷蔵庫に保管してある。培養実験は海洋研究開発機構帰還後、各温度で培養を行う計画である。

Dive917 において、ディープアクアリウムを用い、水深 1166m に生息するゲンゲの仲間（写真）の保温保圧捕獲に成功した。また、Dive916 で 6 連キャニスターでの捕獲に成功したビクニンの仲間とゲンゲの仲間も、DEEPAQUARIUM で大気圧からの再加圧飼育を試みた。

JAMSTEC との共同研究「深海生物の長期飼育に関する共同研究」に基づき、深海生物を採集し、よこすか船内にて生きた状態でストックし、さらに水族館に持ち帰り、長期飼育の資料とすることを目的として、相模湾 750 ~ 1250m 級水深の生物入手に努力した

結果、刺胞動物の鉢クラゲ、ヒドロ虫類、有しゅ動物のハオリムシ類、軟体動物の腹足類、節足動物十脚甲殻類の長尾類、異尾類、脊索動物の硬骨魚類等多岐に亘る分類群で生存状態の生物を入手した。このうち軟体動物のシロウリガイ類 2 種とシんカイヒバリガイ類 2 種、ハオリムシ類の 2 種は相模湾の海底生物群集を代表する生物として、飼育ライブストック化の意義は大きいと考えられる。これらの生物は船内第 2 実験室に設営した間口 60cm・100L 水槽 3 槽、40L コンテナ水槽 2



槽、250L 活魚タンクに水温調整(設定水温1~4)した上で収容した。

しんかい6500 やシャトルエレベーターで回収したシロウリガイを解剖して、各組織(エラ、足、生殖巣)に分けて、一部は、DNA 解析用として液体窒素で凍結し、-80 に保存した。また、各組織の一部は、それぞれの固定液に浸ける。固定液3のサンプルは室温で保存し、固定液2のサンプルは、4 に保存した後、約1日後(24時間)に固定液を70%エタノールに置換して、4 に保存した。固定液1のサンプルは、4 に保存した。また、血球の一部を固定液2で固定用と凍結保存用とした。同時に比較対象として2種類のヒバリガイ(*Bathymodiolus platifrons*と*Bathymodiolus japonicus*)も同様の処理をした。深海性共生二枚貝の共生機構を理解するために、共生菌および宿主の遺伝子発現から、両者の相互作用の解析を試みる。

今回はシャトルエレベーターを活用する事により、これまでリフトアップにおける重量制限の問題から制約されていた1潜航における生物採取量が増大し、効率よく目的の生物を入手する事が可能となった。これはこれまでに量の問題から出来なかったいくつかの生物研究に、新たな展開を与えてくれる事となった。少ない潜航で、効率よく深海生物を採取する事は、多くの研究者が同時に解析を行える事であり、今後の活用に期待できると考える。

