

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 2 日現在

機関番号：82706

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14571

研究課題名(和文) 暗闇で仲間を認識するゴエモンコシオリエビの感知能力を探る

研究課題名(英文) Sensing of homogenous individuals in Shinkaia crosnieri living under darkness

研究代表者

和辻 智郎 (WATSUJI, Tomo-o)

国立研究開発法人海洋研究開発機構・次世代海洋資源調査技術研究開発プロジェクトチーム・特任技術研究員

研究者番号：50409091

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：ゴエモンコシオリエビは殻に含まれる蛍光体から発せられた光を感知することで仲間を認識すると仮定し、研究を開始した。しかし、行動実験からそれを確かめることはできなかった。一方で、ゴエモンコシオリエビはエラ近くの付属肢を使って内因性の水流を起こし、体に付着した外部共生菌の代謝活性を増強させることや外因性の水流を感知し、水流の強い場所に群がるのが実験室レベルで分かった。そのため、現場環境においてゴエモンコシオリエビが群集を形成する要因の一つは外因性の水流にあることが強く示唆された。

研究成果の概要(英文)：We tested the hypothesis that *Shinkaia crosnieri* recognizes homogenous individuals by sensing of light emitted from fluorescence substance including each shell. But, it was not demonstrated from a behavioral experiment. On the other hand, we found under laboratory conditions that *S. crosnieri* creates internal water stream using its appendages and increases metabolic activity of epibiotic bacterial community associated with its body and that *S. crosnieri* individuals perceive external water stream and aggregate in an area with strong water current. Thus, these results were strongly suggested that one of the factors affecting the colonization of *S. crosnieri* in natural environments is the external water stream.

研究分野：極限環境共生学

キーワード：蛍光物質 光感知 水流感知 行動実験

1. 研究開始当初の背景

沖縄トラフの深海熱水域にはバクテリア(外部共生菌)を体毛に付着させたゴエモンコシオリエビが一面に生息している。これまでに外部共生菌が化学合成細菌であることや宿主動物の栄養源となることを明らかにし(Watsuji, ISME J 2015, Watsuji, ISME J 2014)、1977年に深海熱水噴出孔が発見されて以来の謎であった「宿主動物と外部共生菌の栄養的な共生関係」を世界に先駆けて実証することに成功した。

この研究を通じて、ゴエモンコシオリエビの甲殻や体毛に蛍光物質が含まれることが見出された。蛍光物質はUVや放射線の照射で蛍光(可視光)を発するが、ゴエモンコシオリエビが生息する沖縄の熱水噴出域からは有意な放射線(最高強度 7667 cps)が検出されている(Hattori, JAMSTEC J 2001)。このため、ゴエモンコシオリエビは深海の暗闇の中で、蛍光を発していると考えられた。また、深海で暮らすゴエモンコシオリエビの眼は退化しているため、光を知覚できないと考えていたが、捕獲したゴエモンコシオリエビに強い光(36000K)を照射すると自身のハサミで触覚を切断する行動が見られた。これらの結果からゴエモンコシオリエビは触覚で光を感知すると予想された。また、ゴエモンコシオリエビは熱水噴出孔周辺で折り重なって生活し、仲間同士で争うことはしない。つまり、ホタルが蛍光を発して仲間とコミュニケーションを取るようにゴエモンコシオリエビは放射線による蛍光発光と触覚による光感知で敵と仲間を識別すると予想された。深海熱水域に生息する動物の光感知に関する研究は外部共生菌を付着させたツノナシオハラエビでなされており、背中の背上眼と呼ばれる器官で、高温熱水から出る光(White, J Geo Res 2002)を感知して熱水の位置を把握していると考えられている(Van Dover, nature 1989)。しかし、この考察は背上眼の形態学的な観察と可視光を吸収する背上眼色素の存在を根拠としているだけである。

2. 研究の目的

本研究ではゴエモンコシオリエビの蛍光物質を特徴付けることと進化の過程で獲得したと考えられる蛍光物質の生理的役割を解明することを目的とした。また、ゴエモンコシオリエビの群集は熱水噴出域から放出される放射線で蛍光物質を光らせ、その光を触覚で感知して仲間を認識するという蛍光物質の生理的役割を想定した。従って、本研究では蛍光発光によるゴエモンコシオリエビの仲間認識と触覚によるゴエモンコシオリエビの光感知を行動実験で証明する。

熱水噴出域の深海動物における光知覚の研究は死んだ個体の顕微鏡観察や化学分析などの静的情報に基づく推定的な研究であったが、本研究が目指す深海動物研究は生きた個体を用いた行動実験を含む動的情報に

基づく本質的な研究である。つまり、本研究は生きたゴエモンコシオリエビを用いて光感知や蛍光物質の活用法を実験的に明らかにするという深海動物の生態の本質に迫る挑戦的な取り組みとなる。

3. 研究の方法

ゴエモンコシオリエビの蛍光物質を特徴付けるため、逆相カラムで甲殻の抽出物から蛍光物質を精製し、NMR解析によって構造の決定を行った。ゴエモンコシオリエビが放射線による蛍光物質の発光を利用して仲間を認識することを証明するため、暗条件と明条件で、ゴエモンコシオリエビの行動実験を行った。ゴエモンコシオリエビは暗条件で光による仲間認識ができないと予想されるため、ゴエモンコシオリエビが仲間と争うことを観察した。一方で、ゴエモンコシオリエビは明条件や蛍光発光条件で反射光や蛍光発光を感知して仲間認識ができると予想されるため、仲間同士で争いが起こらないことを観察した。また、ゴエモンコシオリエビは触覚で光を感知することを証明するため、触覚を切断したゴエモンコシオリエビを用いて同様の行動実験を行った。触覚を失ったゴエモンコシオリエビは光を感知できないと予想されるため、明条件や蛍光発光条件でも仲間を認識できずに争うかどうかを観察した。

本研究では、生きたゴエモンコシオリエビを行動実験に用いるまでゴエモンコシオリエビを水槽で維持管理しなければならない。そのためには、水槽に硫化水素ガスやメタンガスを供給して、ゴエモンコシオリエビのエサとなる外部共生菌を育てる必要がある。研究代表者はこのような可燃性・毒性のあるガスを安全に飼育水に供給する装置(特許技術)を開発したため、その技術を用いてゴエモンコシオリエビを維持管理した。

4. 研究成果

平成27年度よりゴエモンコシオリエビの外骨格から蛍光物質の抽出と精製を行い、平成28年度にはNMRを用いた蛍光物質の構造解析を行った。しかしながら、抽出液に含まれていたトリエチルアミンが蛍光物質と相互作用し、それらの混合物として構造解析したため、蛍光物質の構造を決定できなかった。そこで、外骨格から蛍光物質を抽出する際、トリエチルアミンを用いない抽出方法を再検討し、その方法を確立した。さらに、HPLCを用いた抽出蛍光物質の精製方法を確立し、近々、NMRを用いた蛍光物質の構造解析を行う予定である。また、これまで深海熱水域の動物における光感知実験には死んだ動物が用いられていたが、本研究では生きた深海動物が用いられた。しかしながら、本研究では触覚の有無にかかわらず、ゴエモンコシオリエビにおいて有意な光感知行動を見出すことができなかった。一方で、ゴエモンコシオ

リエビはエラの近くにある付属肢を用いて水流を起こし、腹側の体毛に付着する外部共生菌の代謝活性を増強させることや外因性の水流を求めて群がるのが実験室の行動実験から証明された。本研究からゴエモンコシオリエビがどのように仲間を認識するかは分からなかったが、行動実験によって外因性の水流が群集形成の要因となることが強く示唆された。また、蛍光物質の生理的意義は今後、その構造を決定することで明らかにしたいと考えている。

<引用文献>

Hattori, M. and Okano, M. (2001) New results of sea bottom radioactivity measurement. *JAMSTEC J*, **18**: 1-13

Van Dover CL, Szuts EZ, Chamberlain SC, Cann JR (1989). A novel eye in 'eyeless' shrimp from hydrothermal vents of the Mid-Atlantic Ridge. *Nature*, **337**: 458-460.

Watsuji, T.-o., Yamamoto, A., Motoki, K., Ueda, K., Hada, E., Takaki, Y., Kawagucci, S., and Takai, K. (2015) Molecular evidence of digestion and absorption of epibiotic bacterial community by deep-sea crab *Shinkaia crosnieri*. *ISME J*, **9**: 821–831

Watsuji, T.-o., Yamamoto, A., Takaki, Y., Ueda, K., Kawagucci, S., and Takai, K. (2014) Diversity and methane oxidation of active epibiotic methanotrophs on live *Shinkaia crosnieri*. *ISME J*, **8**: 1020–1031

White SN, Chave AD, Reynolds GT (2002). Investigations of ambient light emission at deep-sea hydrothermal vents. *J Geophys Res Solid Earth*, **107**: 1-13.

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 7件)

Watsuji T.-o., Tsubaki R., Chen C., Nagai Y., Nakagawa S., Yamamoto M., Nishiura D., Toyofuku T. and Ken Takai K. (2017) Cultivation mutualism between a deep-sea vent galatheid crab and its chemosynthetic

epibionts. *Deep-Sea Research Part I* (査読有), (In press)

和辻智郎 (2017). 深海外部共生研究分野の成果と展望. *日本微生物生態学会誌* (査読無), **32**: 4-5.

Mino S., Nakagawa S., Makita H., Toki T., Miyazaki J., Sievert S. M., Polz M. F., Inagaki F., Godfroy A., Kato S., Watanabe H., Nunoura T., Nakamura K., Imachi H., **Watsuji T.-o.**, Kojima S., Takai K., and Sawabe T. (2017) Endemicity of the cosmopolitan mesophilic chemolithoautotroph *Sulfurimonas* at deep-sea hydrothermal vents. *ISME J* (査読有), **11**: 909–919.

Kawagucci S., Miyazaki J., Noguchi T., Okamura K., Shibuya T., **Watsuji T.-o.**, Nishizawa M., Watanabe H., Okino K., Takahata N., Sano Y., Nakamura K., Shuto A., Abe M., Takaki Y., Nunoura T., Koonjul M., Singh M., Beedessee G., Khishma M., Bhoyroo V., Bissessur D., Kumar L. S., Marie D., Tamaki K. and Takai K. (2016) Fluid chemistry in the Solitaire and Dodo hydrothermal fields of the Central Indian Ridge. *Geofluids* (査読有), **16**: 988-1005. doi: 10.1111/gfl.12201

Watsuji T.-o., Hada E., Miyazaki M., Ichimura M., and Takai K. (2016) *Thiomicrospira hydrogeniphila* sp. nov., a novel aerobic, hydrogen- and sulfur-oxidizing chemolithoautotroph isolated from a seawater tank containing a block of beef tallow. *Int J Syst Evol Microbiol* (査読有), **66**: 3688–3693.

Thornton B., Bodenmann A., Pizarro O., Williams S., Friedman A., Nakajima R., Takai K., Motoki K., **Watsuji T.-o.**, Hirayama H., Matsui Y., Watanabe H. and

Ura T. (2016) Biometric assessment of deep-sea vent megabenthic communities using multi-resolution 3D image reconstructions. *Deep Sea Res Part 1 Oceanogr Res Pap* (査読有), **116**: 200–219

Nozaki, T., Ishibashi, J., Shimada K., Nagase, T., Takaya, Y., Kato Y., Kawagucci, S., **Watsuji, T.-o.**, Shibuya, T., Yamada, R., Saruhashi, T., Kyo, M and Takai, K. (2016) Rapid growth of mineral deposits at artificial seafloor hydrothermal vents. *Scientific Reports* (査読有), **6**: doi: 10.1038/srep22163

[学会発表](計 9 件)

和辻智郎 (2017) 「ゴエモンコシオリエビを用いて外部共生細菌と深海動物の関係性を探る」第 19 回マリンバイオテクノロジー学会 仙台大会, 平成 29 年 6 月 4 日(宮城県仙台市)

元木香織, 高木善弘, 徳田真紀, 笠谷貴史, 高井研, **和辻智郎** (2017) 「現場 RNA 固定装置を用いた深海動物の外部共生菌のメタトランスクリプトーム解析」NGS 現場の会 第 5 回研究会, 平成 29 年 5 月 22 日(宮城県仙台市)

Motoki K., Hada E., Nagai Y., Takaki Y., Yamamoto A., Ueda K., Toyofuku T., Yamamoto H., Takai K. and **Watsuji T.-o.** (2017) "Compositional and functional shift in epibiotic bacterial community of hydrothermal vent crab during methane-fed rearing" 9th ASME, 平成 29 年 4 月 26 日(韓国 釜山)

和辻智郎, 元木香織, 羽田枝美, 長井裕季子, 高木善弘, 豊福高志, 山本啓之, 高井研 (2016) 「ゴエモンコシオリエビの外部共生菌相を用いた環境影響評価方法の構築」第 31 回日本微生物生態学会大会, 平成 28 年 10 月 23 日(神奈川県横須賀市)

藤吉奏, **和辻智郎**, 澤山茂樹, 中川聡 (2016) 「深海底熱水活動域に生息する固有甲殻類の共生器官“腹部剛毛”の構造的特徴」第 31 回日本微生物生態学会大会, 平成 28 年 10 月 23 日(神奈川県横須賀市)

美野さやか, 中川聡, 牧田寛子, 工藤桃

李, 宮崎淳一, 稲垣史生, 加藤真悟, 布浦拓郎, 井町寛之, **和辻智郎**, 高井研, 澤辺智雄(2016) 「深海底熱水活動域に普遍的に生息する化学合成独立栄養細菌の生物地理学的特徴の解明」第 31 回日本微生物生態学会大会, 平成 28 年 10 月 23 日(神奈川県横須賀市)

Fujiyoshi S., **Watsuji T.-o.**, Sawayama S. and Nakagawa S. (2016) "Morphological characterization of deep-sea endemic crab ventral setae" 5th International workshop on deep sea microbiology, 平成 28 年 9 月 10 日(京都府京都市)

Watanabe H., Yamamoto M., Yahagi T., Ogura T., Takahashi Y., Nakamura M., Seo M., Miyake H., Kojima S., **Watsuji T.-o.**, Takai K., Ishibashi J. and Fujikura K. (2016) "Habitat segregation in transition zones at hydrothermal vent fields in the Okinawa Trough, northwestern Pacific" 14th International Deep-Sea Biology Symposium, 平成 28 年 9 月 1 日(ポルトガル アベイロ)

Motoki K., Hada E. Nagai Y., Takaki Y., Yamamoto A., Ueda K., Toyofuku T., Takai K. and **Watsuji T.-o.** (2016) "The effect of environmental conditions on the composition of epibiotic community associated with deep-sea crustaceans" ISME16, 平成 28 年 8 月 21 日(カナダ モントリオール)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

和辻 智郎 (WATSUJI, Tomo-o)

国立研究開発法人海洋研究開発機構・次世代海洋資源調査技術研究開発プロジェクトチーム・特任技術研究員

研究者番号：50409091