

海底下の試料（地球深部の堆積物および岩石）

高野 淑 識，加藤 真 悟

1 はじめに

地球物質科学を広く概観した場合、地球表層だけではなく、地球深部試料へのアクセスは、重要である¹⁾²⁾。海底下や地球深部の試料は、操作上、便宜的にハードロック系（hard rocks：主に岩石）、ソフトロック系（soft rocks：主に堆積物）、マイクロブ系（microbes：主に微生物および無機物との複合体）に大別される。代表的な保管施設を図1に示す。岩石（がんせき，rock）は、成因ごとに、火成岩，変成岩，堆積岩に分類される。堆積物（たいせきぶつ，sediment）は、大きさごとに呼称される礫，砂，泥などの岩石片のほか，構成される性状から呼称される鉱物，微生物（図2に例示），遺骸，溶解物，析出物，沈殿物などが，ある特定の場所に積み重なった混成物からなる未固結のもとと定義できる。

堆積物を深く掘り下げて行くと，基盤岩に到達する。堆積物を運搬作用で大別すると，陸成（あるいは淡水性ともいう）の堆積物と海成（あるいは海水性ともいう）の堆積物に分けられる。その堆積物が，地質学的な時間スケールを経て，固結したものは，堆積岩と呼ばれる（図3）。詳しくは，岩石学辞典（鈴木淑夫編，朝倉書店）や堆積学辞典（堆積学研究会編，朝倉書店）をご参照頂きたい。運搬作用の無い原地性の土壌（どじょう，soil）とは，区別して扱われる。

堆積物試料や岩石試料に内在する化学情報・生物情報を引き出すには，各試料に特有の混成物や派生する有機・無機および複合体を含む夾雑物（きょうざつ）の分析阻害因子と上手につき合うことが要点である。総じて，マトリックス効果とも呼ばれる。クロマトグラフィーや質量分析法を記載している分析化学系の専門学術誌を読んで行くと，「マトリックス効果は，分析のアキレス腱である。」との表現に出会われた読者もおられると思う。すなわち，前処理，抽出，分離，精製，誘導體化，測定の前までに付きまとう「見えにくい問題」ゆえに，分析の精度と確度の保証を事前に見極め，最適化を行っておくこと

Proper Methods for Treatment and Handling of Real Samples—Subseafloor Samples (Deep-sea Sediment and Rock)

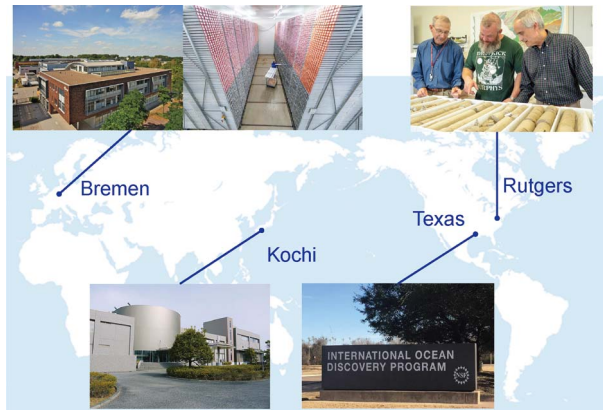


図1 海底下そして地球深部から採取された国際深海科学掘削計画（IODP）の管理機構であるブレーメン大学海洋環境センター（Marum），高知コア研究所（KCC），テキサスA&M大学（TAMU）およびラトガース大学の位置関係。URLは次の通り；Marum (<https://www.marum.de>)，TAMU (<https://iodp.tamu.edu>)，KCC (<http://www.kochi-core.jp/DeepBIOS/>)。



図2 「アーキアと真核生物の共通祖先の単離株」の顕微鏡写真と学術誌の表紙¹¹⁾

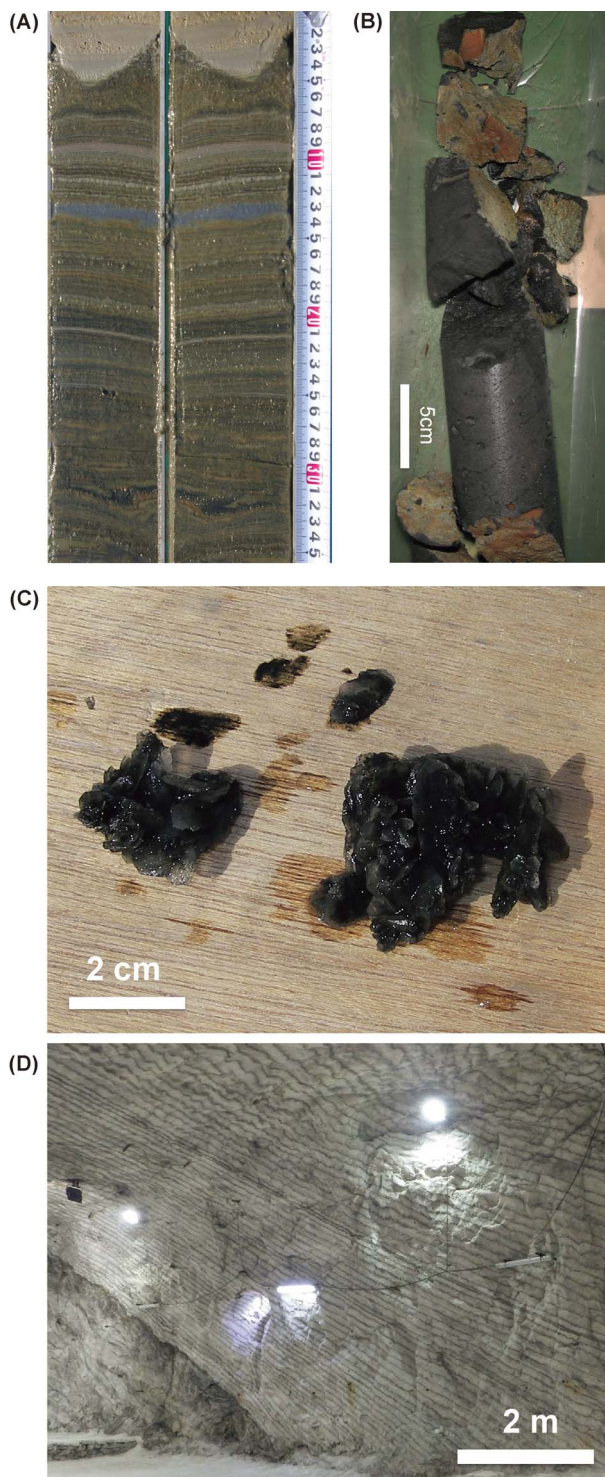


図3 ソフトロック系 (soft rocks : 主に堆積物), ハードロック系 (hard rocks : 主に岩石) の試料の例。(A)南極ルンドボックスヘッダから採取された堆積物コア試料¹⁷⁾に観られる年縞 (varve) の様子, (B)南マリアナから採取された岩石コア試料に観られる玄武岩に貫入する熱水脈¹⁸⁾の様子, (C)南極スカルプスネスの塩湖・すりばち池¹⁹⁾²³⁾の湖内で析出している硬石膏の様子, (D)硬石膏が堆積・固結した蒸発岩が観察できるリアルモンテ鉱山²⁰⁾内部の様子: 約600万年前に地中海が閉じたことにより, 海水が蒸発し, 析出・堆積した。メッシニアン塩分危機と呼ばれる。写真(A)~(D)は, 筆者撮影。

が要点になる。

さらに、仮にターゲット分子が、(極)微量な存在である場合 {=(極)スモールスケール分析}, 試料量のスケール, 使用する試薬のグレード, 分析に要する時間, 分析条件を含め, 通常の手順とは異なる分析計画と全体の最適化が必要になる。環境試料ガイドブック (日本分析化学会編, 丸善出版) には, 堆積物や岩石を含む, 環境中の試料に関する基礎と応用, 系統的な分析評価法が解説されているので参照されたい。

本稿では, 我々人類にとって, 未知の生命圏 (ハビタット, habitat) である海底下の試料 (とくに, 地球深部の堆積物試料および岩石試料) を手に取り, 実際の分析に至るまでのプロセスとアーカイブ法を解説する。

2 未知の生命圏~海底下と地球深部

生化学的に重要な物質, そして, 生命圏は, 地球深部にも存在する。地下生命圏 (deep biosphere) の概念は, 分析化学的技術基盤の向上と共に, 地球生命科学あるいは地球惑星科学等の分野を横断して広く認識されるようになった。地球に広がる生命圏のサイエンスのうち, 近年, 注目されているトピックである。生命の主要な構成分子として, 炭水化物, タンパク質, 核酸, 脂質の四つがあげられる。微生物体内では, それらが複合的に組織化され, 細胞が成り立っている³⁾。微生物のほか, ウィルスも引き合いに出されることがある³⁾。我々は, 太陽光の届かない暗黒の地下圏で繰り広げられる微生物生態または深部炭素を含む物質循環様式を徐々に理解できるようになった^{4)~9)}。

2015年に北欧の深海底の堆積物試料から驚くべきアーキア (古細菌) が見つかった。このアーキアは, 北欧神話の神「ロキ (Loki)」になぞらえて, ロキアーキオータ (*Lokiarchaeaota*) と命名された。「最も真核生物に近縁なアーキアの発見」のニュースは, 生命科学や地球科学者らに大きな議論を巻き起こしている¹⁰⁾。そのゲノムを解析すると, 真核生物に固有とされる遺伝子が複数発見され, いわば「共通の祖先」と考えられている。筆者は, その前年に, ある国際学会でその概要を述べた講演を聞く機会を得た。静まりかえった会場で息もしないくらい, 刮目している第一線の専門家ら聴衆の様子を記憶している。これから, 「アーキアと真核生物の共通祖先」の単離株 (図2) から新しい知見が次々と得られることだろう¹¹⁾。アーキアと真核生物の起源を巡る議論を大いに沸騰させている現況¹²⁾¹³⁾は, 科学界のマーケットのスケールと分野横断的なインパクトを意味している。未知の知見をより深く理解するためには, 湿式および乾式を問わず, 新しいアプローチそして多角的な分析アプローチで『はかること』 (=高精度・高確度な分析技術開発) が, これからも一つの鍵になるだろう。

3 海底下そして地球深部から採取された試料アーカイブ

海洋底から採取された岩石および堆積物試料へのアクセスの窓口となっている代表的な管理施設（図1）と分配手順について解説する。太平洋、大西洋、インド洋の三大洋のほか、世界中の海洋底から国際深海科学掘削計画（International Ocean Discovery Program : IODP）を通して採取された海底下のコア試料は、米国・テキサスA&M大学（Texas A&M University : TAMU, およびラトガース大学のコア施設にも一部保管）、ドイツ・ブレーメン大学海洋環境センター（Zentrum für Marine Umweltwissenschaften : Marum）、高知コア研究所（Kochi Core Center : KCC）に保管されている。各施設の専任キュレーターが、試料と共にアーカイブ情報を適切に管理し、必要に応じて分配業務を行っている。試料分配には、サンプルリクエストの申請書提出の後、専門家による書面審査が行われ、採択された場合、要求者に試料分配（常温、冷凍を含む）が行われる。試料は、バーコード管理され、入庫から出庫および分配先への居所情報の追跡ができる。また、初期分析値である地球化学分

析データ（ガス、間隙水、元素等）や物理分析データ（物性測定、X線CTスキャン等）あるいは微生物学的なデータセットには、一定のモラトリアム期間を経過した後、誰でもアクセスできるようになる。その上で、試料要求者による新しい付加価値と科学展開が開始される。

4 未踏試料へのアクセス

未踏の海洋底試料、つまり、「誰も入手したことのない海洋底の試料」は、どのように入手すれば良いか。例えば、前述のIODPの科学機会を利用する場合は、科学提案書を申請することから始まる。日本では、掘削コンソーシアム事務局（Japan Drilling Earth Science Consortium : J-DESC）が窓口になっている。申請後、高い専門性をもった国際審査委員（Science Evaluation Panel : SEP）からなる一連の審査・改訂・承認を経た後、科学的な優先順位や船舶の航路計画との照合調整を行う。順調に進んだ場合、国際共同チームメンバー構成のための研究者・技術者の公募が行われ、調査実施体制が組まれる。つまり、世界で唯一とも言える先端的科学者チームが形成される。最短スケジュールでも数年以上かかることが多い。同じくJ-DESCが窓口になってい

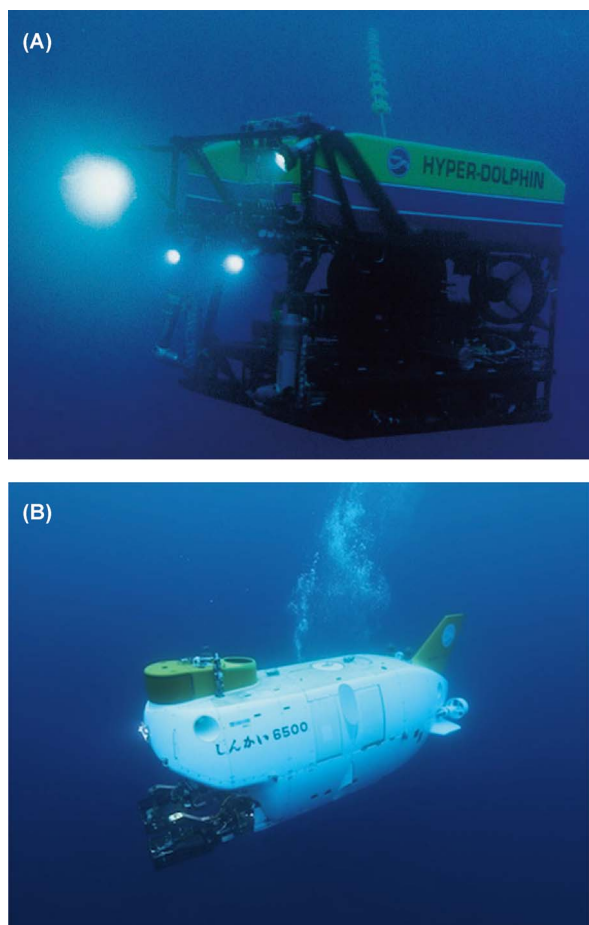


図4 深海底へのアクセスの例：(A)無人潜水艇「ハイパードルフィン」、(B)有人潜水艇「しんかい6500」(写真提供：海洋研究開発機構)

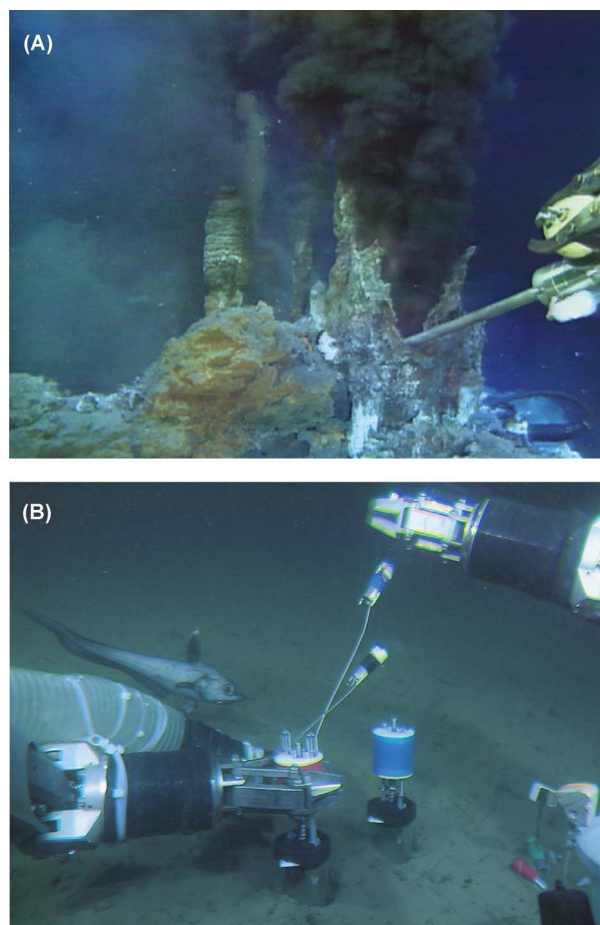


図5 深海底での計測・実験の例：(A)南マリアナ熱水系²¹⁾でのブラックスモーカーと温度計測、(B)相模湾深海底²²⁾での現場培養実験の様子

る国際陸上科学掘削計画（International Continental Scientific Drilling Program:ICDP）については、ホームページをご参照頂きたい。

上記以外にも、大学や研究機関が、独自に行う調査を通して、目的に添った試料採取も行われている。図3では、1年ごとの記録を保存する堆積物試料や玄武岩の中の熱水脈が通っている岩石試料を例示した。塩湖での海水の蒸発により、硬石膏（CaSO₄）や岩塩（NaCl）の析出・沈殿を観察できる堆積環境がある。それらが、地質学的な時間スケールを経て、固結すると蒸発岩が形成される。

また、無人潜水艇「ハイパードルフィン」や有人潜水艇「しんかい6500」等による深海底へのアクセス（図4）や、現場計測および現場実験等の契機（図5）からいくつもの新しい知見が得られている。前記の調査研究等を含め、あらゆる自然界から新規に見出された微生物資源の管理保管方法は、5節と6節で解説する。

5 微生物の単離株試料の有用性

既知・未知のハビタット（Habitat）に棲息する微生物は、約40億年という途方も無く長い時間をかけて、進化を続けてきた。その進化の過程で築き上げられた微生物の多種多様な能力は驚異的であり、我々人類はその能力をうまく利用することで生活を豊かにしてきた。納豆、味噌、醤油、お酒、ヨーグルト、チーズなどの発酵食品は、微生物の力によって作られる。病原菌は微生物であり、病原菌の増殖を抑える抗生物質を生産するのもまた微生物である。最近では、ヒトマイクロバイオーム（人間に常在する微生物叢）が病気や健康と深く関係していることが明らかになりつつある（例えば、文献14）。さらに、微生物は海底下そして地球深部を含むあ

らゆる地球表層環境に存在し、地球規模での物質・エネルギー循環に大きくかかわっている。このように、昨今の食料・健康・環境問題に取り組む上で、微生物の研究は重要な位置付けとなる。微生物は、人類の発展にとって必要不可欠な資源（リソース）なのである。

微生物がもつ能力を詳しく調べるためには、まず目的の微生物1種だけを自然界から分離して、実験室内で培養することから始めるのが基本である。一連の操作を分離・培養と呼ぶ。一般的に微生物の分離培養には、多くの時間と労力を必要とする。分離培養した微生物株を維持・保存できずに絶やしてしまうと、また分離培養からやり直すことになる。同じ微生物種をもう一度分離培養できる保証もない。

6 カルチャーコレクションとワールドデータセンター

カルチャーコレクション（微生物株保存機関）は、5節で述べた貴重な微生物株の収集・品質管理・保存・提供を担う機関である（図6）。地球上のあらゆる自然環境から分離培養された多種多様な微生物株が、世界各地

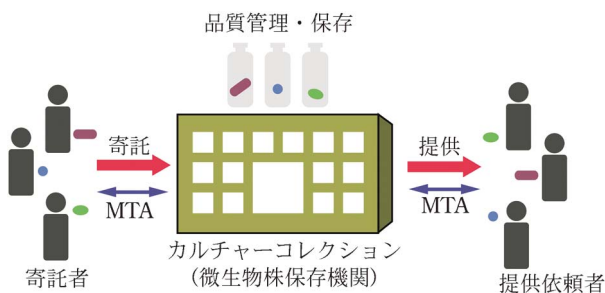


図6 分離培養を経たカルチャーコレクションの位置付けとコミュニティとのワーキングフロー

表1 国内外の主要なカルチャーコレクションの保管機関と保存数（2020年3月現在）

		保有株数			
		バクテリア	アーキア	カビ	酵母
日本国内の主要なカルチャーコレクション					
JCM	理化学研究所	>17000	>800	>3700	>3400
NBRC	製品評価技術基盤機構	>14000	>300	>11900	>4700
MAFF	農業・食品産業技術総合研究機構	>11000	0	>21200	>800
国外の主要なカルチャーコレクション					
DSMZ	ドイツ	>17900	>500	>2400	>500
ATCC	米国	>18000		>46000	
BCCM-LMG	ベルギー	>26000	0	0	0
CBS-KNAW	オランダ	0	0	>75000	>12500
KCTC	韓国	>8800	>180	>4000	>2400

略記

JCM : Japan Collection of Microorganisms, NBRC : Biological Resource Center, NITE, MAFF : Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, DSMZ : German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH, ATCC : American Type Culture Collection, BCCM-LMG : Belgian Co-ordinated Collections of Micro-organisms (BCCM)/Laboratory of Microbiology Univ. Gent (LMG), CBS-KNAW : Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS)/the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences (KNAW), KCTC : Korean Collection for Type Cultures.



図7 理化学研究所 JCM の微生物株保存設備：(A) 微生物株を保存するディープフリーザー、(B) 液体窒素タンク、(C) 微生物株を真空乾燥保存したガラスアンプルを保管する冷蔵庫、(D) 実際のガラスアンプルの様子 (写真提供：理化学研究所)

のカルチャーコレクションに保存されている (表1)。カルチャーコレクション自体の数は年々増加しており、現在約 800 もの機関が World Federation for Culture Collection (WFCC) に加盟している。それらのカルチャーコレクションについては、WFCC 内の機関であるワールドデータセンター (World Data Centre for Microorganisms: WDCM) によってまとめられている。代表的なカルチャーコレクションは、ドイツの DSMZ, 米国の ATCC, オランダの CBS-KNAW, 日本の JCM などが挙げられる。

JCM は、理化学研究所バイオリソース研究センター (RIKEN-BRC) に属する国内最大規模のカルチャーコレクションである。JCM では、バクテリア・アーキア・糸状菌・酵母を約 3 万株保有しており (非公開株を含む)、その中には海底下・地球深部から分離された微生物株¹⁵⁾¹⁶⁾ も含まれる。また、JCM はアーキアおよび極限環境由来の微生物株が充実している世界有数のカルチャーコレクションである。日本国内には、JCM の他にもいくつかのカルチャーコレクションが存在し、それぞれで特色のある微生物株が取り揃えられている (表1)。現在、原核生物命名規約において、分離培養した微生物株が新種として認められるためには、その基準株が少なくとも異なる 2 か国のカルチャーコレクションに寄託され、(公表後に) 利用可能となる必要がある。カ

ルチャーコレクションに寄託された微生物株は、品質管理された上で長期保存される (図7)。

一方で、研究者がカルチャーコレクションに寄託・保存された微生物株を利用したい場合、その微生物株の提供をカルチャーコレクションに申し込むことができる。JCM を含む多くのカルチャーコレクションでは、寄託・提供のどちらの場合も、利用者と「生物遺伝資源寄託 (もしくは提供) 同意書」(material transfer agreement: MTA) を取り交し、寄託者および提供依頼者の権利や義務の関係を明確にしている (図6)。カルチャーコレクションでは、それぞれの微生物分類群の専門家であるキュレーター (微生物株担当者) が微生物株を培養・保存し、厳しく品質管理している。そのため、提供依頼者は、品質が保障された微生物株を研究材料として用いることができる。

7 まとめ

ターゲットシグナルの汎世界的な分布の証明²⁾²³⁾ や科学知見の多角的なアプローチを行い、画期的な情報の確度を将来に保証する意味でも、本稿の前半で述べたような試料アーカイブ施設とキュレーション体制の重要性²⁴⁾ が再認識されている。

本稿の後半で述べた分離培養の手法は、古くて新しい手法であり、生命科学の「ルネッサンス」と表現される

こともある²⁵⁾。2015年の大村智博士のノーベル生理学賞の偉業が物語るように、分離培養の素過程から微生物の素性を知ることが、医学、食品学、薬学など様々な基礎・応用研究の重要な国際貢献²⁶⁾となっている。ワールドワイドなカルチャーコレクションは、科学の発展と社会への還元が大いに貢献していると言える。

謝辞 テキサス A&M 大学, ラトガース大学コア施設, プレーメン大学海洋環境センター, 高知コア研究所からは、関連する写真提供を頂き、本稿にご協力頂いた。

文 献

- 1) 松久幸敬, 赤木 右: 日本地球化学会 (監修), “地球化学講座 (1) 地球化学概説”, (培風館), (2005); 田中 剛, 吉田尚弘: 日本地球化学会 (監修), “地球化学講座 (8) 地球化学実験法”, (培風館), (2010).
- 2) A. A. P. Koppers, C. Escutia, F. Inagaki, H. Palike, D. M. Saffer and D. Thomas: *Oceanography* **32**, 219 (2019).
- 3) 高野淑識 分担執筆 “地球と宇宙の化学事典”, 日本地球化学会・蒲生俊敬・海老原 充 編, (朝倉書店) (2012).
- 4) A. Tesk, K. B. Sorensen, K. B.: *ISME J.*, **2**, 3 (2008).
- 5) B. N. Orcutt, J. B. Sylvan, N. J. Knab and K. J. Edwards: *Microbiol. Molecular Biol. Rev.*, **75**, 361 (2011).
- 6) T. M. Hoehler, B. B. Jorgensen: *Nature Rev. Microbiol.*, **11**, 83 (2013).
- 7) F. Inagaki, K.-U. Hinrichs, Y. Kubo, M. W. Bowles, V. B. Heuer, W.-L. Hong, T. Hoshino, A. Ijiri *et al.*: *Science*, **349**, 420 (2015).
- 8) D. Prangishvili, D. H. Bamford, P. Forterre, J. Iranzo, E. V. Koonin and M. Krupovic: *Nature Rev. Microbiol.*, **15**, 724 (2017).
- 9) W. D. Orsi: *Nature Rev. Microbiol.*, **16**, 671 (2018).
- 10) A. Spang, J. H. Saw, S. L. Jørgensen, K. Zaremba-Niedzwiedzka, J. Martijn, A. E. Lind, R. van Eijk, C. Schleper *et al.*: *Nature*, **521**, 173 (2015).
- 11) H. Imachi, M. K. Nobu, N. Nakahara, Y. Morono, M. Ogawara, Y. Takaki, Y. Takano, K. Uematsu *et al.*: *Nature*, **577**, 519 (2020).
- 12) J. Lambert: *Nature*, **572**, 294 (2019).
- 13) T. Watson: *Nature*, **569**, 322 (2019).
- 14) I. Cho, M. J. Blaser: *Nature Rev. Genetics*, **13**, 260 (2012).
- 15) H. Imachi, E. Tasumi, Y. Takaki, T. Hoshino, F. Schubotz, S. Gan, T.-H. Tu, Y. Saito *et al.*: *Sci. Rep.*, **9**, 2305 (2019).
- 16) V. Vandieken, I. P. Marshall, H. Niemann, B. Engelen, H.

Cypionka: *Frontiers Microbiol.*, **8**, 2614 (2018).

- 17) Y. Takano, H. Kojima, E. Takeda, Y. Yokoyama, M. Fukui: *Prog. Earth Planet. Sci.*, **2**, 8 (2015).
- 18) S. Kato, K. Yanagawa, M. Sunamura, Y. Takano, J.-I. Ishibashi, T. Kakegawa, M. Utsumi, T. Yamanaka *et al.*: *Environ. Microbiol.*, **11**, 3210 (2009).
- 19) T. Watanabe, H. Kojima, Y. Takano, M. Fukui: *Systematic Appl. Microbiol.*, **36**, 436 (2013).
- 20) 黒田潤一, 吉村寿紘, 川幡穂高, J.-E. Francisco J, L. Stefano, M. Vinicio, R. Marco: 地質学雑誌, **120**, 181 (2014).
- 21) J. Ishibashi, K. Okino, M. Sunamura: *Subseafloor Biosphere Linked to Hydrothermal Systems*, pp. 666. (Springer), (2015).
- 22) Y. Takano, Y. Chikaraishi, O. N. Ogawa, H. Nomaki, Y. Morono, F. Inagaki, H. Kitazato, K.-U. Hinrichs, N. Ohkouchi: *Nature Geosci.*, **3**, 858 (2010).
- 23) Y. Kashiyama, H. Miyashita, S. Ohkubo, N. O. Ogawa, Y. Chikaraishi, Y. Takano, H. Suga, T. Toyofuku *et al.*: *Science*, **321**, 658 (2008).
- 24) N. Planavsky, A. Hood, L. Tarhan, S. Shen, K. Johnson: *Nature*, **581**, 137 (2020).
- 25) H. Tamaki: *Microbes Environ.*, **34**, 117 (2019).
- 26) 大村 智: 学術の動向, **21**, 80 (2016).



高野淑識 (Yoshinori TAKANO)

国立研究開発法人 海洋研究開発機構 (〒237-0061 神奈川県横須賀市夏島町2-15)。筑波大学第一学群自然科学類化学専攻, 横浜国立大学大学院工学研究科物質工学専攻博士課程修了。博士 (工学)。《現在の研究テーマ》自然界の有機物を分子レベルで分析する新しい分析手法開発に関する研究。《主な著書》高野淑識, 関根康人・分担執筆 “バイオサイエンスシリーズ「アストロバイオロジー」”, 山岸明彦編 (化学同人) (2013)。E-mail: takano@jamstec.go.jp



加藤真悟 (Shingo KATO)

国立研究開発法人 理化学研究所バイオリソース研究センター微生物材料開発室 (JCM) (〒305-0074 茨城県つくば市高野台3-1-1)。東京薬科大学大学院生命科学研究科博士課程修了。博士 (生命科学)。《現在の研究テーマ》アーキア・極限環境微生物リソースの開発と整備。E-mail: skato@riken.jp