

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：82706

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24657057

研究課題名(和文) 暗闇で何を見ているのか？深海生物の視覚行動学的研究

研究課題名(英文) Guess what deep-sea organisms are looking at?

研究代表者

鶴若 祐介 (TSURUWAKA, Yusuke)

独立行政法人海洋研究開発機構・海洋・極限環境生物圏領域・技術研究副主任

研究者番号：30533856

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：洞窟など地底湖に生息する生物のほとんどは、眼が退化している。しかしながら、それらの生物より遥かに長い時代を暗黒世界に生きる深海生物は、なぜ眼が退化していないのであろう？眼は機能しているのだろうか？その問いの答えが本研究結果から示された。

深海魚ヤマトコブシカジカは、しっかりと眼で対象物を認識し、さらには色を学習し、暗闇でも識別できることが示唆された。また、眼を持たない原始的な生物である深海イソギンチャクは光を識別し、波長の変化を感知できることが分かった。

研究成果の概要(英文)：Most organisms living in underground lake in caves have their eyes degenerated. On the other hand, why do organisms living in the deep-sea environment keep the eyes even though they reside in the same darkness for much longer periods of time than those in the underground lakes? Are their eyes really functional? Answer of the question was indicated from the research conducted here.

The study results have indicated that the deep-sea fish, Malacocottus gibber, had recognized the objects readily with their eyes. The fish exhibited to be able to learn and discriminate the several colors in the darkness. Moreover, the deep-sea anemone, which is known to be a primitive organism and does not form the eyes, was aware of a light with recognizing the change of wavelength.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・動物生理・行動

キーワード：深海生物 暗黒世界 視覚様感覚

### 1. 研究開始当初の背景

#### 深海生物は、何故、眼があるの？

洞窟など地底湖に生息する生物（主に魚類や甲殻類）のほとんどは、眼が退化している。しかしながら、それらの生物より遥かに長い時代を暗黒世界に生きる深海生物は、なぜ眼が退化していないのであろう？

これまで、その側面を行動学的に解析した報告はほとんどない。なぜなら、深海生物の生体における長期のラボ飼育は困難（急激な圧力や温度の変化、捕獲のための深海底への到達など）を極め、研究室環境で解析できなかったのである。しかしながら、近年、申請者らはラボ環境において7種の深海生物（脊椎動物4種、無脊椎動物3種）の3年以上の長期飼育から産卵・孵化、繁殖に成功し、報告した。このことから漸く深海生物をラボ環境で研究できるようになった。

### 2. 研究の目的

深海生物が暗黒世界で“何”を見ているのか解き明かす!!!

### 3. 研究の方法

#### 【初期候補：深海脊椎動物】

#### 魚類の視覚における色彩“学習”実験

初期候補の実験魚として水深250~1,740mに生息するヤマトコブシカジカ (*Malacocottus gibber*) を用いた (図1)。

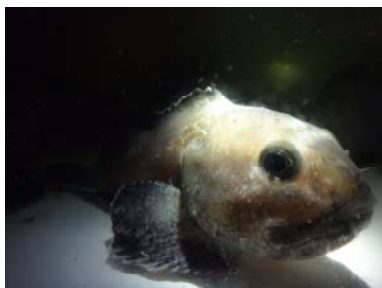


図1 深海魚ヤマトコブシカジカ

実験は独立行政法人海洋研究開発機構・深海総合研究棟の608低温実験室で行った。色彩及び弁別学習実験には、8色（紫・青・緑・黄・橙・赤・白・（黒は弁別のみ））に着色したABS樹脂（AcrylonitrileとButadieneStyreneを共重合合成させた樹脂）とシリコン製の円柱体を用いた（図2）。各円柱体を9cm間隔

で同時に垂直呈示し、一番好む色彩を持つ円柱体を解析した。次いで、その円柱体をつつくもしくは引っ張るとその報酬として給餌し、弁別学習をさせた（図3）。



図2 カラーシリコン円柱体

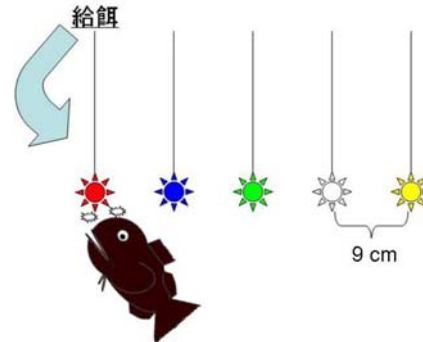


図3 弁別学習実験イメージ

刺激呈示開始後1分以内に円柱体をつついた場合を正答とし、1週間以上連続して正答率が8割以上となった個体を行動実験に供した。各球体で最もつづく率の高かった数色を正刺激、それ以外を負刺激とした。

弁別学習において、呈示された刺激の色と明度情報いずれかを弁別していたのかを同定するため、負刺激と正刺激を同時に呈示し観察する移調試験を行った。実験水槽は横160cm×高さ40cm×奥行45cmの透明アクリル水槽を用いた。水深は40cm一定とし、濾過装置やエアレーションにより水質・溶存酸素量を安定させた。また、サーモスタッド・クーラーを使用し、飼育時の水温を2℃一定とした。

#### 【第2候補：深海無脊椎動物】

#### 刺胞動物における光応答実験

実験には、初期候補と同じ生息域で捕獲された深海イソギンチャク *Cribrinopsis* sp.を用いた（図4）。



図4 深海イソギンチャク

照射実験検体は、実験の 12 時間以上前に実験水槽 (30cm×30cm×30cm) に移し、照射実験は 1 検体ずつ (1 個体/水槽) 行った。照射実験には、2 種類の光源 (青 470nm、赤 630nm) を用いた。光刺激に対する行動観察は、3 段階のステップで構成させ、実験を行った。① 30 分間暗闇の中で通常の行動様式を観察、② 1000 lx の光を片側から水平方向に 60 分間照射させ、応答反応を観察、③再度、暗闇で 60 分間、光に応答後の反応を観察。同様に、イソギンチャクがどこまでの光を感知できるのか僅かな光 (≈1 lx) に対して照射実験を行った。実験は 2 つの過程で構成させた。①30 分間暗闇で観察、②1 lx の青色光 (470nm) を水槽側面から 15 分間照射させ、観察。全ての実験は赤外線暗視ビデオカメラで撮影し、行動を記録した。

#### 4. 研究成果

(※実際の実験は、ランダムで色の並びを変えて行ったが、研究成果報告書の図では、分かり易いように全て同じ色の並びで掲載した。)

##### 【初期候補：深海脊椎動物】

色彩学習実験の結果、正刺激は、赤・橙・黄であり、負刺激は、白・緑・青・紫であった。これらの結果を踏まえ、移調試験を行った結果、明視野では、深海では吸収される色である赤、橙色、そして、実際には学習させていない黒の順で正刺激として認識する傾向が観察された (図 4)。



図 4 明視野における色彩認識

一方、暗黒状況下においては、赤と橙色がほぼ同率、次に黄色の順で正刺激とする傾向が観察された。また、名視野同様、次点で黒色、

さらに、名視野では負刺激である青、紫を刺激する様子が観察された (図 5)。

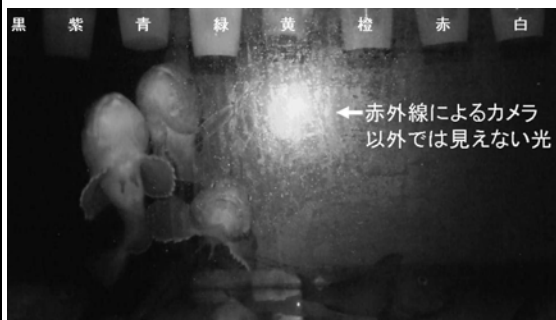


図 5 暗闇で青に群がる深海魚

次いで、各円柱体にライトを装着し、点滅させたところ、青にのみ反応 (つつくまたは、点滅を凝視) する様子が観察された (図 6)。



図 6 暗闇で青に群がる深海魚

明視野において色を認識できたことから、深海魚の眼が視覚として機能していることが分かった。さらに、暗闇でも、“赤”を正刺激としたことから、ヤマトコブシカジカは学習能力があり、視覚を含む何らかの感覚により色を認識している可能性が示唆された。ちなみに、ヤマトコブシカジカの生息域である日本海深海には、大きく分けて 2 つの色系統の生物しか見つかっていない。例えば、赤系統では、ザラビクニン、コイボイソギンチャク、トヤマエビなどの深海種が存在し、黒系統の生物は、捕食者であるヤマトコブシカジカやゲンゲといった底生魚が生息する。ヤマトコブシカジカは、実際に、赤いエビなどを捕食している。もしかしたら、“赤”を好む傾向は、それら赤系統の生物を捕食するために獲得もしくは残った感覚なのかもしれない。また、黒を認識したのは、ヤマトコブシカジカが黒系統の色素を有するため、仲間と誤認した可能性も考えられる。一方、暗闇で“青”を、特

に点灯させた状態を認識した理由は分からない。しかしながら、第2候補深海無脊椎動物でも、興味深い知見が得られたため、こちらで合わせて議論する。

【第2候補：深海無脊椎動物】

消灯時の口盤は胴体の直径とほぼ同じ大きさで開いていた。しかし、青色光が点灯されると同時に口盤の拡張と胴体の収縮が始まった(図7)。この形状変化は照射後すぐに始まり、約10~15分で変化のピークを迎えた。その後、緩やかに消灯時の状態に戻った。この変化は青色光を照射した全ての検体で観察された。光の色を赤色に変えたところ、応答時間の遅延や反応強度の低減が見られたものの形状変化のパターンは同じであった。検体によっては(特に大きい個体)は光源方向に口盤を傾げるような行動も見られた。弱い光(1 lx)に対しても *Cribrinopsis* sp. は反応し、反応強度は幾分小さいものの上記同様の形状変化を示した。

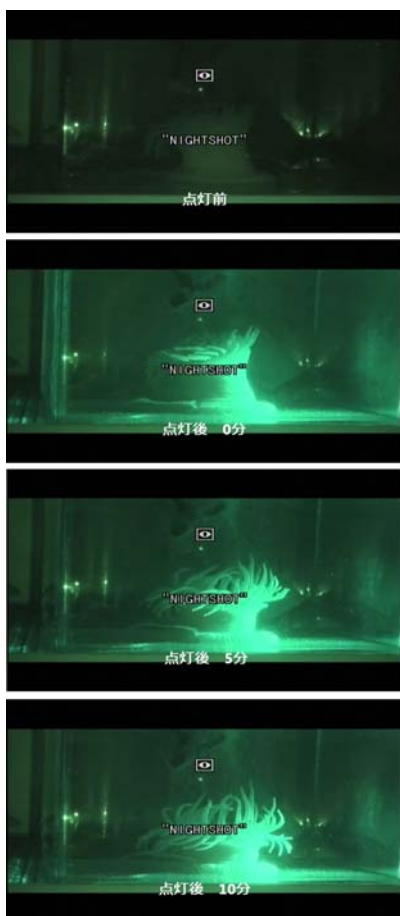


図7 光に反応する深海イソギンチャク

それら形状変化を数値化してグラフにしたものが図8である。470nm照射時の形状変化(青線)と630nm照射時の変化(赤点線)を示している。灰色の背景は消灯、白色は点灯時を表した。

口盤の直径を胴体の長さで割った値をプロットして示した。つまり、口盤が拡大もしくは胴体が収縮、またはその両方が増進するほど数値が高くなる。グラフから、消灯時の値は1.0-1.5であり、点灯とともに値は急上昇し、ピーク時には2.0-3.0となる。

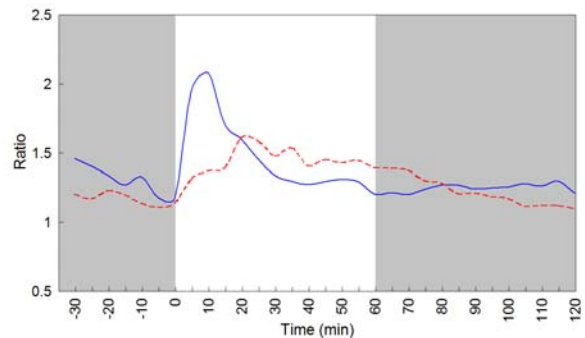


図8 形状変化を比で表したグラフ

これらの結果から、深海イソギンチャク *Cribrinopsis* sp. は光を感知する能力を持っており、特に青系統の光に敏感に反応することが示された。ヤマトコブシカジカ同様イソギンチャクにおいても反応した青系統の光、470nmの波長は、Haddockらの研究から、生物発光で一般的な波長であると報告されている。実際に、CraigやJohnsenら2つの研究グループにより、海底ではサンゴや岩などの構造物に発光プランクトンが衝突し発光するため、解放水域よりも頻繁に生物発光が起こる可能性が示唆されている。これらの報告から、深海では日常的に青系統の光を目撃することが多く、深海生物にとって生物発光など青い光は、捕食など何かの指標になっているのではないだろうか。全く種の異なる深海魚とイソギンチャクで同様の波長に反応する様子が観察されたことは、実に興味深い。種に拘るだけでなく、生命の多様性を理解するためには、このような“種を超えた共通の感覚”を調べることも

今後、さらに重要になると思われる。

本研究成果を以下にまとめる。

(1) 深海魚の眼は機能しており、暗闇で色を識別できる可能性がある。

(2) 深海魚及び深海イソギンチャクは、青系統の波長に敏感に反応する。

「我々にとって深海は、暗黒世界である。しかしながら、彼らにとって深海は、我々が想像するよりも遥かに鮮やかな世界であるかもしれない。

本研究によって、眼の機能や光を感知する能力が示されたことから、今後、深海生物が、色や光を感知する能力を維持する理由や深海における光の役割についても更なる研究が必要であるだろう。それに伴って、角膜レンズ・円錐晶体・視細胞・ラブドーム・基底膜など眼に関する構造学的解析も有意義であるかもしれない。実際に、深海甲殻類などの視覚に関する研究では、クチクラ・クチクラ産生細胞・ラブドームで構成されている眼で暗黒の中を“認識”している可能性も示唆されている。また、進化的側面からアプローチする場合、原始生物であるイソギンチャクは、感光メカニズムから、視覚がどのように誕生し、発達してきたかを解明する上で非常に有用な生物となるだろう。

最後に、本研究に用いたイソギンチャクは、Nadya Sanamyan 博士らの研究グループの御助力により、新種の可能性があり、現在、新種 *Cribrinopsis japonica* sp. として、登録及び論文投稿中である。

##### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 4 件)

① Y. Tsuruwaka, E. Shimada, T. Ogawa, Y. Hatada: “A Novel Biomaterial: Fibroblast-Derived Cell Sheet Secreting Marine Collagen”, *J. Biomater. Tissue Eng.*

[Accepted] (2014), 査読有

② Y. Tsuruwaka, E. Shimada, M. Kikuchi, Y. Hatada: “Characteristics of established KSG cells derived from the scorpionfish *Sebastes marmoratus*: what happens under the hydrostatic pressure like the deep sea?”, *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 50. 439-444 (2014), 査読有

③ Y. Shimane, Y. Tsuruwaka, M. Miyazaki, K. Mori, H. Minegishi, A. Echigo, Y. Ohta, T. Maruyama, W. D. Grant, Y. Hatada: “*Salinisphaera japonica* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from the surface of a deep-sea fish, *Malacocottus gibber*, and emended description of the genus *Salinisphaera*”, *Int J Syst Evol Microbiol.* 63. 2180-2185 (2013), 査読有

④ Y. Ohta, Y. Tsuruwaka (17 人中 8 番目): “Screening and Phylogenetic Analysis of Deep-Sea Bacteria Capable of Metabolizing Lignin-Derived Aromatic Compounds”, *Open Journal of Marine Science.* 2. 177-187 (2012), 査読有

〔学会発表〕(計 12 件)

① 鶴若 祐介、渦動激動!、第 36 回日本分子生物学会年会、2013 年 12 月 6 日、神戸国際展示場、兵庫県

② T. Ogawa, E. Shimada, Y. Hatada, Y. Tsuruwaka, Method to produce the fat from the fish cells, The 36th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, 2013 年 12 月 3 日、神戸国際展示場、兵庫県

③ Y. Tsuruwaka, E. Shimada, T. Ogawa, Y. Hatada, KSC fish cell encounters to mammalian expression vectors, The 36th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, 2013 年 12 月 3 日、神戸国際展示場、兵庫県

④ 小川 智久、秦田 勇二、鶴若 祐介、魚類細胞から脂肪を作り出す方法、平成 25 年

度日本水産学会秋季大会、2013年9月19日、三重大学、三重県

⑤Y. Ohta, Y. Tsuruwaka (16人中7番目), DEEP-SEA BACTERIA CAPABLE OF METABOLISING LIGNIN-RELATED AROMATIC COMPOUNDS, The 5th Congress of European Microbiologists, 2013年7月24日, Leipziger Messe, ライプツィヒ

⑥Y. Hatada, Y. Tsuruwaka (14人中4番目), AGARASES AND CARRAGEENASES ISOLATED FROM DEEP-SEA MICROBIOTA, The 5th Congress of European Microbiologists, 2013年7月24日, Leipziger Messe, ライプツィヒ

⑦滋野 修一、鶴若 祐介 (14人中12番目)、熱水適応種における環境センシング —網羅的RNAseq解析と生体センサ素子の提供—、ブルーアース2013、2013年3月15日、東京海洋大学、東京都

⑧T. Ogawa, Y. Hatada, Y. Tsuruwaka, Amazing characteristics of the KSC cell line, The 35th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, 2012年12月11日, 福岡国際会議場, 福岡県

⑨Y. Tsuruwaka, T. Ogawa, Y. Hatada, Our fish cell can change!, The 35th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, 2012年12月11日, 福岡国際会議場, 福岡県

⑩ Y. Ohta, Y. Tsuruwaka (19人中8番目), Isolation and phylogenetic analysis of Lignin-related Aromatic Compound Metabolizing Bacteria from the Deep sea, Lignobiotech II symposium, 2012年10月14日, アクロス福岡, 福岡県

⑪Y. Hatada, Y. Tsuruwaka (13人中6番目), Agarases and Carrageenases found from Deep-sea Bacteria, The 9th Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference, 2012年7月13日, 高知市文化プラザ, 高知県

⑫Y. Ohta, Y. Tsuruwaka (16人中9番目),

Exploration of lignin-related aromatic compound metabolising bacteria from the deep-sea, The 9th Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference, 2012年7月13日, 高知市文化プラザ, 高知県

〔その他〕  
ホームページ等

<http://www.jamstec.go.jp/biogeos/j/mbrp/mber/>  
<http://www.jamstec.go.jp/biogeos/e/mbrp/mber/>

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

鶴若 祐介 (TSURUWAKA, Yusuke)

独立行政法人海洋研究開発機構・海洋・極限環境生物圏領域・技術研究副主任

研究者番号：30533856