

2022年度日本付着生物学会（第29回）研究集会講演要旨

開催日：2022年3月25日（オンライン開催）

10:00~10:05 開会挨拶

10:05~12:15 研究発表（午前の部）

1. 10:05~10:25

北海道白老町の人工リーフに付着するウポポイカンムリゴカイとエラコ（環形動物多毛類）

○西榮二郎（横浜国大）・阿部博和（岩手医科大）・自見直人（名古屋大）・田中克彦（東海大）・巻口範人（(公社)北海道栽培漁業振興公社）

2. 10:25~10:45

垂直護岸の生物礁内に形成される生物群集—ヤッコカンザシ礁とマガキ礁・イガイ礁の比較—

○正木僚・青木茂・岡本研（東大院農）

3. 10:45~11:05

オニヒトデがサンゴ幼生の行動・鉛直分布パターンへ与える影響

○頼末武史（兵庫県立大/人と自然の博物館）・Jun Ishida（琉球大）・伊勢優史（琉球大）・國島大河（和歌山県立自然博物館）・井口亮（産業技術総合研究所）・酒井一彦（琉球大）

—休憩—

4. 11:15~11:35

Shipworm wood borers (Mollusca: Bivalvia: Terediniidae) and Their Bacterial Symbionts along the Coast of Hokkaido, Japan

○Angem Librando-Descallar（北大院環境, Mindanao State University）・凌正一（北大院環境）・芳賀拓真（国立科博）・沖野龍文（北大院地球環境）

5. 11:35~11:55

外洋浮遊物に付着するカルエボシの殻の成長

○渡部裕美・長井裕希子（JAMSTEC）・小林元樹・山守瑠奈（京大瀬戸臨海実験所）・坂井三郎・多田訓子・西川悠・桑谷立（JAMSTEC）・遊佐陽一（奈良女子大）

6. 11:55~12:15

熱水性ミョウガイ類エジソンレパス *Leucolepas*

longa の系統地理および多様性

○服部俊平（北里大海洋）・渡部裕美（JAMSTEC）・三宅裕志（北里大海洋）

—昼食—

13:15~13:50 総会

14:00~15:50 研究発表（午後の部）

7. 14:00~14:20

An evolutionary perspective derived from the comparison of barnacle adult and larval cement

○Tim Y.H. Wong（Shenzhen University）

8. 14:20~14:40

薄膜型酸素センサーを用いたバイオフィルムの観測
堀洗太・安永幸太・○神尾道也（東京海洋大）・塩野克宏（福井県立大）・小栗一将・Anni Glud, Ronnie N. Glud（Southern University of Denmark）

9. 14:40~15:00

付着基質表面のマイクロディンプル形状が付着珪藻（*Navicula* sp.）の付着挙動に及ぼす影響

○岸上大輝（千歳科技大院）・室崎喬之（旭川医大）・野方靖行（電中研）・下村政嗣・平井悠司（千歳科技大院）

10. 15:00~15:20

ドットパターンニング SAM 基板上におけるフジツボキブリス幼生の付着調査

○渡邊純平（千歳科技大院）・室崎喬之（旭川医大）・野方靖行（電中研）・下村政嗣・平井悠司（千歳科技大院）

—休憩—

15:30~16:30 特別講演

「設立50周年を迎えた日本付着生物学会の歩み」

広松和親（(公財)オイスカ）・加戸隆介（(公財)海生研）・勝山一郎（日本エヌ・ユー・エス(株)）

17:00~18:00 技術情報交換会

1. 小林元康（工学院大）
2. 神谷享子（(株)セシルリサーチ）

北海道白老町の人工リーフに付着するウポポイカンムリゴカイとエラコ（環形動物多毛類）

○西 栄二郎（横浜国大）・阿部博和（岩手医科大）・
自見直人（名古屋大）・田中克彦（東海大）・
巻口範人（(公社)北海道栽培漁業振興公社）

【目的】環形動物多毛類は海洋生物の中でも多様性が高く、日本沿岸において1500種を超える多様な種が報告されている。多毛類には自らが分泌した粘液や周囲の砂粒、泥などを利用して棲管を作るものがおり、そうした種はしばしば群居して大きな群体を形成するほか、礁構造にまで発達することもある。今回は、北海道道央地方の浅海でみられた、群体を作るエラコ（ケヤリムシ科）と礁を作るウポポイカンムリゴカイ（仮称；カンムリゴカイ科）の分類と生態について報告する。

【方法】北海道白老町沿岸の沖合に設置されたタンデム型人工リーフ周辺で調査を行った。この人工リーフは2000年から設置が開始され、海岸侵食や越波被害の緩和、漁場効果などの継続的なモニタリングがされてきた。2018年頃から人工リーフ（コンクリートブロック）表面や鉄棒へのウポポイカンムリゴカイの付着が認められ、2021年には人工リーフの一部を覆うほどにゴカイ礁が成長した。ゴカイ礁周辺にはエラコの群体も多数、観察される。2020年11月より、これら2種を棲管ごと採集して種査定を試みるとともに、成長や繁殖生態、初期発生、群体の形成過程などを調べた。

【結果と考察】カンムリゴカイ礁の大きさは、20m×20mを超え、その厚さは1.0から1.5m、時に2mを超えることもあった。礁の形成が進んだ箇所では、一部が崩落し、世代交代が進んでいた。ウポポイカンムリゴカイは周年繁殖し、6-10月には礁内の90%以上の個体が成熟していた。エラコも周年繁殖し、最盛期は夏から秋であった。エラコの群体内やカンムリゴカイ礁内で観察された内在性種にふれるとともに、これら2種の釣り餌としての利用可能性についても考察する。

【参考文献】西 栄二郎・田中克彦・多留聖典・E. K. Kupriyanova・A. V. Rzhavsky (2017) 管棲多毛類ケヤリムシ科とカンザシゴカイ科, 「新・付着生物研究法」(日本付着生物学会編), 恒星社厚生閣, 東京.

1 西 栄二郎・阿部博和・自見直人・田中克彦・巻口範人 (2021) ゴカイ礁を形成するウポポイカンムリゴカイ（仮称）

の分類と生態. 2021年日本ベントス学会・日本プランクトン学会合同大会発表要旨, BO26.

垂直護岸の生物礁内に形成される生物群集

—ヤッコカンザシ礁とマガキ礁・イガイ礁の比較—

○正木 僚・青木 茂・岡本 研
(東京大学大学院農学生命科学研究科)

【目的】垂直護岸に見られるマガキ・イガイ類・ヤッコカンザシの生物礁に出現する生物群集を比較し、生物礁が生物群集に与える影響を明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】

現地調査 調査は横浜市の野島公園において、2019～2021年11～12月の大潮干潮時に行った。潮間帯の同じ高さの垂直護岸に付着しているマガキ、イガイ（ムラサキイガイとミドリイガイ）、ヤッコカンザシの生物礁15cm×15cmを3～4箇所ずつ採集した。

操作実験 2021年7月に野島公園からマガキ礁とカンザシ礁を持ち帰り、礁中の生物を全て死滅させた。この構造のみの生物礁を20cm×20cmの塩ビ板に固定して人工生物礁とした。作成した人工生物礁は、総間隙体積とエンジニア種の個体数、単位間隙体積を求め、野島公園の垂直護岸の潮間帯中部と下部に設置し、2か月後に回収した。

【結果】

野島公園における天然の生物礁と生物群集3年間の調査を通して54タクサの生物が確認され、間隙を利用する多毛類が優占し、次いで小型の節足動物が多くみられた。イガイ礁の個体数とバイオマスは全ての年度で他の二種に比べ有意に少なかった。nMDSの結果、イガイ礁と他の2種の礁で生物群集に異なる傾向が示された。

操作実験に基づくマガキとヤッコカンザシのエンジニア種としての機能的差異 操作実験では36タクサの生物が確認された。多様度指数はカンザシ礁で高く、バイオマスはマガキ礁において高かった。nMDSの結果、マガキ礁とカンザシ礁で生物群集に異なる傾向が見られ、群集構造の差異は表在性の節足動物の寄与率が最も大きく、次いで間隙性の多毛類の寄与率が大きかった。前者はマガキ礁において、後者はカンザシ礁において多くなる傾向がみられた。

【考察】

現地調査によりベルト状に付着するヤッコカンザシ礁に

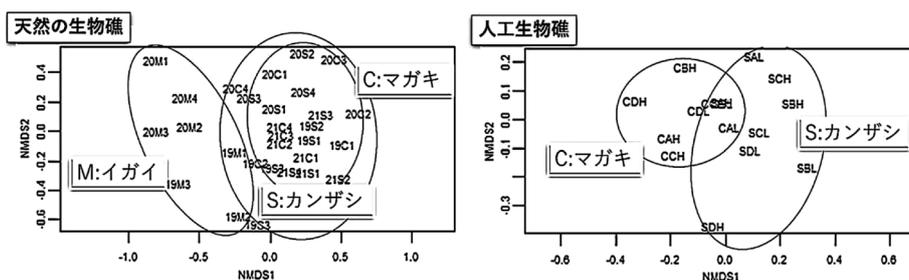


図 nMDSによる生物礁の生物群集構造

も立体的なマガキ礁に比肩する多様な生物群集が形成されることがわかった。また操作実験の結果、総間隙体積が大きいマガキ礁では生物群集のバイオマスが大きくなり、個々の間隙体積が小さいカンザシ礁は多様な小型多毛類に好適な環境となり、生物群集の多様度が大きくなる可能性が示唆された。

オニヒトデがサンゴ幼生の行動・鉛直分布パターンへ与える影響

頼末武史[○] (兵庫県大/ひとはく)・Jun Ishida (琉大)・伊勢優史 (琉大)・國島大河 (和歌山県博)・井口亮 (産総研)・酒井一彦 (琉大)

【目的】

造礁サンゴの捕食者であるオニヒトデ *Acanthaster planci* が大量発生することで、度々甚大な食害が引き起こされている。海洋ではフジツボなどのベントスの幼生が成体の捕食者を忌避することが報告されているが、オニヒトデがサンゴの幼生にどのような影響を与えているのかはよくわかっていない。そこで本研究では、オニヒトデがサンゴのプラヌラ幼生の行動及び鉛直分布に与える影響を解明することを目的とした。

【材料・方法】

2021年に琉球大学瀬底臨海施設周辺でコユビミドリイシ *Acropora digitifera* を採集し、飼育下で得た受精卵をプラヌラ幼生まで発生させ、実験に使用するまで水槽で飼育維持した。また和歌山県立自然博物館の水槽で飼育されていたオニヒトデ 1 個体もしくはイトマキヒトデ *Patiria pectiniferai* 5 個体と海水 8L をバケツに入れて 1 時間置き、処理海水を実験に使用するまで 1 日冷蔵保存した。48 well プラスチックプレートの各 well に処理海水もしくはコントロール海水とプラヌラ幼生 1 個体を入れ、27°C もしくは 30°C・暗条件で置いた。24 時間後に顕微鏡カメラで 1 分間動画撮影をし、UMATracker¹ で総移動量を算出した。また試験管 (13 mm×100 mm) に 8 ml の処理海水もしくはコントロール海水とプラヌラ幼生 10 個体を入れ、27°C もしくは 30°C・暗条件で置いた。18 時間後に各試験管の上半分・下半分に分布する幼生の数をカウントした。

【結果・考察】

幼生の移動量では処理区間で優位な差が検出されなかったが、オニヒトデ処理海水に入れると幼生が底の方に移動し、鉛直分布に大きく影響することが明らかになった。また鉛直分布に対する温度の効果は検出されなかった。幼生の鉛直分布が変化するメカニズムは不明だが、下方への移動によって海流分散が抑制され、結果としてオニヒトデの周囲にサンゴの幼生が着底してしまう可能性がある。今後 RNA-seq 等によって遺伝子発現応答を調べ、オニヒトデの存在によってサンゴ幼生の鉛直分布が変化するメカニズムを解明する予定である。

【引用文献】

¹Yamanaka, O., & Takeuchi, R. (2018). *J Exp Biol*, 221(16), jeb182469.

Shipworm Woodborers (Mollusca: Bivalvia: Teredinidae) and Their Bacterial Symbionts along the Coast of Hokkaido, Japan

[○]Angem Librando-Descallar (北大院環境, Mindanao State University-Gen. Santos), 凌正一 (北大院環境), 芳賀拓真 (国立科博), 沖野龍文 (北大院地球環境)

【目的】 Shipworms are marine bivalve mollusks (Family Teredinidae) known for their wood-boring abilities, digesting wood with the aid of symbiotic cellulolytic and nitrogen-fixing bacteria in their gills. These symbionts produce secondary metabolites that can be useful in production of biofuels and antimicrobial drugs. In this study, we examined and identified the shipworm species and their symbionts collected along the coastal areas of Hokkaido from October 2020 to November 2021. Moreover, biogeographic patterns within Teredinidae were investigated in the light of available literature from other coastal areas in the country and elsewhere.

【方法】 Teredinid specimens were collected from driftwood along the Sea of Japan coast to Pacific coast and the Sea of Okhotsk coast. Taxonomic identification was done to the species level based on morphology of pallets using keys by Turner (1966) and authors, expertise while 16S rRNA gene analysis was performed on gill endosymbionts.

【結果および考察】 Several shipworm species were found to have infested the driftwood collected in ten sampling stations. Some of these were not observed in Hokkaido waters until recently which suggests the possibility that ocean currents might have contributed to their occurrence along the vast coastal stretches. Also, 16S rRNA gene sequences of shipworm symbionts showed two major classes, the Alphaproteobacteria and Gammaproteobacteria. Interestingly, each shipworm host appears to associate with just one of the multiple clades while a clade can be found in several host species.

【引用文献】

1. Turner, R.D. (1966). A survey and illustrated catalogue of the Teredinidae. Harvard University, Cambridge, M.A., The Museum of Comparative Zoology, 6–265 pp.
2. Haga, T. (2017). Teredinidae. In: Okutani, T. (Ed.), Marine Mollusks of Japan. Tokai University Press, Hiratsuka, 1273–1276 pp.
3. Luyten, Y.A., Thompson, J.R., Morrill, W., Polz, M.F., and Distel, D.L. (2006). Extensive variation in intracellular symbiont community composition among members of a single population of the wood-boring bivalve *Lyrodon pedicellatus* (Bivalvia, Teredinidae). *Appl Environ Microbiol*, 72, 412–417.

外洋浮遊物に付着するカルエボシの殻の成長

○渡部裕美、長井裕希子（海洋研究開発機構）、
小林元樹、山守瑠奈（京都大学瀬戸臨海実験所）、
坂井三郎、多田訓子、西川 悠、桑谷 立（海洋研
究開発機構）、遊佐陽一（奈良女子大学）

【目的】 流木、流れ藻、軽石などの天然物やプラスチックをはじめとする人工物など、さまざまな物体が海洋表層を浮遊している。これらの浮遊物の表面には外洋特有の生物群集と沿岸の生物によって構成される neopelagic な生物群集が発達することが知られており、海洋生物の分散や種の維持という点で重要な役割を果たしている。一方で、プラスチックなどの人工浮遊物の増加は近年注目すべき海洋汚染として捉えられており、その挙動を明らかにする試みがなされている。

カルエボシ *Lepas anserifera* は日本周辺の外洋浮遊物に普遍的に見られる付着生物であり、これまでにその殻の成長や蓄積される安定同位体比に関する研究がなされてきた。しかしながら、その成長を定量するには至っていない。本研究では、水温と餌料を調整した環境下で飼育したカルエボシを用い、時間あたりの成長を定量するとともに、殻の安定同位体比から生息環境を復元することを試みた。

【方法】 京都大学瀬戸臨海実験所の南浜にて、砂浜に漂着したカルエボシを採集し、実験所の3つの海水掛け流し水槽にて飼育した。水槽のうち2つは、クーラーあるいはヒーターを利用してそれぞれ水温20°Cおよび30°Cに保つようにした。飼育実験開始から終了までの60日間、水槽の水温・塩分濃度を15分ごとに記録した。またカルエボシの殻の成長を定量するため、実験開始1日目と20日目の2回、カルセインと塩化ストロンチウムによる成長線の染色を行ない、染色後に capitular width および length を測定した。飼育実験終了後、殻を分離し、Milli-Q 水で洗浄、乾燥させ、蛍光実体顕微鏡下で殻ごとの成長量の観察を行なった。また、水温20°Cおよび30°Cで飼育されていた期間に形成された殻の一部を用い、安定同位体比分析を行なった。

【結果および考察】 飼育実験後の生残率は30°Cの水槽で飼育されたものが最も高く（25%）、水温調節を行わなかったものが最も低かった（7%）。塩化ストロンチウムによる染色は観察することができなかったが、カルセインによって染色された成長線と照らし合わせると、飼育実験環境下で形成された殻の質感は天然環境下で形成されたものと明瞭に異なり、容易に見分けることが可能であったが、その原因は明らかにできなかった。飼育環境下における殻の成長は環境によって一律ではなかった。本研究によって得られた結果は、カルエボシをはじめとする石灰質の殻を持つ蔓脚類の成長を理解することだけでなく、カルエボシが付着する外洋浮遊物の分布環境や浮遊期間の推定などに貢献すると期待できる。

熱水性ミョウガイ類エジソンレパス／*HXFROHSDV* *ORQJD*の系統地理と多様性

服部俊平（北里大海洋）、渡部裕美（海洋研究開発機構）、
三宅裕志（北里大海洋）

【目的】 エジソンレパス *Leucolepas longa* は有柄目 Pedunculata アカツキミョウガイ科 Neolepadidae に属しており、沖縄トラフ中部以南、マリアナトラフ、マリアナ弧、南太平洋のマヌス海盆など、西太平洋に広く分布する深海熱水噴出域に固有な生物である。

Plouviez *et al.* (2013) は、マヌス海盆に分布する本種（当時 *Vulcanolepas cf. parensis* と同定）の集団遺伝学的解析から、二つの系統群の存在を示した。これらの系統群は、一度ボトルネックを経験し近年急拡大している系統群と古くから安定して存在している系統群であると推測された。しかし、この研究は、マヌス海盆のみの研究であり、同一の環境下に異なる遺伝的特徴を維持したまま複数の系統が同一種として維持されているとは考えにくい。

本研究では、マリアナ弧 TOTO カルデラ、南部マリアナトラフ Snail site、沖縄トラフ伊平屋北フィールドに生息するエジソンレパスとマヌス海盆の系統群を比較し、マヌス海盆の二つの系統群の特徴および系統間の関係性を明らかにすることを目的とした。

【方法】 本研究では伊平屋北フィールド熱水噴出域から採集されたエジソンレパス (n=7) の閉殻筋および柄部内の筋肉から DNA を抽出し、Folmer *et al.* (1994) のプライマーセットを用いて mtDNA の COI 遺伝子領域の部分塩基配列を増幅し決定した。得られた塩基配列データと GenBank に登録されている、TOTO カルデラ (n=6)、Snail site (n=5)、Plouviez *et al.* (2013) によるマヌス海盆 (n=45) から得られた本種の塩基配列データを用いて、ハプロタイプネットワーク図を作成した。

【結果および考察】 マヌス海盆を除く3地点から確認されたすべてのハプロタイプは Plouviez *et al.* (2013) の示す2つの系統群のうち、古くから安定して存在している系統群と同じ単系統群を形成することが明らかになった。このことから、マヌス海盆内に古くから存在する系統群は西太平洋の南北に広く分布する系統群であることが示唆された。一方で、創始者効果によって近年急拡大したと推測された系統群はマヌス海盆のみに分布する系統群である可能性が示唆された。このような傾向は熱水性カイアシ類 *Chasmatopontius* 属においても確認されており (Watanabe *et al.* 2021)、本研究の結果は熱水噴出域に固有な種の特有な分化を理解するための手がかりになるのではないかと考えられた。

An evolutionary perspective derived from the comparison of adult and larval cement of the turtle barnacle *Chelonibia testudinaria*

○ Yue Him Wong (Shenzhen University, China), Niklas Dreyer (Academia Sinica, Taiwan; University of Copenhagen, Denmark), Yi Lan (The Hong Kong University of Science and Technology, Hong Kong China;), Jamie J. Chen (Shenzhen University, China), Jin Sun (Ocean University of China, China), Wei-Pang Zhang (Ocean University of China, China), Pei-Yuan Qian (The Hong Kong University of Science and Technology, Hong Kong China), Benny K.K. Chan (Academia Sinica, Taiwan)

As the only group of sessile crustaceans, barnacles establish permanent attachment through initial cement secretion at the larval phase followed by continuous cement secretion in juveniles and adults. We perform extensive laboratory experimentation, immunohistochemistry, RNAseq and shotgun proteomics to establish the turtle barnacle *Chelonibia testudinaria* as a new model system to study the origins and evolution of underlying functional differences between larval and adult cement proteins. Several life-history stages, adult tissues and 119 manually dissected larval cement glands (60–70 μm) formed the basis of an extensive transcriptomic dataset comprising >400 million reads assembled into 328,293 transcripts. We identified 30 larval and 27 adult cement proteins, the majority of which are stage- and barnacle-specific. Only two proteins, SIPC CP100K were jointly expressed in larvae and adults. Detection of protease inhibitors and the cross-linking enzyme lysyl oxidase in larvae and adults suggests convergent intraspecific evolution of key cement biochemistry. Bioinformatic analyses showed that most barnacle larval and adult cement proteins share a Thoracican origin. A larval specific paralog of CP52k could even trace all the way back to Ascothoracida. More interestingly, the Ascothoracida species (*Petrarca* sp.) expressing the paralog of CP52k do not perform chemical adhesion, suggesting the possibility that the rise of cement protein in Thoracican barnacles could be a result of gene co-option. Our analyses also suggest that species-specific cement proteins subsequently arose from duplication events followed by stage-specific expression, novel protein secondary structuring and duplicate neofunctionalization. We conclude that duplication-divergences are pivotal to the molecular evolution of lineage-specific cement toolkits in barnacles. Differential expression of barnacle-specific paralogs within life cycles was likely instrumental in the vast ecological success of barnacles.

薄膜型酸素センサーを用いたバイオフィルムの観測

堀 洸太、安永幸太、[○]神尾道也 (東京海洋大学)、塩野克宏 (福井県立大学)、小栗一将、Anni Glud, Ronnie N. Glud (Danish Center for Hadal research, University of Southern Denmark)

【目的】

微生物の集合体であるバイオフィルムの付着は、船底、取水・浄水施設、水中観測装置等の施設機能低下の原因となるため、その抑制剤の開発が必要であるが、抑制剤は環境にやさしい緩やかな効果を持つものが望ましい。本研究では呼吸量変動を連続的に記録できる薄膜型酸素光化学センサー (二次元オプトード) を用いたバイオフィルム活性観測装置を構築して、致死的ではなく、緩やかな抑制作用を持つ物質の探索方法を確立することを目的とする。

【方法】

酸素濃度分布を定量するセンサ膜は、酸素消光性色素 (PtTFPP) をポリマー (ポリスチレン) に混ぜて基盤膜 (PET) に塗装することで作成した。ポリスチレンに対しては、さらに光学内部標準物質 (Macrolux[®] fluorescence yellow 10GN, MY) および光散乱剤として二酸化チタン粉末を混ぜた。このセンサ膜に対して青色LEDによる励起光を照射し、センサ膜から発せられる光を一眼レフカメラで撮影、そのRGBチャンネル毎の情報を分けて解析することで酸素濃度を測定した。バイオフィルムの酸素濃度分布と呼吸による濃度の減少過程は、酸素濃度計で校正したセンサ膜を海水中に沈め、バイオフィルムを付着させ、測定した。この一連の作業についての条件検討を行った。

【結果および考察】

各種の材料と条件を検討し、バイオフィルムの呼吸の変化を経時的に観測する二次元オプトードシステムを作成することができた。今後、多検体の同時観測を可能にするなどの改良を加えることで、アメフラシなどの海洋生物が有する緩やかなバイオフィルム抑制剤の探索に役立てることができると考えられる。

付着基質表面のマイクロディンプル形状が付着珪藻 (*Navicula* sp.) の付着挙動に及ぼす影響

[○]岸上大輝 (千歳科技大院)、室崎喬之 (旭川医大)、野方靖行 (電中研) 下村政嗣 (千歳科技大院)、平井悠司 (千歳科技大院)

【目的】 付着生物と人間との関係には好ましくない側面と好ましい側面がある。前者は汚損被害であり、特に船舶の場合には船体摩擦抵抗の増大による燃料消費量の増加があげられる。後者は水産資源としての側面であり、特に付着珪藻はナマコやウニなど海産生物幼若個体の飼料として利用されている。付着珪藻は粘性多糖類を分泌し、水中の付着基質表面に付着するとともに増殖する事

が知られている。近年、表面微細構造が付着生物の付着挙動に大きな影響を与える事が注目されてきている。本研究ではマイクロディンプル形状配列表面を作製し、その表面における付着珪藻の付着と増殖について評価・検討を行ったので報告する。

【実験方法】マイクロレンズアレイ構造を有するポリジメチルシロキサン (PDMS) を鋳型として熱プレスによりマイクロディンプル構造を有するポリスチレン (PS) 基板を2種類作製した。対照実験としてフラットな PS 基板を使用した。まず、シリコン製のアッセイチャンバーとディンプル配列の基板から細胞接着アッセイシステム (試験槽) を作製した。次に海洋付着珪藻 (*Navicula* sp.) を含む培養液 (100%KW21:25 μ L、ペニシリン:25 μ L、50%ケイ酸ナトリウム:50 μ L、滅菌海水:500 μ L) をチャンバー内に滴下した。各試験槽を23 $^{\circ}$ Cの恒温水槽に設置し、蛍光灯下で培養を行った。培養期間は3パターン (1, 2, 3 週間) で比較した。培養した珪藻を電界放出型走査電子顕微鏡 (FE-SEM) により観察した。観察した画像は画像解析ソフト (ImageJ) を使用して珪藻クラスターサイズ及び表面被覆率について解析を行った (Fig. 1)。

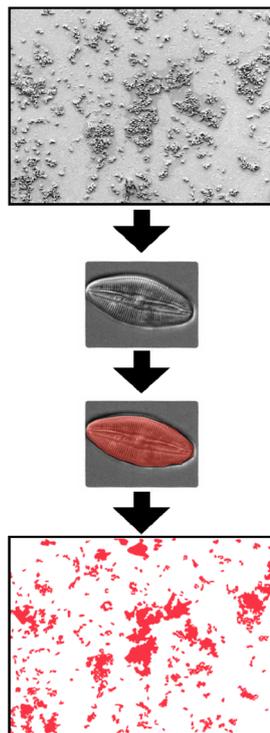


Fig. 1 クラスタサイズ・被覆率の解析方法

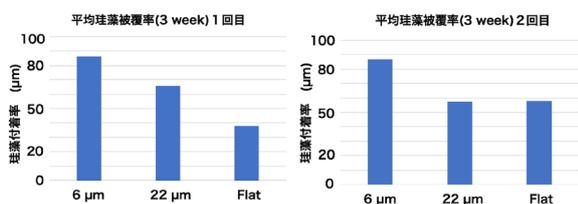


Fig. 2. PS 基板表面における表面被覆率の結果

【結果及び考察】 Fig. 2 に3種類の PS 基板表面における付着珪藻の表面被覆率1・2回目の結果を示す。この結果から6 μ m・22 μ mの曲率半径のディンプル構造を有するは一貫した結果が得られたが、Flat 表面に関しては1回目と2回目の結果が乖離がしたため、結果の解釈については検討中である。ディンプル径に関しては実験結果を増やす事でディンプルの曲率半径とクラスターや被覆率に一定の傾向が出ると考える。

ドットパターンングSAM基板上におけるフジツボキプリス幼生の付着調査

○渡邊純平 (千歳科技大院)、室崎喬之 (旭川医大)、野方靖行 (電中研)、下村政嗣 (千歳科技大院)、平井悠司 (千歳科技大院)

【目的】近年、付着基質表面の化学組成と付着生物の着生選択性が注目されてきている。これまで我々は表面官能基とフジツボキプリス幼生の着生選択性について調べる為、自己組織化単分子膜 (SAM) を用いた末端官能基の異なる表面における付着実験を行った。その結果、キプリス幼生はOH基修飾表面にはほとんど着生しない一方、COOH基修飾表面には着生しやすい傾向がある事を見いだした。タテジマフジツボキプリス幼生は着生の前段階に直径20 μ m程度の第一触角先端の感覚器官を用いて付着基質表面を探索している事が知られているが、抗付着効果を有する材質の表面パターンングや密度がどのような場合に付着忌避行動を起こすのかはよく分かっていない。そこで本研究では2種の表面官能基 (-COOH/-OH) を異なる密度比でドット状にパターンングする事により、キプリス幼生の着生と表面パターンングとの関係について調査したので報告する。

【方法】 Fig. 1(a) にSAMによる表面化学修飾の様子を示す。まず初めにCOOH基末端を有するチオール試薬溶液中に金蒸着ガラス基板を24時間浸漬させ、COOH修飾表面を形成した。次に基板上に各種ドットパターンング (DP) フォトマスク (孔径10 μ m、20 μ m、40 μ m、100 μ m、ドット面積率10%、30%、50%の組み合わせ計12種類) を置き、UVオゾン洗浄によりCOOH基をドット状に除去した。その後、OH基末端を有するチオール試薬溶液中に基板を浸漬させる事で2種の表面官能基 (-COOH/-OH) がドット状に配列した基板を作製した。また同様の作製手順で面積率10%のフォトマスクを用いCOOH基とOH基の修飾順序を逆にする事でOH基修飾割合が90%の基板を作製した。このSAM基板上に Fig. 1(b) ポリジメチルシロキサン (PDMS) 製ウェル (内径16mm) を置き、滅菌海水500 μ L、キプリス幼生30個体を投入後、人工気象器内 (暗条件、温度25 $^{\circ}$ C、湿度80%) で静置し7~9日後、付着したフジツボの個体数をカウントした。

【結果および考察】 Fig. 2 に DP 基板表面のOH基の割合とキプリス幼生着生率の関係について示す。 Fig. 2(a)

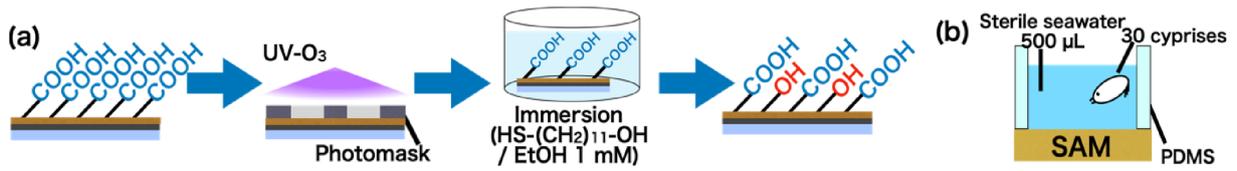


Fig. 1 実験方法模式図. (a) DPSAM基板作製方法, (b) 実験系模式図

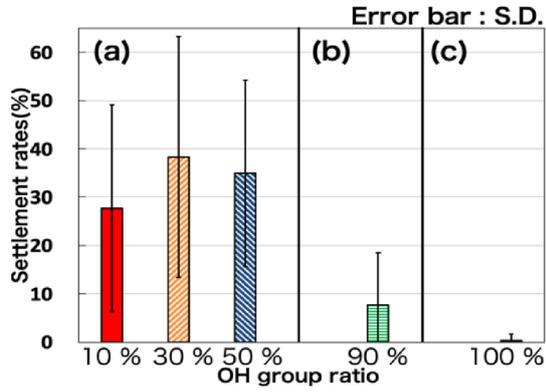


Fig. 2 基板表面のOH基の割合とキプリス幼生着生率の関係. (a) DP基板 (試行回数N=10), (b) DP基板 (試行回数N=2), (c) 全面OH基修飾基板 (試行回数N=10)

の結果より、DPのOH基の割合が10～50%の表面ではキプリス幼生の着生率が28%～38%と付着忌避効果は見られず、それは異なる孔径でも同様であった。一方、Fig. 2(b)、(c)のようにOH基が90%導入されたDP基板の場合には着生率が8%程度と高い抗付着効果が認められた。このことからフジツボキプリス幼生に対する抗付着効果には、OH基のDPよりも導入率の方が重要であり、またその効果は50～90%程度の間に変化する事が示唆された。