

自己評価報告書

平成23年 4月 22日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2008～2012

課題番号：20241003

研究課題名(和文) 分子マーカーによる動物プランクトン初期幼生の判別・自動計測と生態学的研究への応用

研究課題名(英文) Identification and automated counting of egg and larvae of zooplankton by molecular probes and its application to life history analysis

研究代表者

津田 敦 (TSUDA ATSUSHI)

東京大学・大気海洋研究所・准教授

研究者番号：80217314

研究分野：生物海洋

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：分子マーカー、動物プランクトン、自動計測、生物海洋、環境計測

1. 研究計画の概要

研究の計画の構造としては1)リアルタイム PCR によるカイアシ類幼生個体ごとの同定法の確立とそれを用いた *N. plumchrus*, *N. flemingeri* の初期生活史解明、および2)分子プローブによる種特異的染色と FlowCam (大型粒子フローサイトメータ)により自動計測法の確立、からなる。プローブの開発は研究分担者の町田龍二が萌芽研究で申請中の課題(分子プローブによるカイアシ類種査定技術の確立)で開発される予定である。

申請する本課題で開発の手法はすべての海域で応用が可能であるが、本研究課題では、親潮域の優占カイアシ類 *N. plumchrus*, *N. flemingeri* を対象とし、採集は、北海道区水産研究所と東北区水産研究所が共同で行っている厚岸沖観測線(A-line)で行うことを予定している。航海の便宜をはかって頂く小笠恒夫、齊藤宏明室長は連携研究者として本研究に参画頂く了承を得ている。A-line 観測は年5-6回の観測頻度で1990年から維持されており、初期生活史を除く生活史もよく把握されている。

2. 研究の進捗状況

研究の計画の構造としては1)リアルタイム PCR によるカイアシ類幼生個体ごとの同定法の確立とそれを用いた *N. plumchrus*, *N. flemingeri* の初期生活史解明、および2)分子プローブによる種特異的染色と FlowCam (大型粒子フローサイトメータ)により自動計測法の確立、からなる。プローブの開発は研究分担者の町田龍二が萌芽研究で申請中の課題(分子プローブによるカイアシ類種査定技術の確立)で開発される予定である。

申請する本課題で開発の手法はすべての海域で応用が可能であるが、本研究課題では、

親潮域の優占カイアシ類 *N. plumchrus*, *N. flemingeri* を対象とし、採集は、北海道区水産研究所と東北区水産研究所が共同で行っている厚岸沖観測線(A-line)で行っている。航海の便宜をはかって頂く小笠恒夫、齊藤宏明室長は連携研究者として本研究に参画頂く了承を得ている。A-line 観測は年5-6回の観測頻度で1990年から維持されており、初期生活史を除く生活史もよく把握されている。2種を対象とした資料の採集は終了し、同定のためのプローブ、プライマーの設計が終了し、同定個体および、2種以外と同定された個体のDNA配列をシーケンスシブラスト検索により設計したプローブプライマーセットの検証も行い、生態学的な研究には十分使用できることが明らかとなった。生活史の解析も50%が終了しており、*N. plumchrus* のノープリウス幼生期における休眠など、新しく重要な知見が得られている。さらに未同定ノープリウス幼生のシーケンスでは中深層から多くの *Metridia pacifica* が分布していることが明らかとなり、従来の表層での産卵・成長説を見直す必要が指摘されている。すなわち、ほとんど未知であった初期生活史に非常に多くの発見があることが明らかになりつつある。

3. 現在までの達成度

リアルタイム PCR を用いた種同定は、予定通り進行しており、ほぼ目的を達成していると考えられる。しかし、FISHによる種同定は、簡易的な試験を行った結果では、洗浄の過程が難しく、今後サンプル処理の方法などを検討する必要があるが、ほぼ全体としては順調といってい良い。

4. 今後の研究の推進方策

今後は、残りの試料を分析することにより、

2種の初期生活史を明らかにする。さらに、同様の手法を用いて、Meteridia 属カイアシ類の初期生活史を明らかにするとともに、コア試料などへの応用を検討する。また FISH 法に関しても、試料の処理法などを検討しなおす予定である。

5. 代表的な研究成果

(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 13 件)

(1) Miyamoto H, Machida R.J., Nishida S (2010) Complete mitochondrial genome sequences of the three pelagic chaetognaths *Sagitta naga*, *Sagitta decipiens* and *Sagitta enflata*. Comparative Biochemistry and Physiology D-Genomics and Proteomics, 5: 65-72, 査読あり

(2) Machida R.J., Hashiguchi Y, Nishida M, Nishida S (2009) Zooplankton diversity analysis through single-gene sequencing of a community sample. BMC Genomics, 10: 438. 査読あり

(3) Shimode, S., Y. Hiroe, K. Hidaka, K. Takahashi and A. Tsuda (2009) Life history and ontogenetic vertical migration of *Neocalanus gracilis* (Dana) in the western North Pacific. Aquatic Biology, 7: 295-306. 査読あり

(4) Tsuda, A., H. Saito, R.J. Machida, S. Shimode (2009) Meso- and microzooplankton responses to an in situ iron fertilization experiment (SEEDS-II) in the northwest subarctic Pacific. Deep-Sea Research II, 56: 2767-2778. 査読あり

[学会発表] (計 21 件)

(1) Saito, H., A. Tsuda, H. Tatebe (2010) West meets East: Inter-gyre transportation of *Neocalanus* copepods. PICES 19th Annual Meeting, Portland USA

(2) Fujioka, H., R. Machida, A. Tsuda (2010) Identification of *Neocalanus plumchrus* and *N. flemingeri* by Real-time PCR method. PICES 19th Annual Meeting, Portland USA

(3) 藤岡秀文・町田龍二・津田敦(2010) 「Real-Time PCR を用いた *Neocalanus plumchrus* および *N. flemingeri* 同定法の確立」日本海洋学会 2010 年度春季大会 東京海洋大学

(4) Tsuda, A., Saito, H., Kasai, H. (2009) Vertical distribution of large suspension feeding copepods in the Oyashio region during the growing period. PICES 18th Annual Meeting, Jeju, Korea

(5) Saito, H., H Tatebe, A Tsuda (2009) Vertical and horizontal carbon transport through the ontogenetic vertical migration of copepods. Chapman conference on the Biological Carbon Pump of the Oceans, Brockenhurst, Hampshire, England.

[図書] (計 1 件)

(1) 津田敦 生物学辞典、東京化学同人、東京、pp1615 分担執筆 2010

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

海洋研究所一般公開や、海洋学会共催の「研究船で海を学ぼう」に参加し、研究の成果を一般にアウトリーチする試みを行っている。