

深海微生物研究に必要な機器開発・技術開発

稲田 哲哉*¹ 池本 栄子*² 許 正憲*¹
長沼 毅*³

深海微生物の研究を行うには、現場実験や試料採取後陸上で行う実験が挙げられるが、いずれの場合も一般の微生物研究では考慮されない機器や技術の開発が必要となる。現場実験のほとんどの活性測定は実験終了時のみとなり、経時的な測定は難しい。これに対し、陸上にて各種実験を行えば、任意の条件で測定が可能となる。しかし、深海底の現場環境を厳密に保持したまま、試料を採取・単離・培養することは、困難である。そこで環境要因として、最も重要である水温および水圧について多くの装置が開発されてきた。

本報告では、深海微生物の研究で要求されてきた機器・技術の圧力および温度対策について、開発された機器の概略を説明することで紹介する。そして「深海微生物実験システム」の構造について、どのように対策が施されているかを説明する。

キーワード：深海微生物，保圧，保温，採水器，採泥器，培養器

Technological Developments in Deep-sea Microbiology

Tetsuya INADA*⁴ Eiko IKEMOTO*⁵
Masanori KYO*⁴ Takeshi NAGANUMA*⁶

In researching deep-sea microorganisms, the experimental processes have to be done in-situ or on-land under the same natural circumstances in which they inhabit. Although the former method is only to research at the end-point of the experiment, the latter is easy for observing at the time-course. However collecting, isolating and cultivating deep-sea microbes on-land while maintaining their environmental conditions is exactly difficult, much of the development and construction of devices are achieved to do with simulating the deep-sea pressure and temperature.

This paper describes an outline of the technological developments in the study of deep-sea microorganisms and the construction of "DEEP BATH (Deep-sea Baro/Thermophiles Collecting and Cultivating System)".

* 1 深海環境プログラム推進課

* 2 前深海環境プログラム推進課

* 3 広島大学（前深海環境プログラム）

* 4 DEEP Promotion Division

* 5 Formerly DEEP Promotion Division

* 6 Hiroshima University (Formerly Deep-sea Environment Exploration Program)

Key words : Deep-sea microorganisms, Pressure-retaining, Adiabatic, Water sampler, Mud sampler, Incubator

1 はじめに

現在、微生物に関する研究は非常に活発に行われ、化学工業や医薬品産業で大きな成果を上げている。そして、深海微生物の研究についても、有人潜水船「しんかい6500」をはじめとする深海調査技術の進歩にともない多くの研究がなされている。

深海は、一般に、低温であること、高圧であること、そして暗黒であることなどの特徴をもっている。このような特殊環境に対応して、深海微生物は特異な機能・特徴を備えていると考えられる。したがって、深海微生物の研究を行うためには、一般の微生物とは違った機器や手法が必要となる。本報では、これらの機器および手法の開発の概要について述べるものである。

2 現場実験

ウッズホール海洋研究所の潜水船アルビン号の事故をきっかけに、深海での物質分解や代謝活性の研究が盛んになった。アルビン号は10カ月半もの間、ハッチを開けたまま1540mの海底にあったが、海水中に浸されていた船内の食べ物がほとんど腐敗せずに発見された¹⁾。それゆえ深海では微生物による分解活性が低いのではと考えられたのである。

深海微生物研究の第一歩として、まず、深海底で直接有機物の分解活性等を調べるために、Jannaschらが

行った現場実験が挙げられる。これは海洋物理計測用の係留索にサンプルラックを付けて5000m程の海底にて8～19週間の培養を行ったもので¹⁾、次に、彼らは潜水船を利用して、圧力容器の中に培養瓶を並べ、1830mの深海底で1年間の培養実験を行った²⁾。これらの結果から深海微生物の分解活性が低いことが示された。さらに、培養装置としてシリンジアレイが考案され³⁾、これは基質を入れたシリンジ内に試料を送りこむ方法を用いている。この方法は熱水噴出域における化学合成細菌の炭酸固定の測定⁴⁾にも使われるなど、広く用いられるようになった。

日本では鋤崎らが図1に示す装置を「しんかい2000」を用いて、深海底に設置し、深海底で直接、微生物の呼吸速度⁵⁾および増殖速度の測定を試みている⁶⁾。各容器内には微生物の代謝活性を高めるために基質を添加しており、これらを深海底に2日間放置し、それぞれの変化を計測している。森屋らは寒天培地を入れたシャーレにコロニーを形成させることも試みており⁷⁾、半年間、深海底に放置した結果、コロニーこそ形成されなかったが、微生物の集団を多数発見できた。

潜水船を利用した現場実験には海上気象や潜航深度などの制約がある。これに対して、自由落下式の現場実験装置の有用性が実証されてきた。Isaacsなどの研究以来、無索のトライポッドにカメラや実験機器を搭載し、

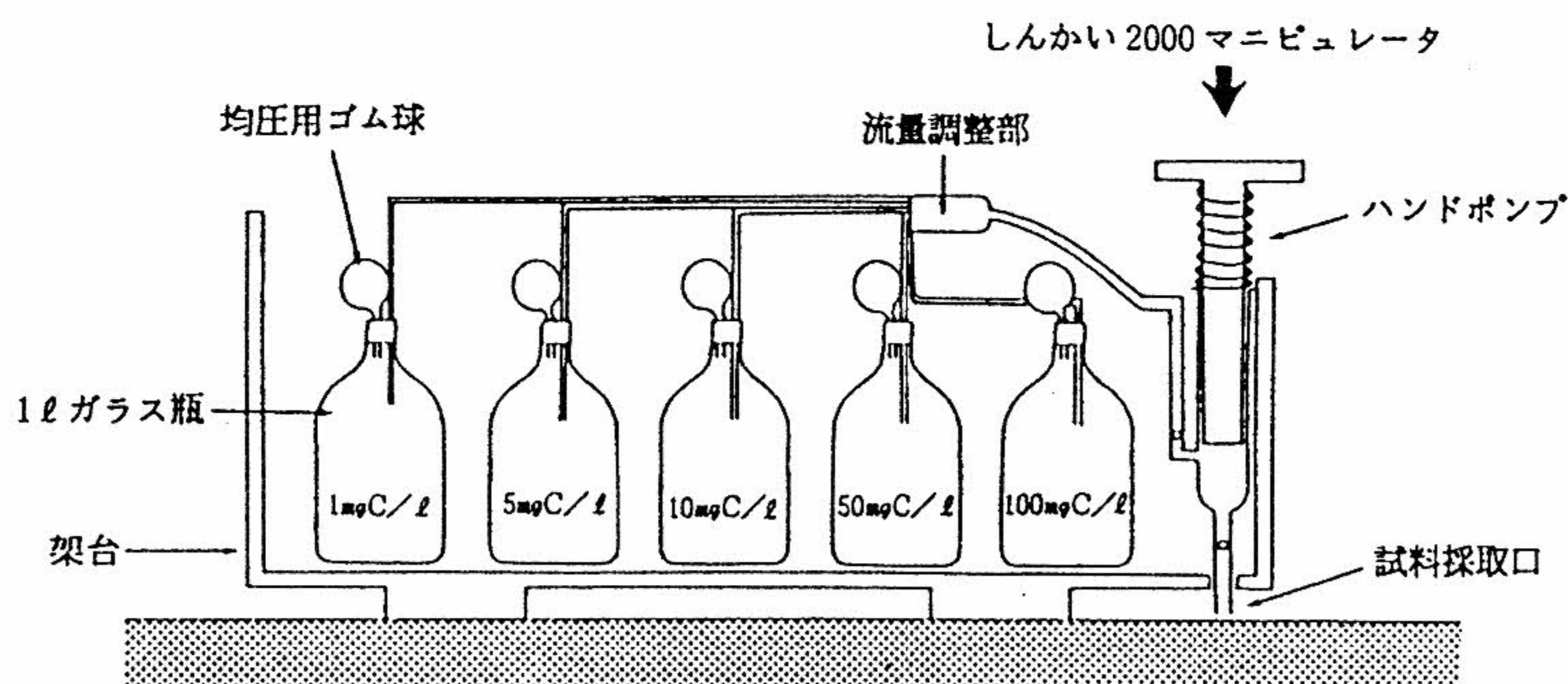


図1 現場型呼吸活性・増殖速度測定装置

Fig. 1 In situ measurement system of bacteria respiration and growth rate.

タイマーもしくは音響信号によりバラストを切り離し、海底から浮上させる方法が用いられており⁸⁾、Sekiらはこれを応用してタイマー切離し式のトライポッドを用い、液体培地を入れたJ-Zサンプラーに5000m以深の海水を採取し、その現場で5日間、培養を行い、深海微生物の現場培養に成功した⁹⁾。

3 陸上での再現実験

3.1 採取・回収

1910年代の実験では超高压から常圧まで緩やかに減圧すれば微生物の生存率に変化がなく、急に減圧すると低下したとの報告がある¹⁰⁾。また、急激な減圧が微生物に悪影響を及ぼす、いわゆるpressure shockについての報告もされている¹¹⁾。これに対して深海微生物を回収する場合、潜水船の浮上、ケーブルの巻上げ等の緩やかな減圧は大きな影響を与えないであろうと言われることが多かった。しかし、このような緩慢な減圧でさえも死滅する微生物がいることも当然考えるべきであり、可能な限り現場圧力を保持して回収することが望ましく、保圧採取用の機器が多く開発されるようになった。

圧力を保ったままの採取・回収として、多くの採水器が開発されてきた。例えば、ウッズホール海洋研究所では深度2000m仕様のものが最初に開発された。これは、ステンレス製で、温度変化に対する圧力補償するためにアキュムレータが設けられたり、保圧状態で試料の分配もできるようになっていて保圧採水器として完成度が高い¹²⁾。この後、6000m仕様も開発され、これは保圧培養器としても利用できた¹³⁾。

深海の海水中の微生物の数は少なく、JannaschとWirsenは濃縮機構を備えた保圧採水器を開発した¹⁴⁾¹⁵⁾。これはフィルターにて海水をろ過し、200倍以上の濃縮試料を採取するようになっている。またメリーランド大学でDOS (Deep Ocean Sampler) と呼ばれる保圧採水器が用いられ¹⁶⁾、保圧分配器も開発された¹⁷⁾。ハワイ大学でも10000mクラスの保圧採水器を開発した¹⁸⁾。

深海微生物の採取・回収では、保圧のほかに、保温が重要な要因であり、絶対好圧菌も保温（保冷）採取された試料から発見されている¹⁹⁾。このとき、保温材として塩化ビニール（PVC）が用いられているが、保圧を考慮しなければPVC製の採水器が良いかもしれない。また日本でも、深海性魚類の腸管から絶対好圧菌が発見されており²⁰⁾、これも試料の保冷に十分留意したそうである。深海から試料を回収する際の最適保温法については許らが検討を行っている^{21) 22) 23)}。

許らは、保圧と保温、その両方を満足させる図2に示す採水器を開発した²⁴⁾。この機器は、潜水船に搭載し、マニピュレータで操作するものであり、断熱材としてはシンタクチックフォームを用いている。シンタクチックフォームは直径数10~100 μ m程度の中空ガラス球（ガラスマイクロバルーン）をエポキシ樹脂で固めたものであり、元来、深海用浮力材として開発されたもので、樹脂材よりは熱伝導率が小さく0.1kcal/mh $^{\circ}$ C程度である。

海水中より海底泥中に微生物が多いことは良く知られているが、無菌的採取・保圧採取が機構的に難しいことから、採泥器の開発は敬遠されがちであった。従来の採泥器では、採取された泥試料の中心部は周囲の海水や外気に汚染されてなく無菌的であるとみなすことが多かったがこれが十分でないことは言うまでもない。そこで、鋤崎らは、無菌的に採泥するために、図3のような、柱

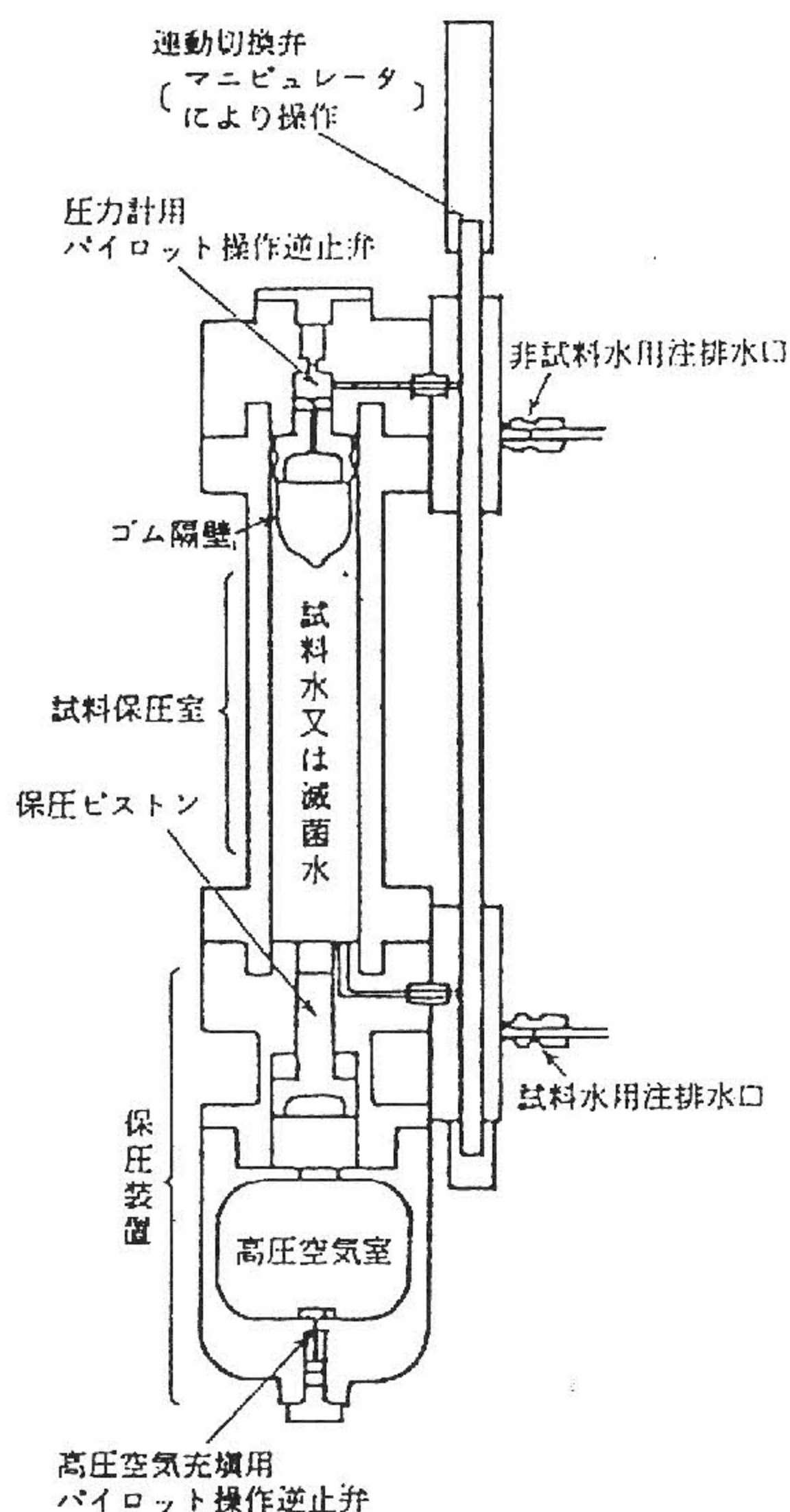


図2 保圧型採集器

Fig. 2 Pressure-retaining sampler.

状採泥器を滅菌水を満たした外筒内に入れ蓋をし、深海底で潜水船のマニピュレータにて外筒の蓋を開け、採泥器を取り出し採泥した後、再び蓋を閉じて船上まで持帰る機器を作った⁵⁾。この採泥器を用いれば、泥試料が直接触れる海水は現場海水のみであり、また、外筒内外の海水の出入りはフィルターを通して行うようにしてあるため、外部からの汚染は妨げられ、さらに、外筒は圧力容器にする必要がないのである。また、池本らはこの無菌的採取法を改良し、図4に示すような採泥器を開発した。この採泥器では保温性を確保するため、外筒を保温材のネオプレンゴムで覆い、さらにこれらを塩化ビニル製の容器に入れている²⁶⁾。

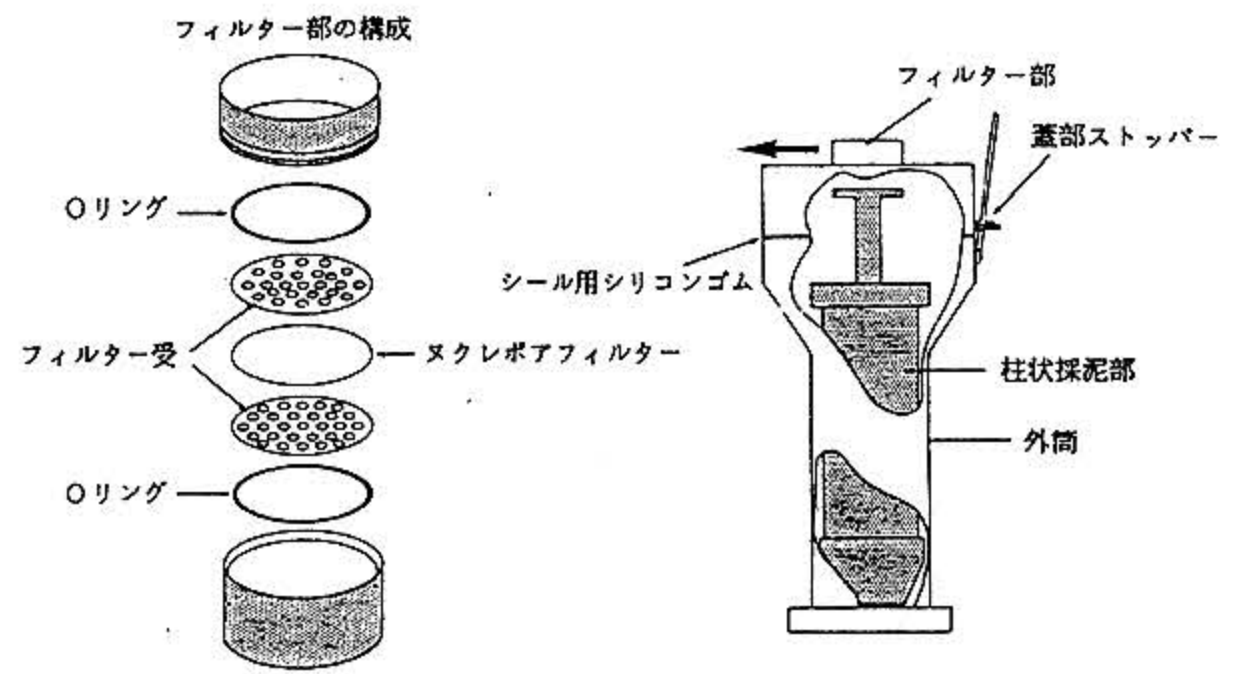


図3 無菌柱状採泥器
Fig. 3 Sterile core sampler.

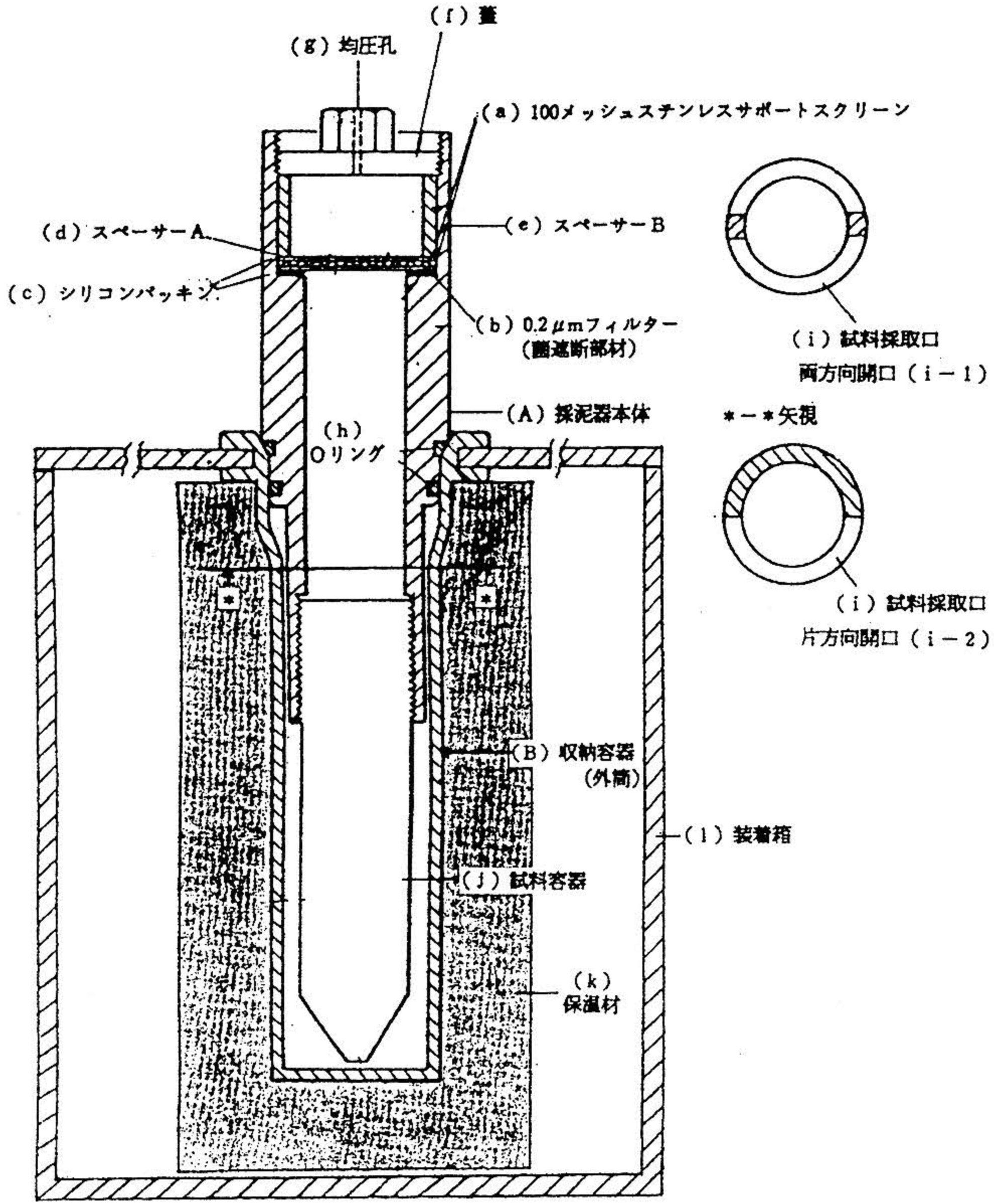


図4 無菌保温採泥器
Fig. 4 Sterile and heat-insulating mud sampler.

後で述べる「深海微生物実験システム」の採泥器は無菌生、保温性、保圧性を全て確保できる構造になっている。

3.2 単離

大気圧下での微生物の単離は、寒天培地に混濁してから固化培養する方法、寒天平板培地上に試料を塗抹しコロニーを形成させる寒天平板法、段階的に希釈して液体培養する希釈法がある。絶対好圧菌では保圧したままで、これらの手法を用いて単離を行わなければならない。ウッズホール海洋研究所では、酸素-ヘリウムの混

合ガスで加圧したチャンバー内に寒天平板培地を置き、そこにコロニーを形成させるものを開発した²⁷⁾²⁸⁾。上村らは図5のように上述の装置の塗抹方法を改良し、単離操作を容易にした²⁹⁾。しかし、これらは圧縮ガスの爆発の危険性や高压ガスが微生物に与える悪影響という問題があった。そこで、岡見らは図6のように、水より軽く、水と混じらない、微生物に無害の流動パラフィンを加圧充填し、保圧単離する装置を開発した³⁰⁾。

後で述べる「深海微生物実験システム」は希釈単離法により保圧単離を試みる装置である。

3.3 培養

図7のように、深海微生物の保圧培養には、保圧採水器をそのまま利用することが多い^{17) 25) 31)}。これにより、現場培養の実験終了時にしか測定できない欠点を補うことができる。

Yayanosらは、試料採取から一貫して保圧しているものではないが、一度加圧した培養試料を減圧せずに分配できる装置も開発している³²⁾。

「深海微生物実験システム」は採泥から単離、培養まで一貫して保圧できるシステムであり、次節で詳しく述べる。

3.4 深海微生物実験システム

3.4.1 概要

「深海微生物実験システム」は採泥器、希釈装置、分離装置、培養槽の4つのサブシステムと計測システムである増殖モニターから構成されていて、1993年8月に完成した。

本実験システムの基本的なオペレーションは次のとおりである。

① 潜水調査船に搭載された採泥器で深海底から泥を採取し、採取現場の圧力と温度を保持したまま、船上に回収し陸上施設まで移送する。

② 採泥器を採取現場の圧力と温度に合わせた希釈装置に接続し、泥試料を流し出し、泥試料中の微生物を単離するために、泥試料を希釈する。

③ 任意に希釈された試料を採取現場の圧力と温度に合わせた分離装置内のセル（最大36本）に移送し、任意の培地で培養する。分離装置には各セルについて微生物の増殖の有無を確認する増殖モニターが装着されている。すなわち、増殖が認められたセルの中から最も希釈度の高いセルを選ぶことで、確率的に微生物の単離を行う希釈単離法が用いられている。

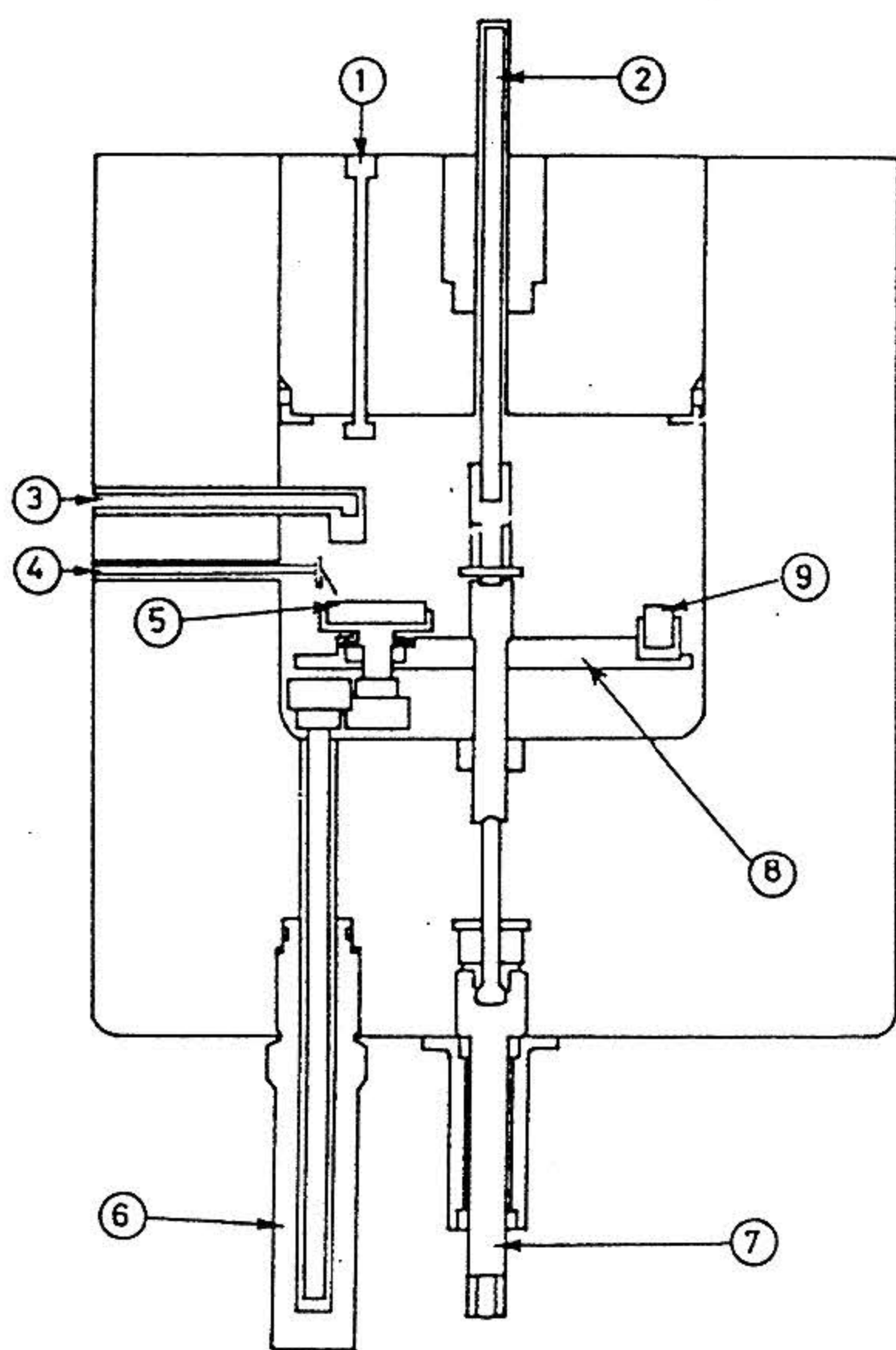


図5 高压下における微生物単離装置

1: 内部照明用窓, 2: 円盤テーブル用手動式回転機, 3: 内視鏡用窓, 4: 植菌白金線, 5: シャーレ, 6: シャーレ固定台用可変式回転機, 7: 円盤テーブル上下用装置, 8: 円盤テーブル, 9: 試験管

Fig. 5 High-pressure apparatus for isolation and cultivation of deep-sea bacterias.

1: window for illumination, 2: part for rotatory movement of disk, 3: window for fiberscope, 4: streaking loop, 5: petri-dish, 6: part for rotatory movement of petri-dish, 7: part for moving disk up and down, 8: disk, 9: vial for liquid medium

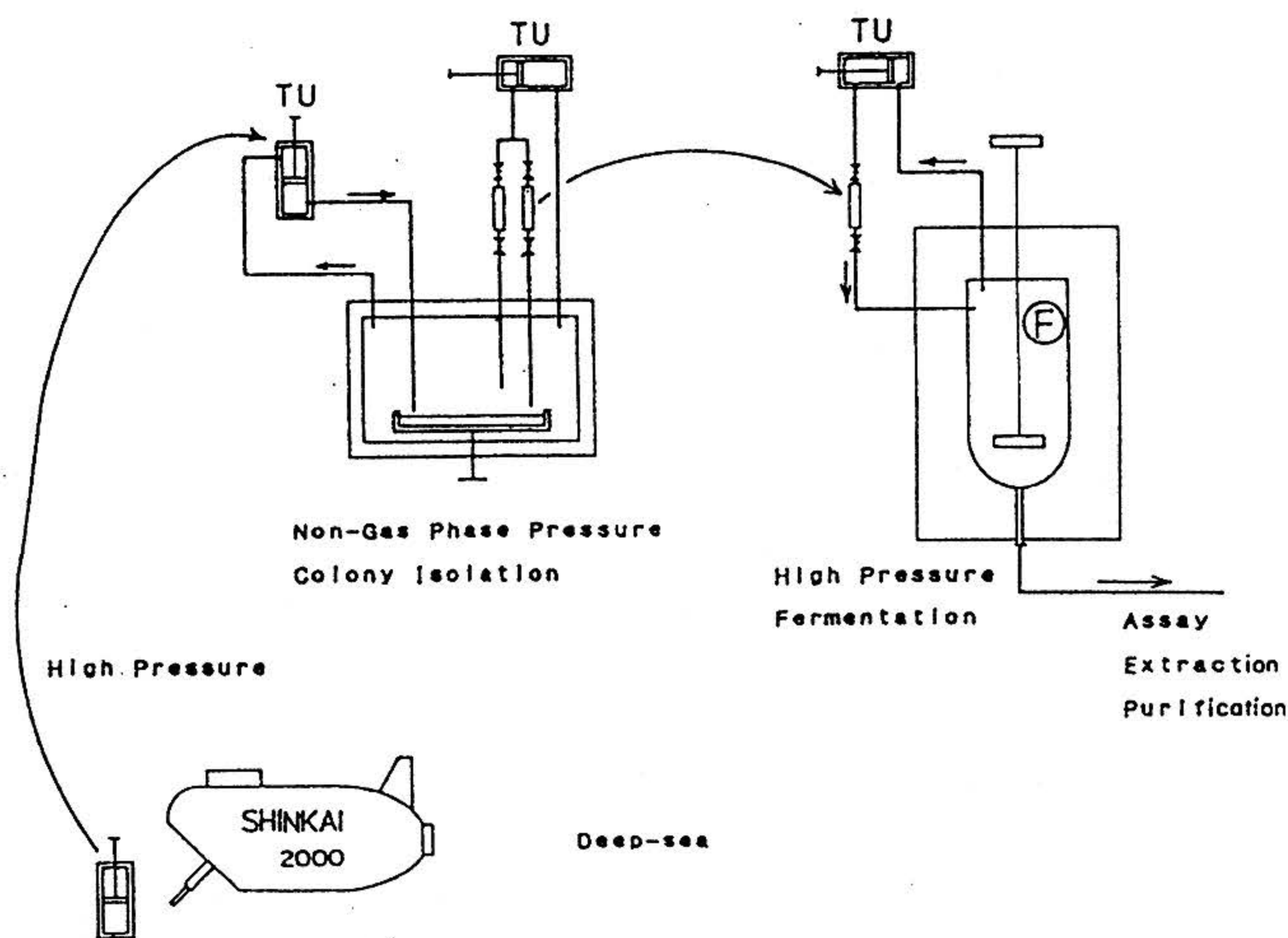


図6 無気相高圧下で深海微生物を単離・培養する装置

Fig. 6 Non-gas phase system for isolation and fermentation of deep-sea microbes without loss of pressure.

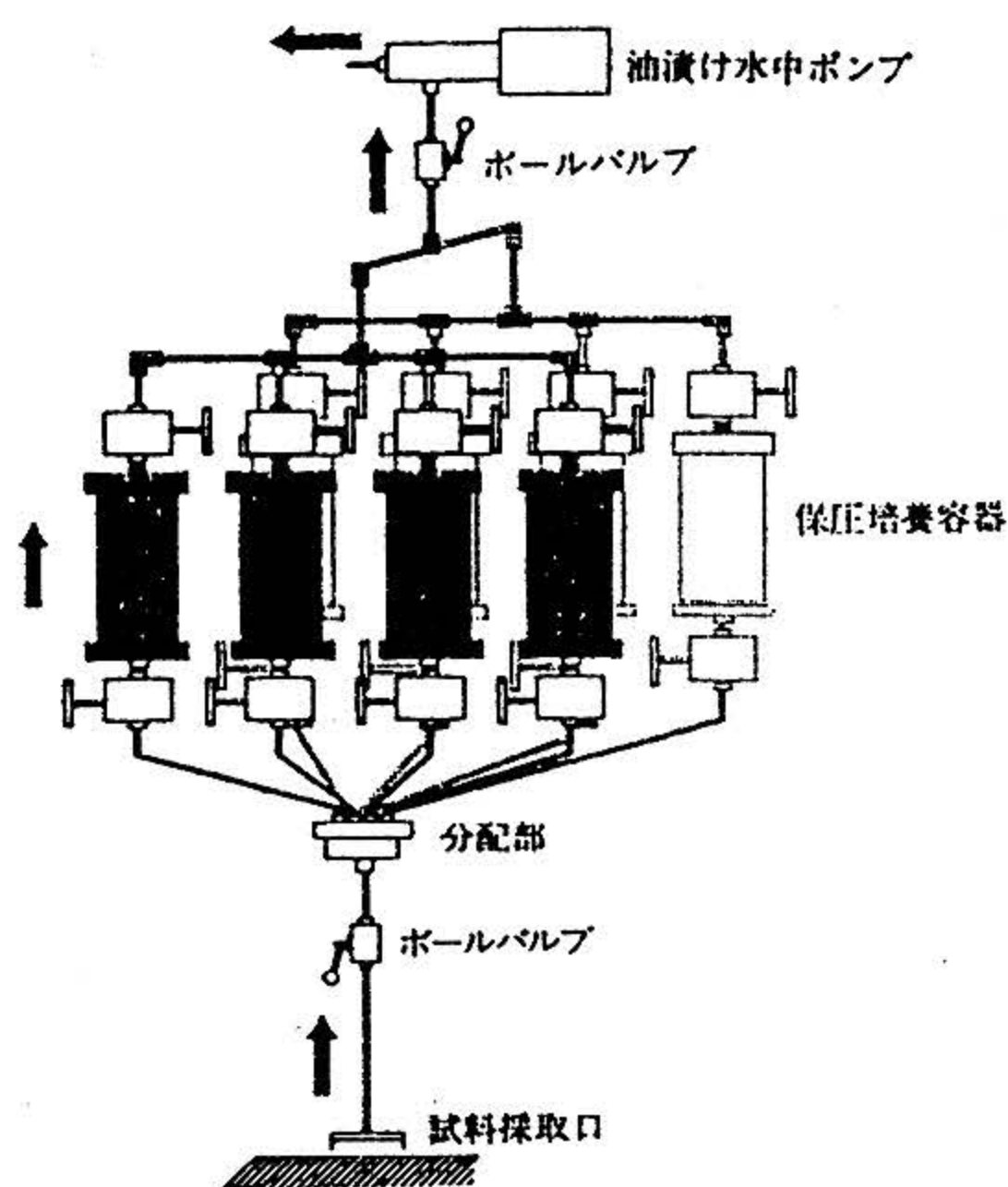


図7 保圧型微生物採取・培養装置

Fig. 7 Pressure-retaining sampling and incubating system.

④ 単離を確認した試料を採取現場の圧力と温度に合わせた培養槽に移送し、大量に培養する。培養槽にも増殖モニターが装着され微生物の増殖を確認する。

こうして、圧力温度を保ったまま採取・単離・培養ができ、その圧力は0～680kgf/cm²（深度6500m相当）、温度は採泥器と希釈装置が0～10℃、分離装置と培養槽が0～300℃（全装備では0～150℃）である。

3.4.2 構造

(1) 採泥器

採泥器は図8に示すように、保温箱、収納箱および保圧容器から構成されている。無菌性確保のため、収納箱内に水を充填しオートクレーブにかけ滅菌後は、海底に着くまで収納箱の蓋は開けず、収納箱内外の均圧はフィルターを介して行われる。

海水中の温度維持については、保圧容器をシンタクチックフォームを用いた保温箱で覆い、外部からの熱の流入を抑制し、さらに硝酸アンモニウムと水との吸熱反応を利用した冷却機能も装備している。

圧力維持についてはシール性を高めるとともに、気体と液体との圧縮率の差を利用して圧力変動を補正する、高圧空気を充填したアキュムレータを装備している。

採泥器を「しんかい6500」及び「しんかい2000」に搭載し、採泥後の温度維持能力、圧力維持能力および一連の操作性について確認した。温度維持能力については

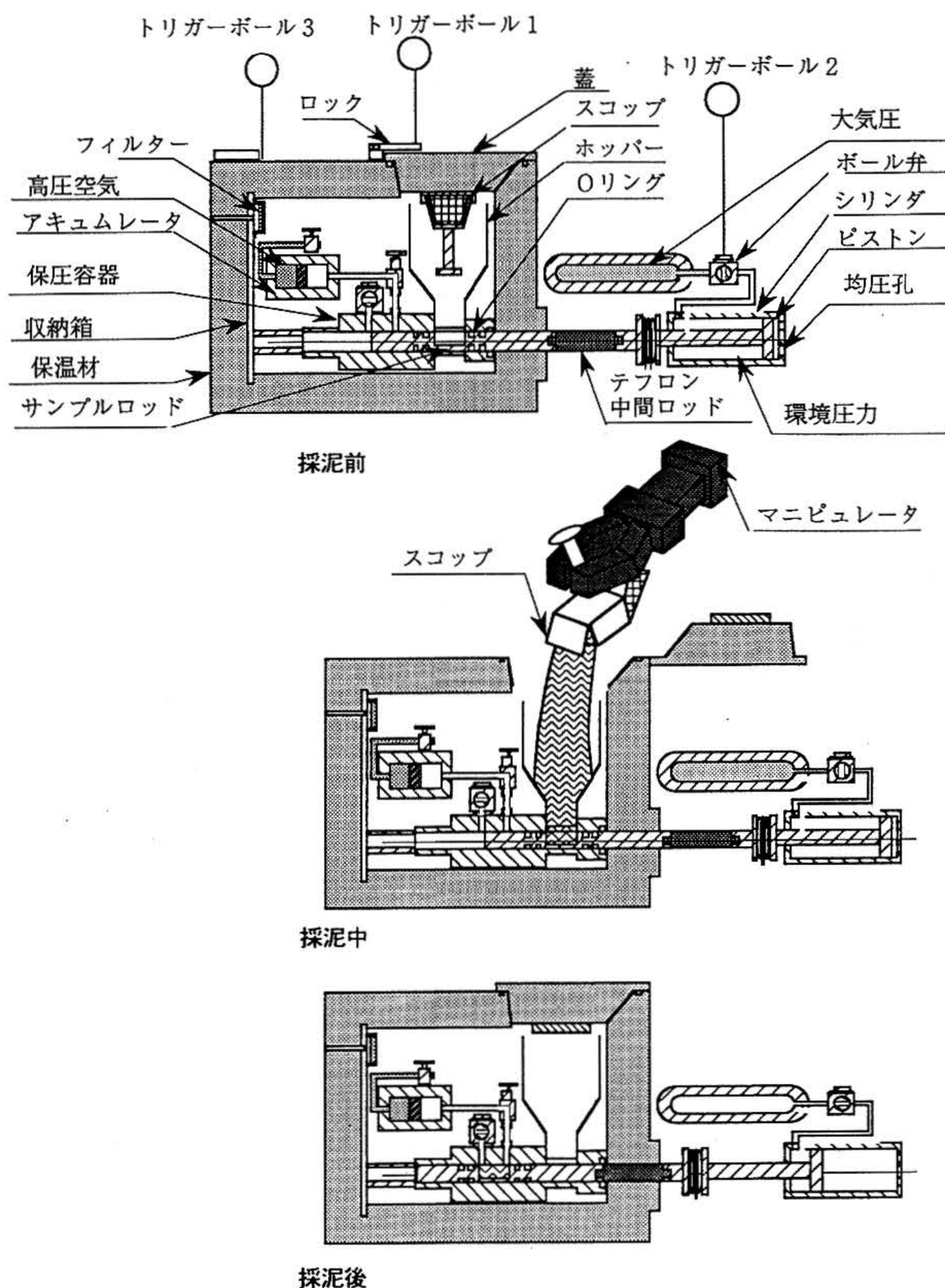


図8 深海微生物実験システムの採泥器の構造

Fig. 8 Schematic diagram of sediment sampler in DEEP BATH.

図9に示すとおり、本保温設計が十分に有効であることが分かった。なお、図中、左側縦軸は水温を、右側縦軸は潜水船深度を、横軸は時間を、実線は海水温および深度を、太実線は集中熱容量法による容器内水温の予測結果を、点線は容器内水温の計測結果を示す。圧力維持についてはシール不足により若干の低下があったが、微生物の活性に悪影響を与えるほどではなかった。操作性については潜水船のパイロットより十分良好である感想を導た。

写真1, 2に「しんかい6500」に採泥器を搭載したと

ころ、および採泥状況を示す。

(2) 希釈装置

希釈装置は図10に示すように、希釈容器、希釈計量器、海水置換容器および加圧器の4つの高圧容器と、滅菌海水タンクから構成されている。そして、希釈装置全体を恒温室内に配置し、温度保持する。

希釈容器と希釈計量器には、試料の希釈濃度を均一にするため、高圧下で攪拌可能なアジテータが設けられている。採泥器の泥試料は滅菌海水にて希釈容器に流し出され(100倍希釈)、希釈容器の試料の一部を希釈計量器

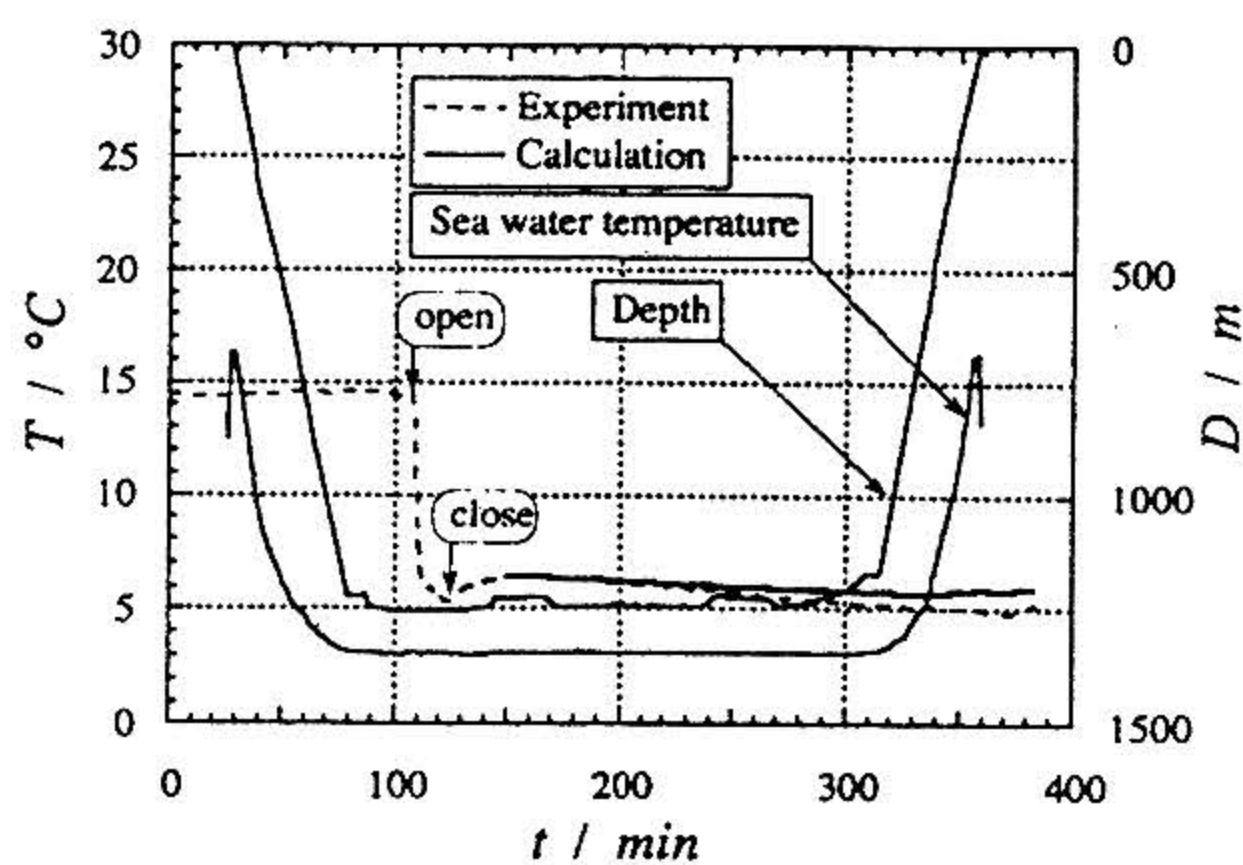


図9 実海域保温試験
Fig. 9 Results of isothermic ability test.



写真2 「しんかい 6500」での採泥作業状況
Photo 2 The condition of sediment sampling by "SINKAI 6500".

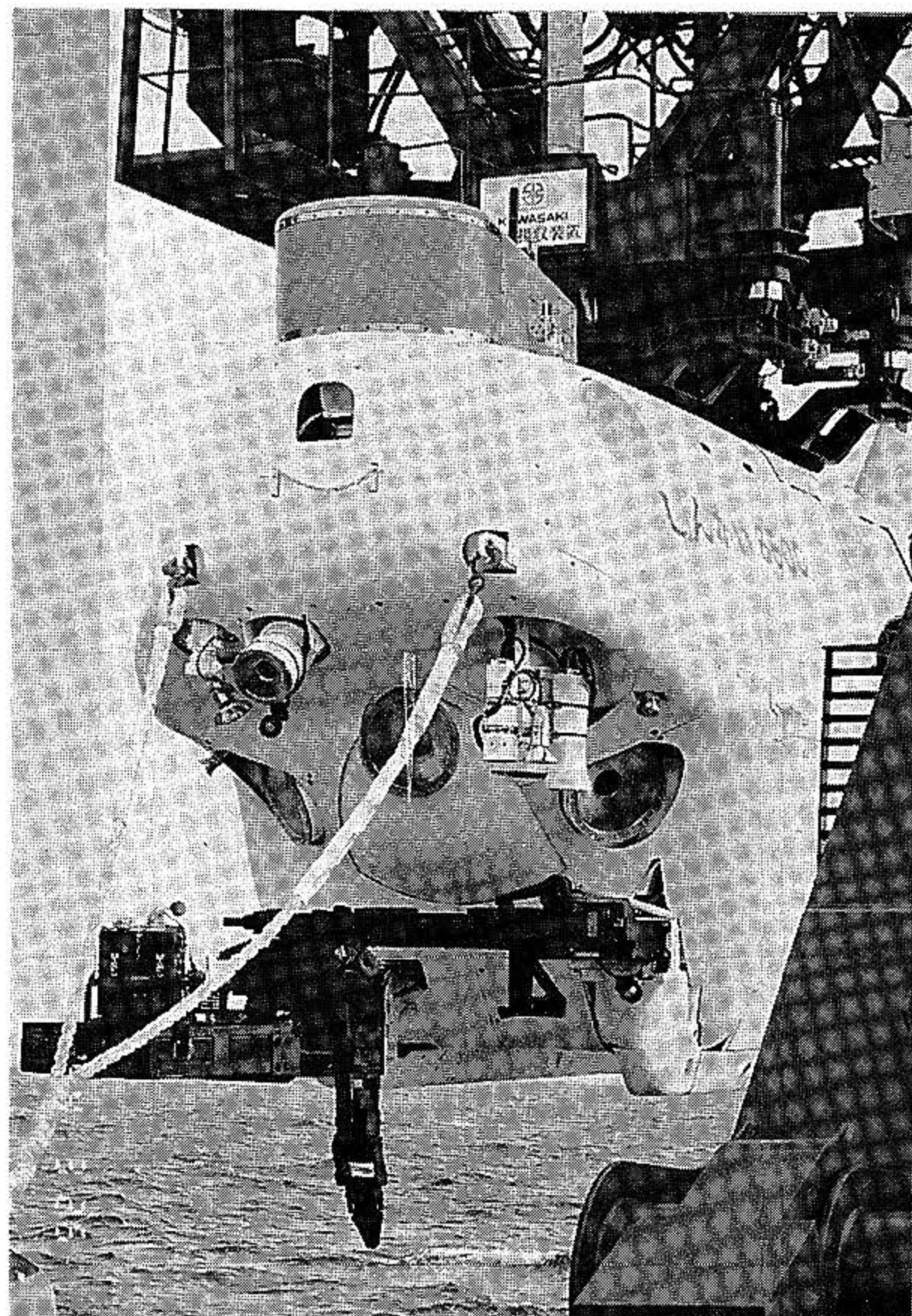


写真1 「しんかい 6500」に搭載した採泥器
Photol Sediment sampler on "SINKAI 6500".

に送り，そこで滅菌海水にて希釈（1000倍）される。さらに希釈計量器の一部を残し，そこで滅菌海水にて希釈（10000倍）される。以降希釈計量器にて10倍希釈される。

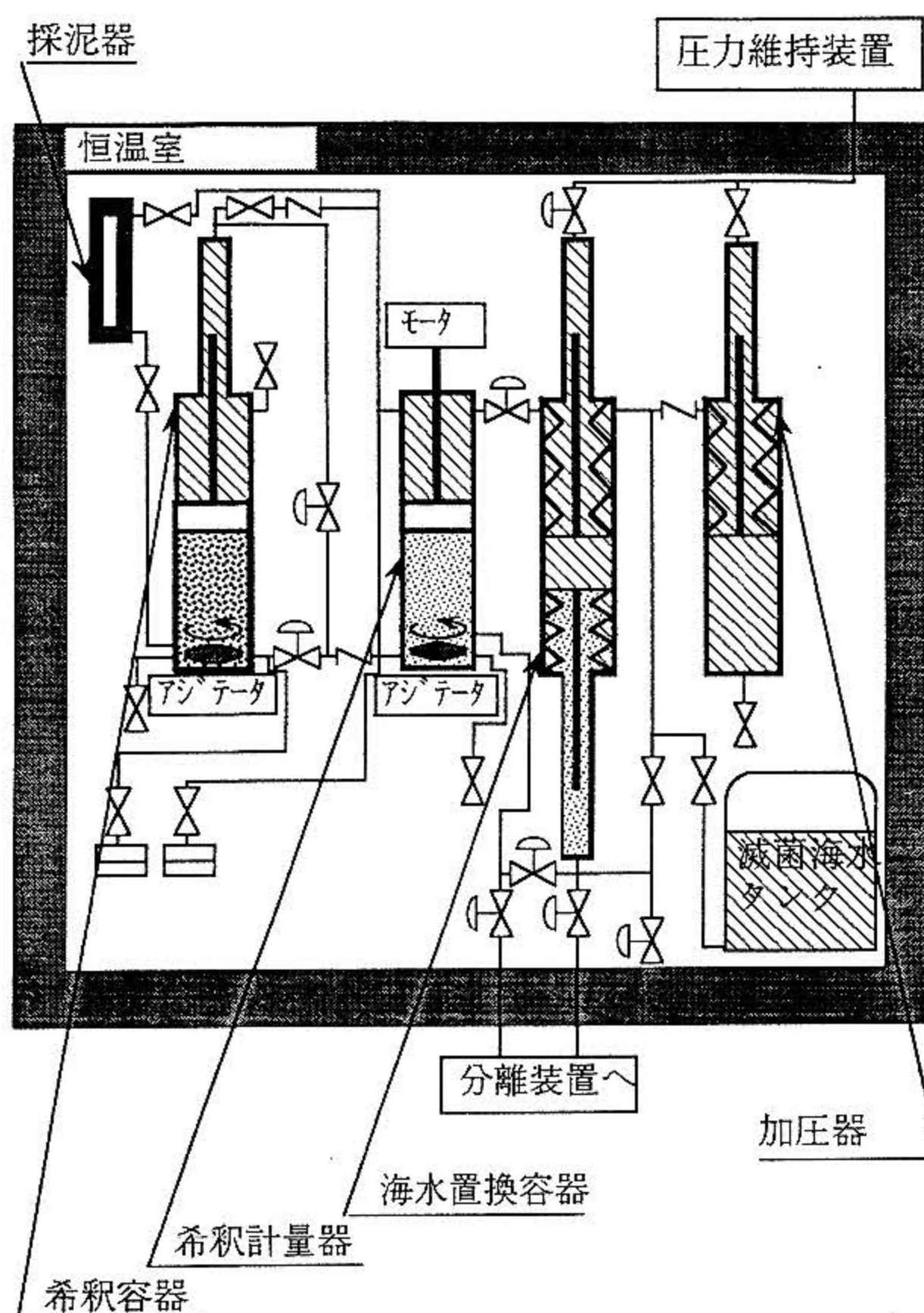


図10 深海微生物実験システムの希釈装置の構造
Fig. 10 Schematic diagram of dilution device in DEEP BATH.

(3) 分離装置

分離装置は図11に示すように，36本のパイレックスガラス製セル（容量30ml），加圧槽，加熱・冷却ジャケット

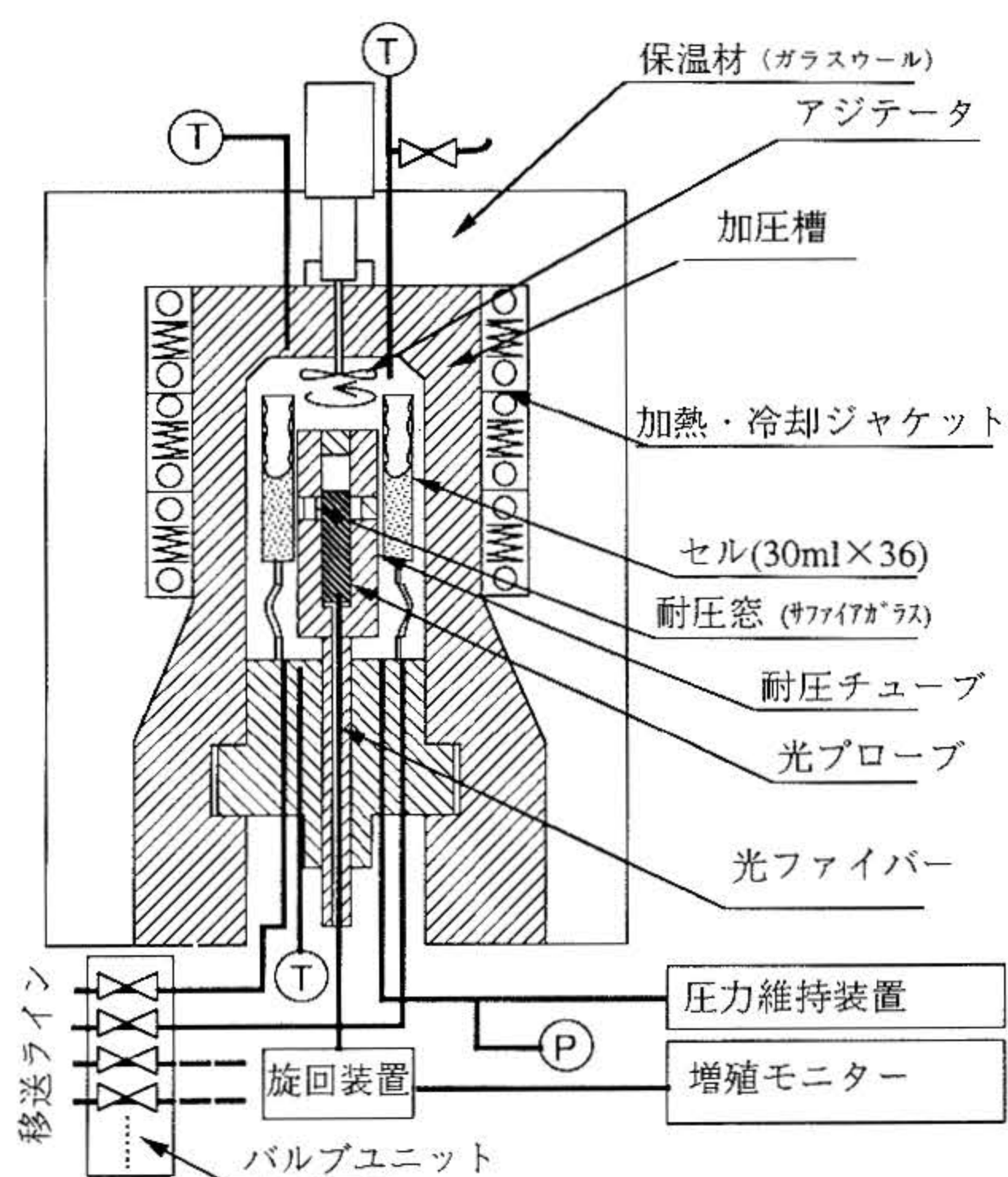


図11 深海微生物実験システムの分離装置の構造
Fig. 11 Schematic diagram of isolation device in DEEP BATH.

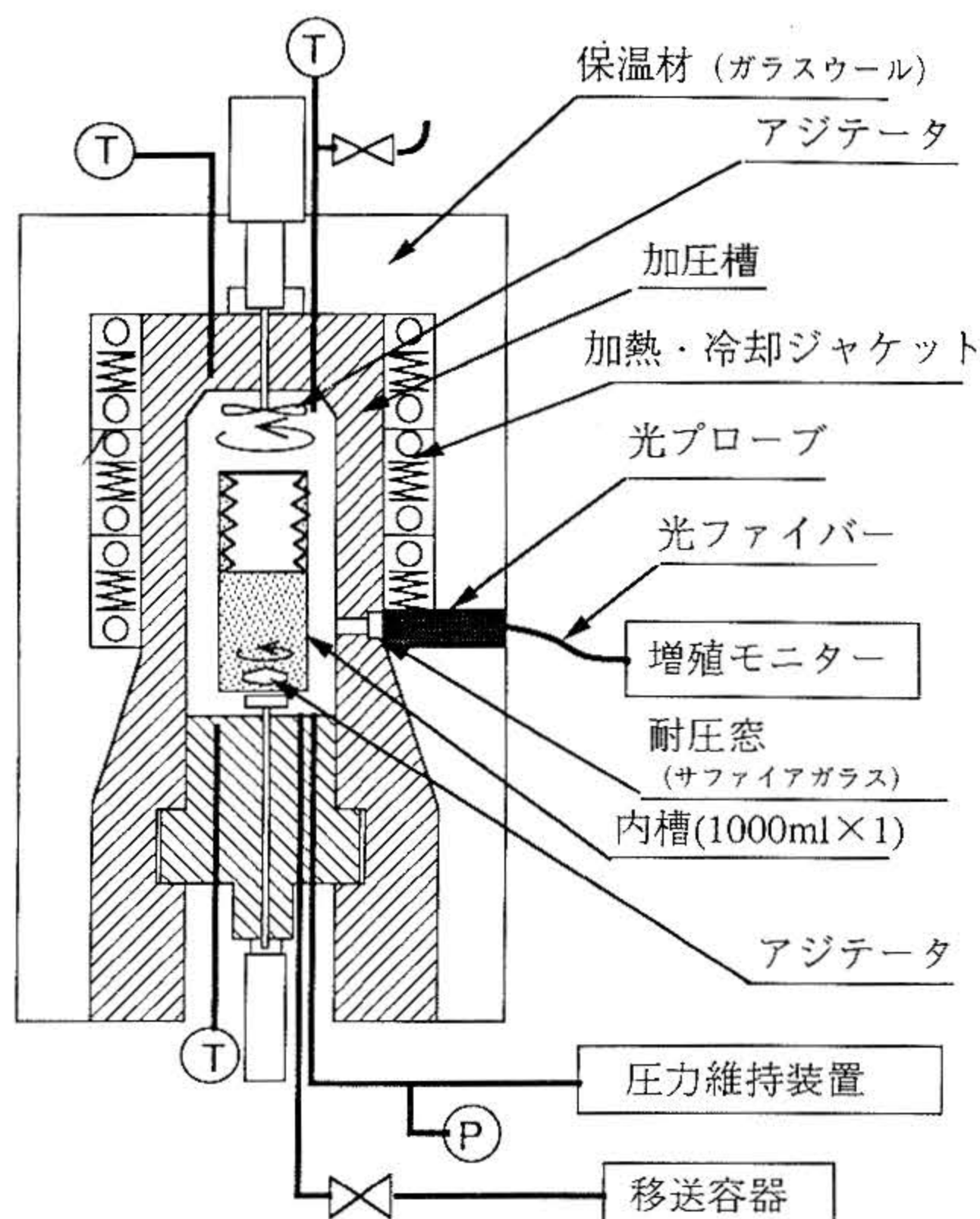


図12 深海微生物実験システムの培養槽の構造
Fig. 12 Schematic diagram of culture vessel in DEEP BATH.

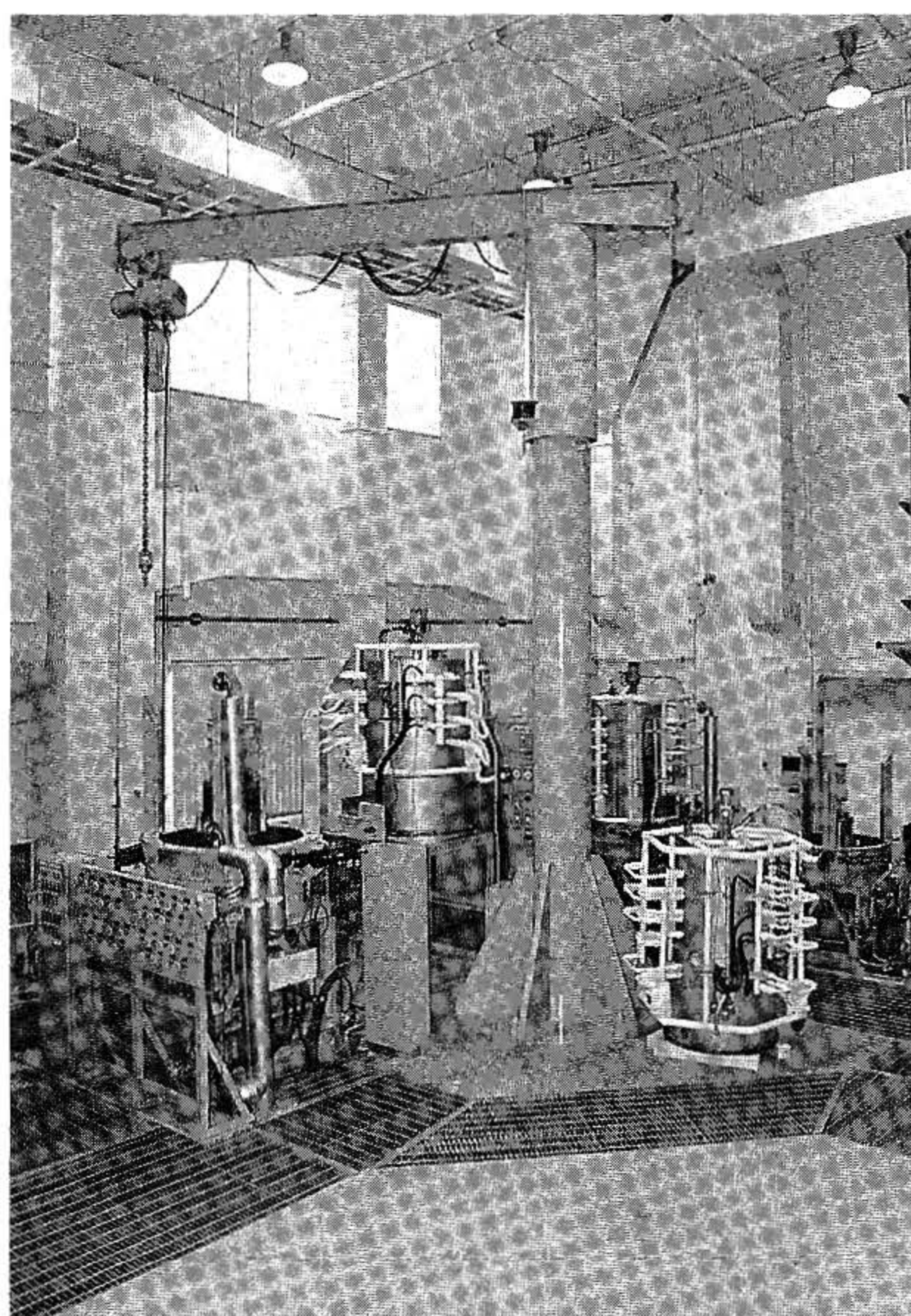


写真3 分離装置および培養槽
Photo 3 Isolation device and culture vessel in the laboratory.

ト、保温材料、耐圧チューブから構成されている。

高圧力、高温で使用する加圧槽の材料には、極力、薄肉とするために高張力鋼を使用している。また、高圧、高温という特殊環境下での金属腐食を防止するために、加圧槽内に充填する加圧媒体には純水を使用するとともに、加圧槽内面にNiメッキを施している。

加熱・冷却ジャケットは電気ヒーターと冷媒用配管を一体化したアルミニウム鋳造品で、その周囲を断熱材で覆っている。

また、加圧槽内には温度の均一化をはかるために高圧下でも作動するアジテータが設けられている。

写真3に実験室内におかれた分離装置および培養槽の外観を示す。

(4) 培養槽

培養槽は図12に示すように、分離装置と同様に、加圧槽、加熱・冷却ジャケット、保温材料、耐圧チューブから構成されているが、分離装置と違って、36本のセルに代わって1本のパイレックスガラス製内槽（容量1000ml）

が装着される。

微生物は内槽内の栄養源をすべて消化すれば、増殖が停止したり、自己消化を始めるが、この培養槽では圧力・温度を変えずに、新たな培地を供給することで、長期間の培養を続けることが可能である。

(5) 増殖モニター

増殖モニターは図13に示すように、レンズ、半導体レーザー光源、光ファイバー、A/Dコンバータ、CPUから構成されている。

半導体レーザー光源から出射された2本の光線は、光

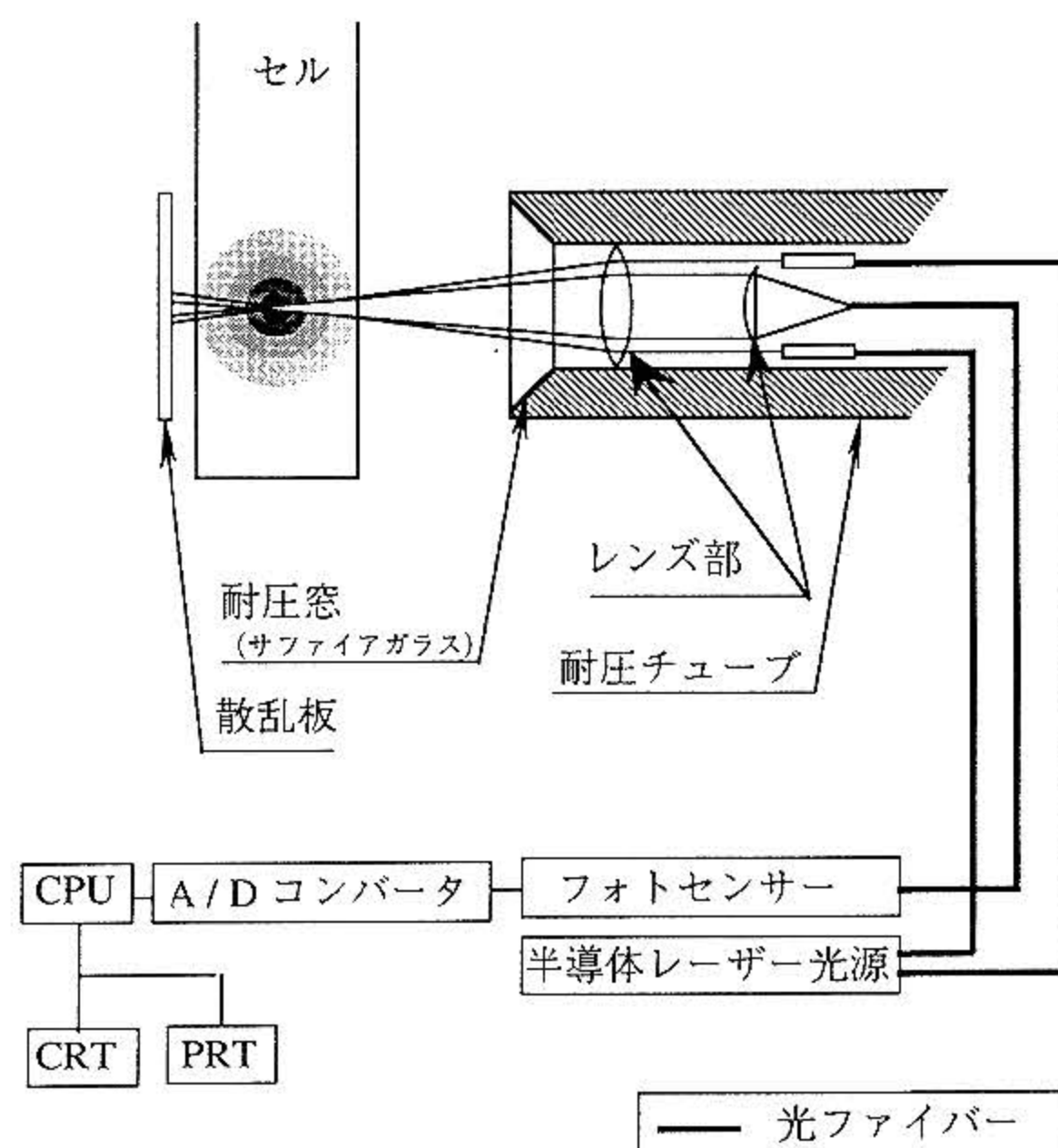


図13 深海微生物実験システムの増殖モニターの構造
Fig. 13 Schematic diagram of microbes density measuring system in DEEP BATH.

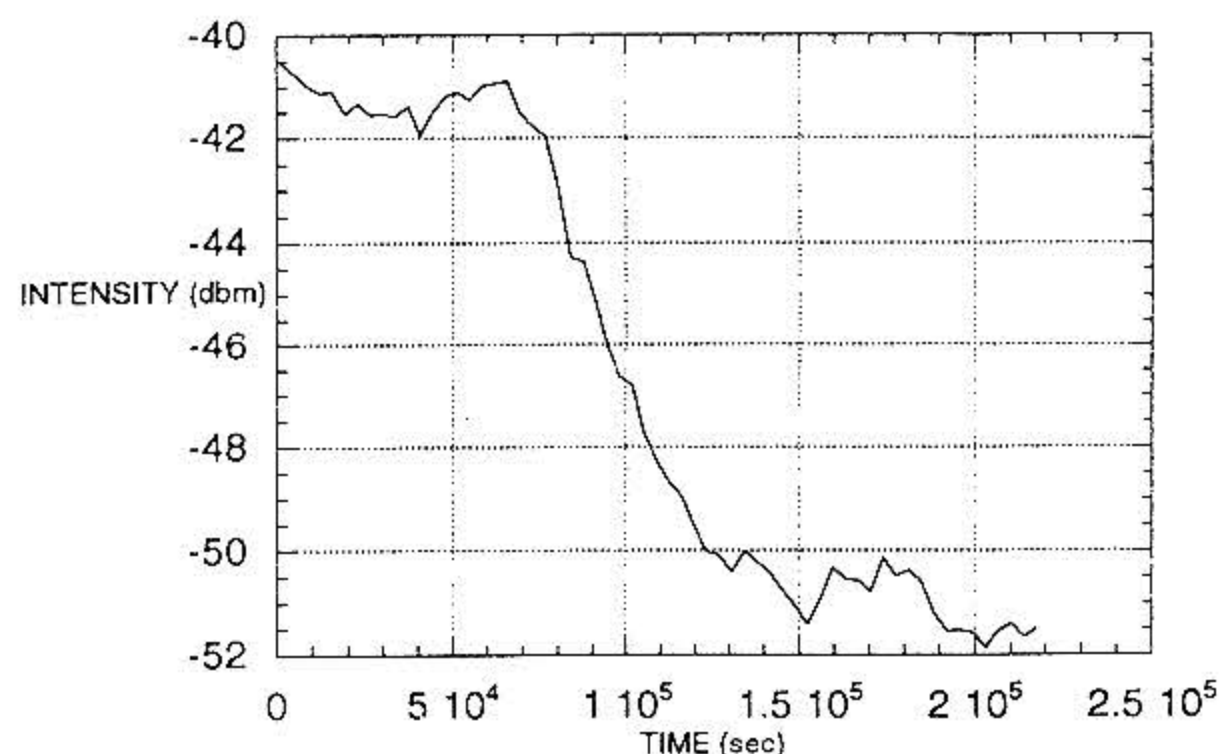


図14 増殖モニターの結果 (分離装置)
Fig. 14 Results of measuring microbes density (Isolation device).

ファイバーを介して、セル内部または内槽内部で焦点を結ぶ。そして散乱光は再びレンズ、光ファイバーを介して、フォトセンサーに集め、このフォトセンサーの光強度信号をA/D変換し、パソコンにてグラフ化およびデータの保存処理を行う。

分離装置および培養槽で大腸菌を増殖させ、その状況

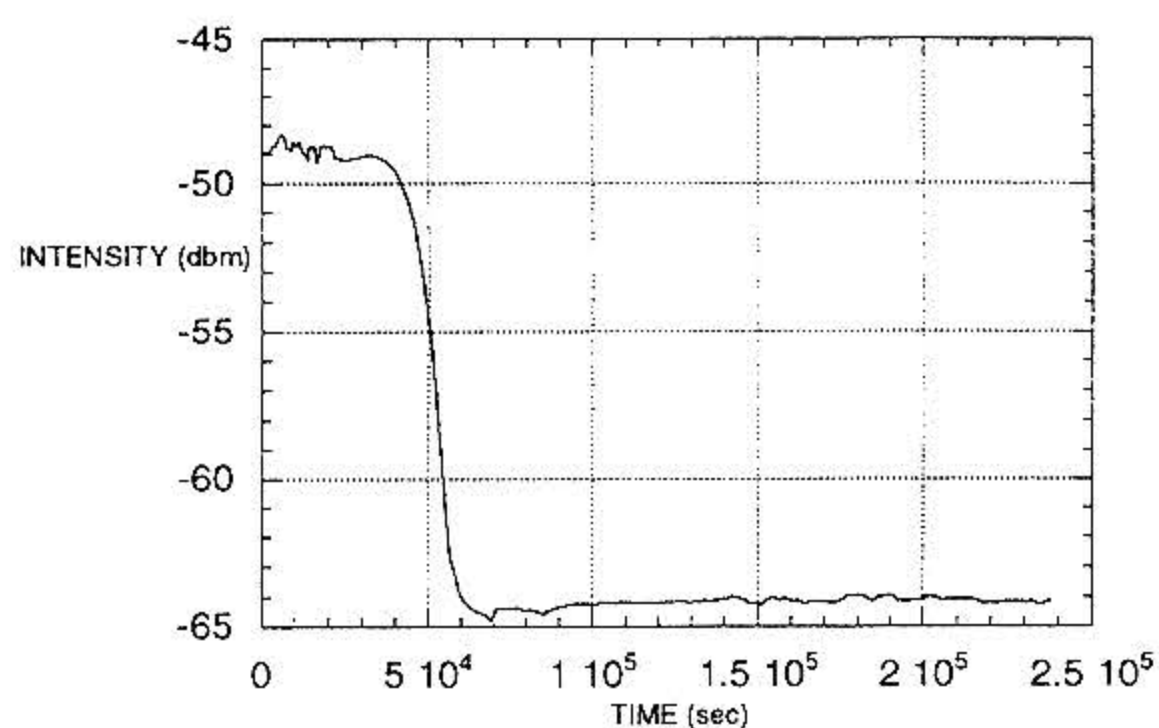


図15 増殖モニターの結果 (培養槽)
Fig. 15 Results of measuring microbes density (Culture vessel).

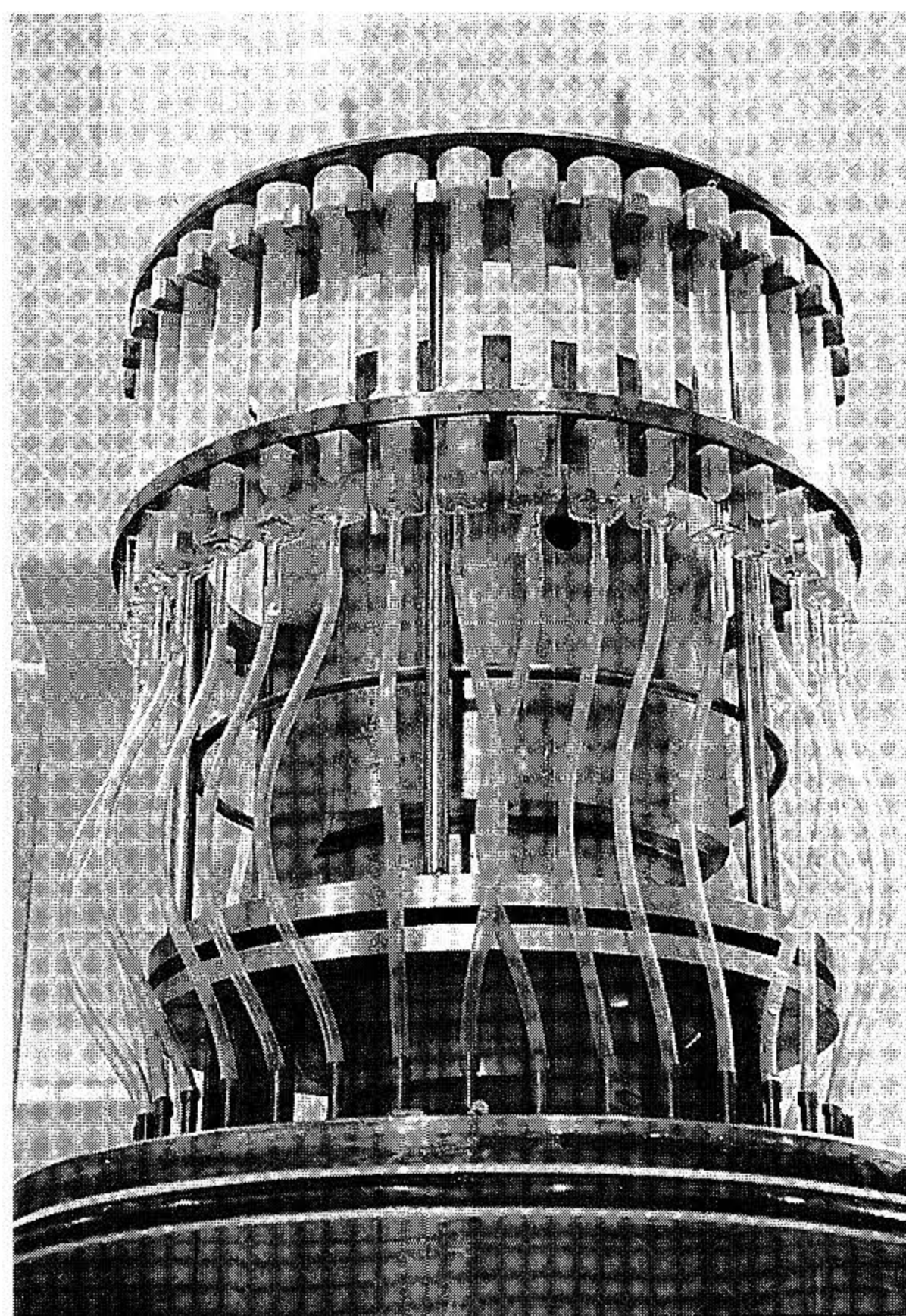


写真4 セルおよび耐圧チューブ
Photo 4 Cell and tube head.

をモニタリングしたのが図14および図15である。縦軸は散乱強度、横軸は時間である。ともにシグモイド曲線を描き増殖していることが読み取れた。分離装置は36本のセルの増殖状況を計測するために360°旋回するのだが、そのためデータが1 hr毎になる。

写真4にセルと耐圧チューブを示す。

4 おわりに

深海微生物研究の陸上での再現実験に必要な機器および技術の開発には深海環境因子として大きく分けて3つある。それらは化学的因子、物理的因子、生物的因子である。これまでの開発は、まず化学的環境を培地により再現し、物理的因子である圧力と温度を再現しようとした。「深海微生物実験システム」はその代表的なものといえよう。今後はその他の因子を含め、より厳密な深海環境の再現のための開発が行われ、深海微生物研究が大いに発展することと願うものである。

参考文献

- 1) Jannasch, H.W., Eimhjellen, K., Wirsen, C.O. and Farmanfarmaian, A. : Microbial degradation of organic matter in the deep sea, *Science*, **171**, 672-675. (1971)
- 2) Jannasch, H.W. and Wirsen, C.O. : Deep-sea microorganisms : in situ response to nutrient enrichment, *Science*, **180**, 641-643. (1973)
- 3) Jannasch, H.W. : Microbes in the oceanic environment. In : *The Microbe 1984*, Part II. Kelly, D. P. and Carr, N.G.(eds), Cambridge University Press. 97-122. (1984)
- 4) Tuttle, J.H., Wirsen, C.O. and Jannasch, H.W. : Microbial activities in the emitted hydrothermal waters of the Galapagos Rift vents. *Mar. Biol.*, **73**, 293-299. (1983)
- 5) 鋤崎俊二・辻 義人・長沼 毅・池本栄子・堀田 宏 : 深海底泥中における微生物の動態—分布特性および呼吸速度—, 海洋科学技術センター試験研究報告, **23**, 1-15. (1990)
- 6) 鋤崎俊二・辻 義人・池本栄子 : 駿河湾深海底泥中における微生物の増殖速度, 海洋科学技術センター試験研究報告, 225-232. (1990)
- 7) 日経サイエンス編集部, 深海微生物を効率よく捕まえる“深海現場培養法”, 日経サイエンス, **23** (7), 6-8. (1993)
- 8) Isaacs, J.D. : The nature of oceanic life. *Sci. Am.*, **221**, 146-162. (1969)
- 9) Seki, H., Wada, E., Koike, I. and Hattori, A. : Evidence of high organotrophic potentiality of bacteria in the deep ocean. *Mar. Biol.*, **26**, 1-4. (1974)
- 10) Larson, W.P., Hartzell, T.B. and Diehl, H.S. : The effect of high pressures on bacteria. *J. Infect. Dis.*, **22**, 271-279. (1918)
- 11) Seki, H. and Robinson, G.D. : Effect of decompression on activity of microorganisms in seawater. *Int. Review ges. Hydrobiol.*, **54**, 201-205. (1969)
- 12) Jannasch, H.W., Wirsen, C.O. and Winget, C.L. : A bacteriological pressure-retaining sampler and culture vessel. *Deep-Sea Res.*, **20**, 661-664. (1973)
- 13) Jannasch, H.W., Wirsen, C.O. and Taylor, C.D. : Undecompressed microbial populations from the deep sea. *Appl. Environ. Microbiol.*, **32**, 360-367 (1976)
- 14) Jannasch, H.W. and Wirsen, C.O. : Retrieval of concentrated and undecompressed microbial populations from the deep sea. *Appl. Environ. Microbiol.*, **33**, 642-646. (1977)
- 15) Jannasch, H.W. and Wirsen, C.O. : Microbial life in the deep sea. *Sci. Am.*, **236**, 42-52. (1977)
- 16) Tabor, P.S. and Colwell, R.R. : Initial investigations with a Deep Ocean Sampler. *Proceedings of OCEAN'76, MTS-IEEE*, **13D**, 1-4. (1976)
- 17) Tabor, P.S., Deming, J.W., Ohwada, K., Davis, H., Waxman, M. and Colwell, R.R. : A pressureretaining deep ocean sampler and transfer system for measurement of microbial activity in the deep sea. *Microb. Ecol.*, **7**, 51-65. (1981)
- 18) Gunderon, K.R. and Mountain, C.W. : A pressure and temperature preserving sampling, transfer, and incubation system for deep sea microbiological and chemical research. In : Brauner, F.W. (ed), *Barobiology and the Experimental Biology of the Deep Sea*, University of North Carolina, Chapel Hill, 413-420. (1972)
- 19) Yayanos, A.A., Dietz, A.S. and Van Boxtel, R. : Obligately barophilic bacterium from the Mariana Trench. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**, 5212-

5215. (1981)
- 20) 中山昭彦・吉田勝彦・小林正三・田原陽三・内田基春：深海性魚類からの好圧微生物の分類. 日本水産学会春季大会講演要旨集, 講演番号664. (1990)
- 21) 許 正憲・加藤豊文・鎌田佳伸・柏木孝夫：気泡を含む複合材料の有効熱伝導率. 日本機械学会論文集 (B編), 60 (570), 224-231. (1994)
- 22) 許 正憲・柏木孝夫・加藤豊文・鎌田佳伸：高圧水中下で有効な複合材料の保温特性. 繊維学会誌, 50 (7), 282-289. (1994)
- 23) Kyo, M. and Itoh, T.: Fundamental experiment of thermoelectric module for the deep sea use. 第15回日本熱物性シンポジウム, (印刷中). (1994)
- 24) 許 正憲・高川真一・橋本 惇・松沢誠二：保圧型深海微生物採集器の開発. 海洋科学技術センター試験研究報告, 20, 19-30. (1988)
- 25) 鋤崎俊二・辻 義人：保圧型微生物採取・培養装置を用いた深海微生物の培養. しんかいシンポジウム報告書, 359-366. (1992)
- 26) 池本栄子・許 正憲：小型無菌採泥器の開発. 海洋科学技術センター試験研究報告, 30, 1-16. (1993)
- 27) Jannasch, H.W. and Wirsén, C.O. and Taylor, C.D.: Deep-sea bacteria: Isolation in the absence of decompression. *Science*, 216, 1315-1317. (1982)
- 28) Taylor, C.D.: Solubility properties of oxygen and helium in hyperbaric systems and the influence of high pressure oxy-helium upon bacterial growth, metabolism, and viability. In: Jannasch, H.W., Marquis, R.E. and Zimmerman, A.M.(eds), *Current Perspectives in High Pressure Biology*, Academic Press, London, 111-128. (1987)
- 29) 上村一雄・布施博之・山岡到保：高圧下における微生物単離装置の試作. 中国工業技術試験所報告, 31, 73-80. (1988)
- 30) 岡見吉郎・今田千秋・山県民敏：無気相高圧下で好圧微生物を培養, 分離, 保存するための新装置. 発酵工学会誌, 69 (3), 163-167. (1991)
- 31) Taylor, C.D. and Jannasch, H.W.: Subsampling technique for measuring growth of bacterial cultures under high pressure. *Appl. Environ. Microbiol.*, 32, 355-359. (1976)
- 32) Yayanos, A.A. and Dietz, A.S.: Death of hadal deep-sea bacterium after decompression. *Science*, 220, 497-498 (1983)
- 33) 長沼 毅：深海微生物学における機器開発・技術開発. *Pro. Adv. Mar. Tech. Conf.*, 4, 33-45. (1991)

(原稿受理: 1994年8月26日)