

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6660675号  
(P6660675)

(45) 発行日 令和2年3月11日(2020.3.11)

(24) 登録日 令和2年2月13日(2020.2.13)

(51) Int. Cl.			F I		
<b>C 1 2 M</b>	<b>1/26</b>	<b>(2006.01)</b>	C 1 2 M	1/26	
<b>G O 1 N</b>	<b>1/10</b>	<b>(2006.01)</b>	G O 1 N	1/10	B
<b>G O 1 N</b>	<b>1/14</b>	<b>(2006.01)</b>	G O 1 N	1/14	D

請求項の数 15 (全 14 頁)

(21) 出願番号	特願2015-103893 (P2015-103893)	(73) 特許権者	501379247
(22) 出願日	平成27年5月21日(2015.5.21)		日本ソフトウェアマネジメント株式会社
(65) 公開番号	特開2016-214170 (P2016-214170A)		神奈川県横浜市神奈川区金港町5番地32
(43) 公開日	平成28年12月22日(2016.12.22)		ベイフロント横浜
審査請求日	平成30年3月12日(2018.3.12)	(73) 特許権者	504145342
			国立大学法人九州大学
			福岡県福岡市西区元岡744
(出願人による申告)平成27年度、国立研究開発法人 科学技術振興機構、戦略的創造研究推進事業「海洋環境 水からの網羅的DNA抽出法の検討及び微生物採取の機 器開発」委託研究、産業技術力強化法第19条の適用を 受ける特許出願		(73) 特許権者	501168814
			国立研究開発法人水産研究・教育機構
			神奈川県横浜市西区みなとみらい二丁目3 番3号
		(74) 代理人	110000198
			特許業務法人湘洋内外特許事務所

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 水中微生物採集器、および水中微生物採集方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

一定時間継続して水中に設置された付着シートに付着した水中微生物を採集するために用いられる水中微生物採集器であって、

前記水中微生物を付着させる材料により構成される前記付着シートと、前記付着シートを保持する枠と、を有する1又は複数の、板状の付着板と、

前記付着板を水中に設置する部材と、

を備えることを特徴とする水中微生物採集器。

【請求項2】

付着シートに付着した水中微生物を採集するために用いられる水中微生物採集器であって、

前記水中微生物を付着させる材料により構成される前記付着シートと、前記付着シートを保持する枠と、を有する1又は複数の付着板と、

前記付着板を水中に設置する部材と、を備え、

前記部材は、該部材を軸として前記付着板を回動可能に保持することを特徴とする水中微生物採集器。

【請求項3】

請求項1又は2に記載の水中微生物採集器であって、

前記部材は、複数の前記付着板を水中の異なる深さに設置することを特徴とする水中微生物採集器。

10

20

## 【請求項 4】

請求項 3 に記載の水中微生物採集器であって、  
前記部材は、複数の前記付着板を所定の間隔で保持することを特徴とする水中微生物採集器。

## 【請求項 5】

請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の水中微生物採集器であって、  
180 度未満の角度をなす 2 枚の前記付着板により構成される採集具を備えることを特徴とする水中微生物採集器。

## 【請求項 6】

付着シートに付着した水中微生物を採集するために用いられる水中微生物採集器であって、

水中微生物を付着させる材料により構成される付着シートと、前記付着シートを保持する本体部分と、を有する採集具と、

前記採集具を水中に設置する部材と、を備え、

前記本体部分は、前記採集具が設置された前記水中における潮流の上流方向に前記付着シートが向くよう導く方向調整板を有することを特徴とする水中微生物採集器。

## 【請求項 7】

請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の水中微生物採集器であって、

前記付着シートは、略鉛直に延伸する前記部材により支持された状態で前記水中微生物を付着させて採集することを特徴とする水中微生物採集器。

## 【請求項 8】

付着シートに付着した水中微生物を採集するために用いられる水中微生物採集器であって、

一端が水中で下方向を向くよう設置された複数の給水管と、

前記給水管の各々の他端に複数設置され、水中微生物を付着させる材料により構成される付着シートを有する採集具と、

前記給水管の一端から他端まで水を導く給水器と、

前記複数の給水管から一定時間継続して水を導くよう前記給水器を制御するポンプコントローラと、

前記複数の給水管の一端が水中の異なる深さになるよう該給水管を保持すると共に、前記採集具及び前記給水器を保持するブイとを備え、

前記採集具は、前記給水器により前記他端まで継続して導かれた水から水中微生物を採集することを特徴とする水中微生物採集器。

## 【請求項 9】

請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の水中微生物採集器であって、

前記付着シートは、水をろ過することにより前記水中微生物を付着させることを特徴とする水中微生物採集器。

## 【請求項 10】

請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の水中微生物採集器であって、

前記付着シートは、シート形状であって、撓んで保持されることを特徴とする水中微生物採集器。

## 【請求項 11】

請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の水中微生物採集器であって、

前記付着シートは、目の大ききの異なる複数の網を、目の大ききの順に重ねて構成されることを特徴とする水中微生物採集器。

## 【請求項 12】

水中微生物を付着させる材料により構成される付着シートと、前記付着シートを保持する枠と、を有する 1 又は複数の板状の付着板を水中に一定時間継続して設置する設置手順と、

前記付着シートに付着した前記水中微生物を採集する採集手順と、

を実行することを特徴とする水中微生物採集方法。

【請求項 1 3】

請求項 1 2 に記載の水中微生物採集方法であって、  
前記設置手順では、複数の前記付着シートを水中の異なる深さに各々設置することを特徴とする水中微生物採集方法。

【請求項 1 4】

複数の給水管から一定時間継続して水を導くよう給水器を制御するポンプコントローラの制御により、水中で下方向を向くようブイに保持された複数の前記給水管の一端から他端まで、前記ブイに保持された前記給水器を用いて所定時間水を吸い上げ、前記他端に設置され、水中微生物を付着させる材料により構成される付着シートに前記水を供給する供給手順と、

前記ブイに保持された前記付着シートに付着した前記水中微生物を採集する採集手順と、  
、を実行し、

前記ブイは、前記複数の給水管の一端が水中の異なる深さになるよう該給水管を保持することを特徴とする水中微生物採集方法。

【請求項 1 5】

請求項 1 2 から 1 4 のいずれか一項に記載の水中微生物採集方法であって、  
前記一定時間は、干潮及び満潮の周期に基づいて定められることを特徴とする水中微生物採集方法

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、水中微生物採集器、および水中微生物採集方法に関する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

海洋環境の調査を行うために、水中微生物のモニタリングが行われている。現在、海中に採水器を沈めて海水を回収し、回収した海水から微生物を採集している。

【0 0 0 3】

特許文献 1 には、海、湖、川などの海洋調査、又は水質検査のために使用される採水器であって、「水を収納する採水筒の上下に、ロート状の上蓋および下蓋を取付け、各蓋のロートの筒口の上方には柔軟で弾性のある弁を、下方には重錘兼ストッパーを配置し、両者を筒口に挿通した連結具により上下に移動可能に連結した」採水器が開示されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0 0 0 4】

【特許文献 1】特開平 8 - 2 2 0 0 8 4 号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0 0 0 5】

水中微生物は、潮の流れに沿って移動する。例えば、海底泥に含まれる水中微生物が潮流により浮き上がり、引き潮や上げ潮に乗って海中を移動すると考えられる。潮の流れの速さや規模は日によって異なる。

【0 0 0 6】

水中微生物のモニタリングは、複数の採集データを比較することにより行われる。採水器を水に沈めて水中微生物を採集する場合、採水器に水が流入する瞬間における水中微生物を採集しているため、採水タイミングによって採集データにばらつきが生じる。そのため、好適なモニタリング結果を得ることができない。

【0 0 0 7】

特許文献 1 に記載された採水器は、瞬間的にある 1 地点の水中微生物を採取するものであるため、異なる条件下において移動する水中微生物のモニタリングに適さない。

## 【0008】

そこで、本発明は、移動する水中微生物のモニタリングに有用な水中微生物採集器の提供を目的とする。

## 【課題を解決するための手段】

## 【0009】

上記課題を解決するため、本発明に係る水中微生物採集器は、一定時間継続して水中に設置された付着シートに付着した水中微生物を採集するために用いられる水中微生物採集器であって、前記水中微生物を付着させる材料により構成される前記付着シートと、前記付着シートを保持する枠と、を有する1又は複数の、板状の付着板と、前記付着板を水中に設置する部材と、を備えることを特徴とする。

10

## 【0010】

また、上記課題を解決するため、本発明の他の態様に係る水中微生物採集器は、付着シートに付着した水中微生物を採集するために用いられる水中微生物採集器であって、前記水中微生物を付着させる材料により構成される前記付着シートと、前記付着シートを保持する枠と、を有する1又は複数の付着板と、前記付着板を水中に設置する部材と、を備え、前記部材は、該部材を軸として前記付着板を回動可能に保持することを特徴としてもよい。

## 【0011】

また、上記課題を解決するため、前記部材は、複数の前記付着板を水中の異なる深さに設置することを特徴としてもよい。

20

## 【0012】

また、上記課題を解決するため、前記部材は、複数の前記付着板を所定の間隔で保持することを特徴としてもよい。

## 【0013】

また、上記課題を解決するため、前記採集具は、180度未満の角度をなす2枚の前記付着板により構成される採集具を備えることを特徴としてもよい。

## 【0014】

また、上記課題を解決するため、本発明の他の態様に係る水中微生物採集器は、付着シートに付着した水中微生物を採集するために用いられる水中微生物採集器であって、水中微生物を付着させる材料により構成される付着シートと、前記付着シートを保持する本体部分と、を有する採集具と、前記採集具を水中に設置する部材と、を備え、前記本体部分は、前記採集具が設置された前記水中における潮流の上流方向に前記付着シートが向くよう導く方向調整板を有することを特徴とする。

30

## 【0015】

また、上記課題を解決するため、前記付着シートは、略鉛直に延伸する前記部材により支持された状態で前記水中微生物を付着させて採集することを特徴としてもよい。

## 【0016】

また、上記課題を解決するため、本発明の他の態様に係る水中微生物採集器は、付着シートに付着した水中微生物を採集するために用いられる水中微生物採集器であって、一端が水中で下方向を向くよう設置された複数の給水管と、前記給水管の各々の他端に複数設置され、水中微生物を付着させる材料により構成される付着シートを有する採集具と、前記給水管の一端から他端まで水を導く給水器と、前記複数の給水管から一定時間継続して水を導くよう前記給水器を制御するポンプコントローラと、前記複数の給水管の一端が水中の異なる深さになるよう該給水管を保持すると共に、前記採集具及び前記給水器を保持するブイとを備え、前記採集具は、前記給水器により前記他端まで継続して導かれた水から水中微生物を採集することを特徴とする。

40

## 【0017】

また、上記課題を解決するため、前記付着シートは、水をろ過することにより前記水中微生物を付着させることを特徴としてもよい。

## 【0018】

50

また、上記課題を解決するため、前記付着シートは、シート形状であって、前記枠に対して撓んで保持されることを特徴としてもよい。

【0019】

また、上記課題を解決するため、前記付着シートは、目の大きさの異なる複数の網を、目の大きさの順に重ねて構成されることを特徴としてもよい。

【0020】

また、上記課題を解決するため、本発明の他の態様に係る水中微生物採集方法は、水中微生物を付着させる材料により構成される付着シートと、前記付着シートを保持する枠と、を有する1又は複数の板状の付着板を水中に一定時間継続して設置する設置手順と、前記付着シートに付着した前記水中微生物を採集する採集手順と、を実行することを特徴とする。 10

【0021】

また、上記課題を解決するため、前記設置手順では、複数の前記付着シートを水中の異なる深さに各々設置することを特徴としてもよい。

【0022】

また、上記課題を解決するため、本発明の他の態様に係る水中微生物採集方法は、複数の給水管から一定時間継続して水を導くよう給水器を制御するポンプコントローラの制御により、水中で下方向を向くようブイに保持された複数の前記給水管の一端から他端まで、前記ブイに保持された前記給水器を用いて所定時間水を吸い上げ、前記他端に設置され、水中微生物を付着させる材料により構成される付着シートに前記水を供給する供給手順と、前記ブイに保持された前記付着シートに付着した前記水中微生物を採集する採集手順と、を実行し、前記ブイは、前記複数の給水管の一端が水中の異なる深さになるよう該給水管を保持することを特徴とする。 20

【0024】

また、上記課題を解決するため、前記所定時間は、干潮及び満潮の周期に基づいて定められることを特徴としてもよい。

【発明の効果】

【0025】

本発明によれば、移動する水中微生物のモニタリングをより適切に行うことができる。

【図面の簡単な説明】 30

【0026】

【図1】第1の実施形態における水中微生物採集器の一例を示す図である。

【図2】第1の実施形態における採集具の構成の一例を示す図である。

【図3】ブイ方向から見た第1の実施形態における採集具の一例を示す図である。

【図4】第1の実施形態における水中微生物採集器を用いた採集の概要を説明するための図である。

【図5】水中微生物の採集後の処理の一例を示す図である。

【図6】第1の実施形態における採集具により採集したDNAの抽出量を示す表である。

【図7】第1の実施形態における水中微生物採集器1の変形例を示す図である。

【図8】第2の実施形態における水中微生物採集器の一例を示す図である。 40

【図9】従来の水中微生物の採集方法の一例を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0027】

以下、本発明の一実施形態について説明する。

【0028】

海洋や湖沼には様々な微生物が存在している。そのため、水中微生物の採集及び分析が、海洋及び湖沼の環境の調査に役立てられている。例えば、赤潮など所定の環境変化の発生前後での水中微生物の分布を調査することにより、環境変化の予測を行うことが研究されている。

【0029】

図 9 は、従来の水中微生物の採集方法の一例を示す図である。図 9 ( A ) は、採水器 4 0 を用いて海水を回収する様子を示す。従来は、海中の所定ポイントに採水器 4 0 を沈めて海水を回収し、図 9 ( B ) に示すように、回収した海水をフィルタ 4 1 を用いてろ過する。その後、フィルタ 4 1 に残存する水中微生物を採集する。

【 0 0 3 0 】

ところで、水中微生物は、潮の流れに沿って移動する。例えば、海底泥に含まれる水中微生物のシスト ( 包囊 ) 1 が潮の流れに乗って上昇し、他の海域まで移動する。潮流の上下方向の幅 ( 深さ ) 、及び速さは日によって異なる。

【 0 0 3 1 】

例えば、引き潮及び上げ潮から生じる干満を 1 サイクルと考えると、潮流の深さや方向、速さは各サイクルによって異なる。複数回にわたり水中微生物の採集を行い、各々の採集結果を比較することにより分布状況を調査するモニタリングにあっては、所定の海域において一定時間 ( 例えば、干満の 1 サイクル ) 継続して水中微生物の採集を行い、採集結果を平滑化することにより、潮流の深さや方向、速さ等の採集条件のばらつきを緩和することが望ましい。しかしながら、採水器 4 0 を用いた水中微生物の採集では、採水器 4 0 に即時的に流入した水から水中微生物を採集するため、採水タイミングの都度採集条件が異なることとなり、モニタリングに適さない。

【 0 0 3 2 】

< 第 1 の実施形態 >

【 0 0 3 3 】

図 1 は、第 1 の実施形態における水中微生物採集器 1 の一例を示す図である。水中微生物採集器 1 は、採集具 1 1 と、ブイ 1 2 と、ロープ 1 3 と、アンカー 1 4 とを有する。

【 0 0 3 4 】

採集具 1 1 は、水中微生物を採集する部材である。採集具 1 1 は、水中微生物を付着させる付着材を有する。なお、図 1 に示す水中微生物採集器 1 は、3 つの採集具 1 1 を備えているが、採集具の数はこれに限られない。水中微生物採集器 1 は、1 または複数の採集具 1 1 を備える。

【 0 0 3 5 】

付着材は、水中微生物を付着させる材料により構成される。一例において、付着材は多孔質の材料、又は微細な繊維が絡まってなる材料から成る。付着材は、例えばポリプロピレン、ポリウレタン、ポリエチレン、ポリアミド、ポリカーボネート、アクリル、セルロース混合エステル、又はセルロースアセテートである。付着材は、多孔質である表面に水中微生物を付着させたり、水をろ過することにより水中微生物を付着させる。また、付着材は、例えばカーボンであって、水中微生物を吸着することにより付着させる。他の例において、付着材は金属材料である。付着材は、例えば鉄である。また、付着材はその形状を問わない。付着材は、立方体や直方体等の形状であってもよいし、シート形状であってもよい。

【 0 0 3 6 】

ブイ 1 2 は、水面に浮かぶ浮き具であって、アンカー 1 4 に接続されたロープ 1 3 が水面から下方向に伸びるよう、ロープ 1 3 を保持している。ロープ 1 3 は、採集具 1 1 を水中に設置する部材である。水中微生物採集器 1 が複数の採集具 1 1 を備える場合、ロープ 1 3 は、複数の採集具 1 1 を水中の異なる深さに設置する。なお、図 1 に示す水中微生物採集器 1 は、1 つのロープ 1 3 に対して複数の採集具 1 1 が保持されているが、水中微生物採集器 1 が複数の採集具 1 1 を備える場合、各々の採集具 1 1 を異なる複数のロープ 1 3 が保持してもよい。

【 0 0 3 7 】

ロープ 1 3 には、例えば所定間隔 ( 例えば 5 m 間隔 ) で採集具 1 1 が保持されている。ロープ 1 3 は、例えば屈曲可能なワイヤ等であるが、屈曲しないポール等であってもよい。

【 0 0 3 8 】

アンカー 14 は、水中微生物採集器 1 を水中の所定ポイントに留めておくための重りであって、アンカー 14 によってロープ 13 が水面に対して略垂直に保持される。なお、ロープ 13 が屈曲しない場合には、アンカー 14 は必ずしも必要でない。

【0039】

なお、水中微生物採集器 1 が複数の採集具 11 を備える場合、水中微生物採集器 1 は水平面と平行する同一平面上の異なる位置に採集具 11 を保持してもよい。その場合、ロープ 13 はブイ 12 に対して略水平に保持される。これにより、所定の深さにおける異なる位置の水中微生物の分布状況を調査可能である。

【0040】

図 2 は、第 1 の実施形態における採集具 11 の構成の一例を示す図である。図 2 (A) は、採集具 11 の構成例を示す線図である。採集具 11 は、所定の角度を成す 2 枚の付着板 110 により構成される。2 枚の付着板 110 は接続部 113 により接続されており、2 枚の付着板 110 の成す角は 180 度未満である。採集具 11 はロープ 13 に保持され、ロープ 13 を軸として回動可能である。そのため、採集具 11 に対して潮流 が当たると、採集具 11 は接続部 113 が潮流 の上流の方向を向くよう回動する。

【0041】

なお、ロープ 13 が略水平に保持される場合、ロープ 13 は水平面に対して略垂直の方向に延伸する軸を有し、採集具 11 は軸の周方向に沿って回動可能となるよう保持される。

【0042】

付着板 110 は、枠 111 と、付着シート 112 とを有する。枠 111 は、付着シート 112 を保持する部材である。付着シート 112 は、上述の付着材として取り扱われる。本実施形態において、付着シート 112 は、水中微生物を含む海水をろ過するシート形状のフィルタである。付着シート 112 が有するフィルタのポアサイズ（目の大きさ）は、採集を目的とする水中微生物の大きさに応じて適宜変更が可能である。なお、本実施形態における付着シート 112 は、ポアサイズの異なる複数のフィルタを重ねて構成される。2 枚の付着板 110 が成す 180 度未満の部分の採集具の 11 の内側とすると、採集具 11 の外側から、ポアサイズの大きい順にフィルタが重ねられている。

【0043】

図 2 (B) は、採集具 11 の一例を示す写真である。本図に示す通り、採集具 11 は 180 度未満の角度を成す 2 枚の付着板 110 により構成される。

【0044】

図 3 は、ブイ 12 方向から見た第 1 の実施形態における採集具 11 の一例を示す図である。本実施形態では、付着シート 112 は枠 111（及び付着板 110）に対して撓んで保持される。付着シート 112 の撓みに水中微生物が入り込むため、より多くの水中微生物を採集することができる。なお、枠 111 と付着シート 112 とが同平面を成すよう、枠 111 が弛みなく付着シート 112 を保持するものであってもよい。

【0045】

2 枚の付着板 110 は 180 度未満の角 を成す。各 は、例えば 90 度である。海域等により適宜角 を調整することで、目的とする水中微生物の付着量を調整したり、付着シート 112 にゴミが付着することを防いだりすることができる。

【0046】

図 4 は、第 1 の実施形態における水中微生物採集器 1 を用いた採集の概要を説明するための図である。図 4 (A) に示す左から右へと引き潮 1 が流れる。採集具 11 に引き潮 が当たることにより、採集具 11 は接続部 113 が引き潮 1 の上流方向（図 4 (A) 中の左方向）を向くよう、ロープ 13 の周方向に沿って回動する。

【0047】

従来の採水器 40 を用いた水中微生物の採集では、採水器 40 を沈めて海水を採水器 40 に入れ、海上に引き上げるにより採水を行うため、短時間のうちに採水器 40 に流入する海水に含まれる水中微生物を採集していた。そのため、引き潮 1 の上流に存在す

る微生物群 2 を採集することができなかつた。本実施形態では、潮流の深さや方向、速さ等の採集条件のばらつきを緩和するため、水中微生物採集器 1 を所定時間継続して水中に設置する。そのため、潮の移動域 に沿って流される水中微生物を採集可能である。従って、引き潮 1 の上流に存在する微生物群 2 は、一定時間継続して設置される採集具 1 1 によって採集される。

【 0 0 4 8 】

水中微生物採集器 1 を設置する時間は、例えば 1 ~ 2 4 時間である。また例えば、水中微生物採集器 1 を設置する時間は、採集地点における引き潮及び上げ潮から生じる周期に基づいて設定されてもよい。この場合、該所定時間は、例えば引き潮及び上げ潮を 1 度ずつ含む周期の継続時間である。なお、長期の採集として、例えば 1 週間設置してもよい。 10

【 0 0 4 9 】

図 4 ( B ) 中の右から左へと流れる上げ潮 2 についても同様である。上げ潮 2 が採集具 1 1 に当たると、採集具 1 1 は接続部 1 1 3 が上げ潮 2 の上流方向 ( 図 4 ( B ) 中の右方向 ) を向くようロープ 1 3 の周方向に沿って回転する。上げ潮 2 の上流に存在する微生物群 2 についても、水中微生物採集器 1 を一定時間継続して設置することで、採集が可能となる。

【 0 0 5 0 】

本実施形態における水中微生物採集器 1 では、水中微生物採集器 1 を一定時間継続して水中に設置することにより、一時的な状況の変化の影響が軽減され、より平滑化された採集結果を得ることができる。また、水中の異なる深さに採集具 1 1 を設置しているため、潮の流れに沿って海底泥 から湧き出る水中微生物群の深さ方向の移動状況を認識することができる。従って、移動する水中微生物のモニタリングにおいて、より有用な情報を取得することができる。 20

【 0 0 5 1 】

図 5 は、水中微生物の採集後の処理の一例を示す図である。まず、採集具 1 1 から付着シート 1 1 2 を取り外す ( 第 1 の工程 ) 。

【 0 0 5 2 】

次に、付着シート 1 1 2 から微生物 3 1 を分離する ( 第 2 の工程 ) 。

【 0 0 5 3 】

次に、微生物 3 1 から DNA 3 を抽出する ( 第 3 の工程 ) 。

【 0 0 5 4 】

次に、DNA シーケンサ 3 3 を用いて、抽出した DNA 3 の塩基配列を読み取る ( 第 4 の工程 ) 。その後、読み取った塩基配列を解析し、データとして蓄積する。 30

【 0 0 5 5 】

< 実験例 >

【 0 0 5 6 】

図 6 は、第 1 の実施形態における採集具 1 1 により採集した DNA の抽出量を示す表である。本実験例では、ロープ 1 3 に 1 つの採集具 1 1 ( 図 2 ( B ) 写真に示す採集具 1 1 ) を保持させ、図 6 に示す各地において、採集具 1 1 を水深 2 m の位置に沈めた。なお、付着シート 1 1 2 を構成するフィルタは直径 4.7 mm であって、フィルタのポアサイズは直径 0.2  $\mu$ m、0.4  $\mu$ m、又は 0.45  $\mu$ m のいずれかであり、図 5 に示す手順で DNA を抽出した。図 6 に示す通り、DNA が抽出されており、第 1 の実施形態における採集具 1 1 を用いて水中微生物が採集できることが分かった。 40

【 0 0 5 7 】

< 変形例 >

【 0 0 5 8 】

図 7 は、第 1 の実施形態における水中微生物採集器 1 の変形例を示す図である。図 7 ( A ) は、採集具 1 1 の変形例を示す写真である。本変形例における採集具 1 1 は、内部に付着材としての付着シート 1 1 2 を有する本体部分と、該本体部分が上流方向に向くよう導く方向調整板とを備える。本図では、方向調整板は略三角形をしており、本体部分と接 50



続する接続部から該接続部と対向する他端に向かうにつれて漸次幅が広がるよう構成される。なお、方向調整板の形状はこれに限られない。水中に採集具 11 を設置した場合、方向調整板の側面に水流が当たることにより、本体部分が水流の上流方向を向く。

【 0 0 5 9 】

図 7 ( B ) は、水中微生物採集器 1 の構成例を示している。水中微生物採集器 1 は、本変形例における採集具 11 を 1 つ備えるものであっても、複数備えるものであってもよい。

【 0 0 6 0 】

< 第 2 の実施形態 >

【 0 0 6 1 】

次に、第 2 の実施形態における水中微生物採集器 2 について説明する。図 8 は、第 2 の実施形態における水中微生物採集器 2 の一例を示す図である。以下、上述の実施形態と異なる点について説明し、重複する点については説明を省略する。

【 0 0 6 2 】

水中微生物採集器 2 は、採集具 21 と、ブイ 22 と、給水管 23 と、給水ポンプ 24 と、ポンプコントローラ 25 とを有する。

【 0 0 6 3 】

採集具 21 は、水中微生物を付着させる付着材を有する。上述の実施形態と同様に、付着材は、水中微生物を付着させる機能を有するものであれば、素材や形状を問わない。

【 0 0 6 4 】

図 8 に示す水中微生物採集器 2 は、水中微生物を含む海水をろ過するフィルタである付着シート 112 と、付着シート 112 を保持する部材である枠 111 とを有する。付着シート 112 は付着材として機能し、上述の実施形態と同様に海水をろ過することにより、水中微生物を採集する。

【 0 0 6 5 】

なお、上述の実施形態と同様に、付着シート 112 は枠 111 に対して撓むように保持されていてもよい。また、付着シート 112 はポアサイズの異なる複数のフィルタを重ねてなるものであってもよい。この場合、給水管 23 の端に近い側から順に目の大きいフィルタが重ねられたものであってもよい。

【 0 0 6 6 】

ブイ 22 は、水面に浮かぶ浮き具であって、採集具 21 と、給水管 23 と、給水ポンプ 24 と、ポンプコントローラ 25 とを保持している。

【 0 0 6 7 】

給水管 23 は、給水ポンプ 24 により汲み上げられる海水を通す管である。給水管 23 の一端は水中に到達しており、他端には採集具 21 が設置される。図 8 に示す水中微生物採集器 2 は、3 つの給水管 23 を備えているが、水中微生物採集器 2 が備える給水管 23 の数はこれに限定されず、単数であってよい。

【 0 0 6 8 】

水中微生物採集器 2 が複数の給水管 23 を備える場合、各々の給水管 23 は先端が水中の異なる深さに到達するようブイ 22 に保持される。各々の給水管 23 には、該給水管 23 を通ってくみ上げられた海水がろ過可能な位置に、採集具 21 が設置される。

【 0 0 6 9 】

給水ポンプ 24 は、ポンプコントローラ 25 の制御により、海水をくみ上げる。給水ポンプ 24 は、例えばモータの駆動により海水を吸い上げる。給水ポンプ 24 により、海水は給水管 23 の一端から他端まで導かれる。ポンプコントローラ 25 は、複数の給水管 23 から継続的に海水をくみ上げるよう給水ポンプ 24 を制御する。

【 0 0 7 0 】

前述したように、潮流の深さや方向等の採集条件は、採集時点によって異なる。そのため、水中微生物採集器 2 を用いて水中微生物の採集を行う際には、採集条件のばらつきを緩和するために、所定時間継続して採集を行う。つまり、ポンプコントローラ 25 は給

10

20

30

40

50

水ポンプ 24 を用いて所定時間継続して給水管 23 から水をくみ上げる。採集具 21 には、所定時間継続して水が供給され、ろ過されずに付着シート 112 に残った水中微生物が採集される。採集具 21 に対して水を供給する継続時間は、上述の実施形態と同様に、例えば給水管 23 の一端において発生している引き潮及び上げ潮から生じる周期に基づいて設定される。設定時間は、例えば引き潮及び上げ潮を 1 度ずつ含む周期の継続時間である。

#### 【0071】

本実施形態では、給水管 23 から継続的に採水された水から水中微生物を採集するため、採水器 40 を用いた従来の採集方法に比べて水中微生物の移動状況を考慮した採集を行うことができる。また、水中の異なる深さに到達するように設置された複数の給水管 23、及び複数の採集具 21 を用いることにより、異なる深さに存在する水中微生物を共通のタイミングで採集することができる。従って、移動する水中微生物のモニタリングを適切に行うことができる。

10

#### 【0072】

以上、各実施形態に基づき本発明の説明を行ってきたが、上記実施形態に示した要件に本発明が限定されるものではない。これらの点に関しては、本発明の主旨をそこなわない範囲で変更することができ、その応用形態に応じて適切に定めることができる。また、各実施形態は、それぞれの特徴を組み合わせることができる。上述のいずれかの水中微生物採集器が、他の実施形態の特徴を併せ持つものであってもよい。

#### 【0073】

なお、上述の実施形態では、海中の水中微生物の採集について説明したが、水中微生物採集器 1 又は水中微生物採集器 2 により採集される水中微生物は、海中の微生物に限られない。また、水中微生物採集器 1 又は水中微生物採集器 2 により採集される生物は、微生物に限られない。

20

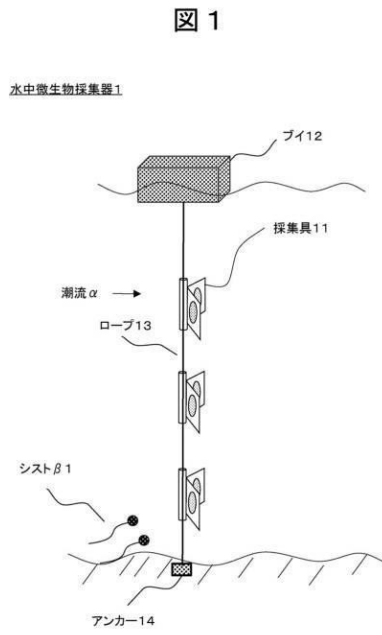
#### 【符号の説明】

#### 【0074】

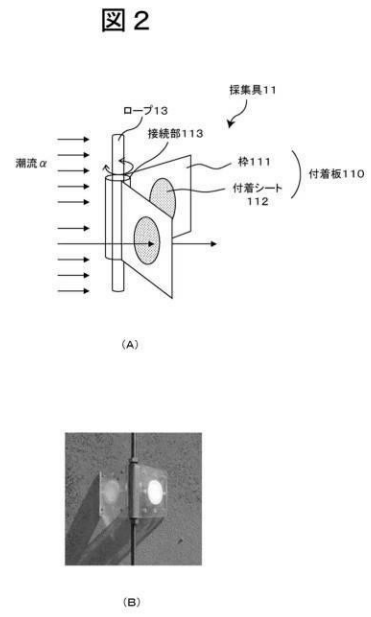
1・・・水中微生物採集器、2・・・水中微生物採集器、11・・・採集具、12・・・ブイ、13・・・ロープ、14・・・アンカー、21・・・採集具、22・・・ブイ、23・・・給水管、24・・・給水ポンプ、25・・・ポンプコントローラ、31・・・微生物、32・・・ビーズ、33・・・DNAシーケンサ、40・・・採水器、41・・・フィルタ、110・・・付着板、111・・・枠、112・・・付着シート、113・・・接続部、・・・潮流、1・・・引き潮、2・・・上げ潮、1・・・シスト、2・・・微生物群、3・・・DNA、・・・潮の移動域、・・・海底泥

30

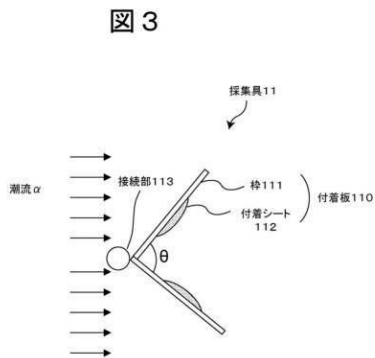
【 図 1 】



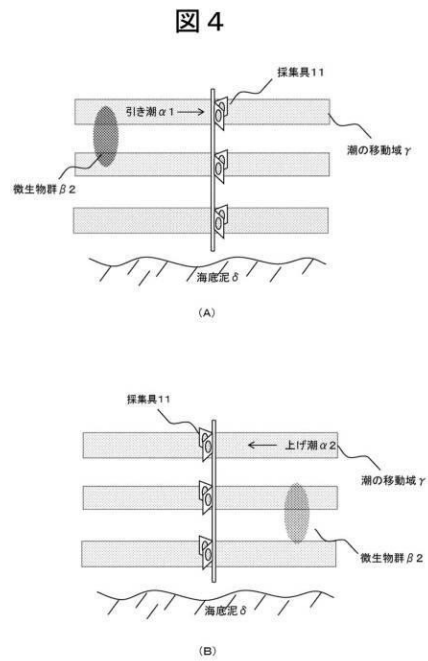
【 図 2 】



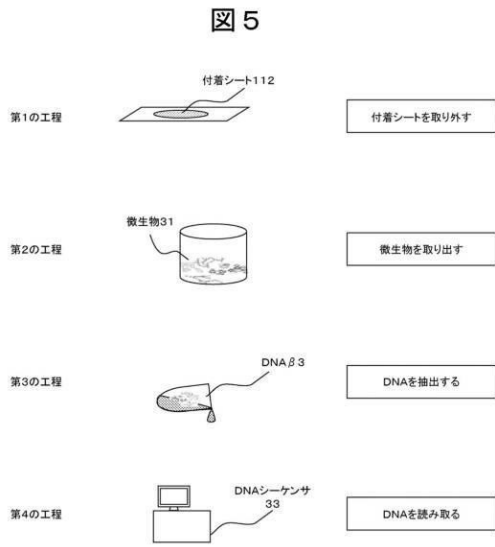
【 図 3 】



【 図 4 】



【 図 5 】



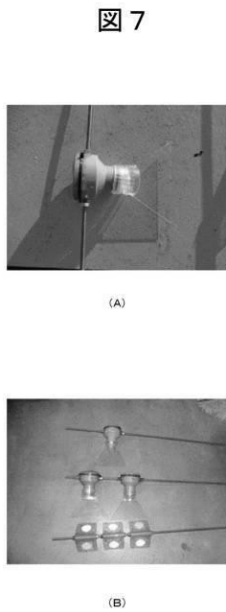
【 図 6 】

**図 6**

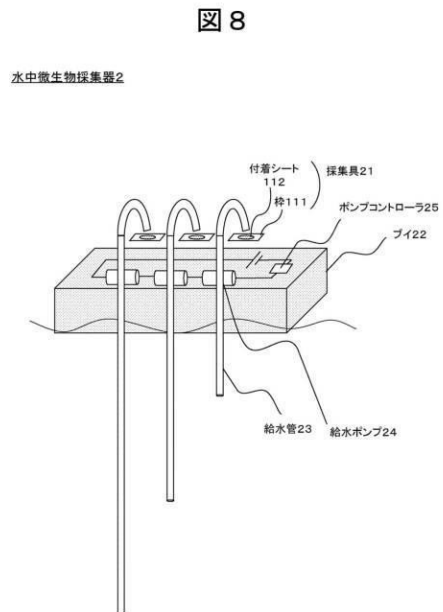
DNAの抽出量

採水日	海域名	ブイ	水深 (m)	フィルタサイズ (cm)	フィルタの目まアヤ (μm)	フィルター種類	採集時間	DNA抽出日	DNA濃度 (ng/μl)	DNA総量 (ng)
2015/1/21	八代海	堤防	2m	17	0.2	セルロース混合エステル	1hr	2015/1/27	0.0	2
2015/1/21	八代海	堤防	2m	17	0.2	セルロースアセテート	1hr	2015/1/27	0.0	2
2015/1/21	八代海	堤防	2m	17	0.2	ポリカーボネート	1hr	2015/1/27	0.0	2
2015/1/21	八代海	堤防	2m	17	0.45	セルロース混合エステル	1hr	2015/1/27	0.0	2
2015/1/21	八代海	堤防	2m	17	0.45	セルロースアセテート	1hr	2015/1/27	0.0	1
2015/1/21	八代海	堤防	2m	17	0.4	ポリカーボネート	1hr	2015/1/27	0.0	0
2015/1/21	八代海	堤防	2m	17	0.2	セルロース混合エステル	12hr	2015/1/27	0.1	6
2015/1/21	八代海	堤防	2m	17	0.2	セルロースアセテート	12hr	2015/1/27	0.0	1
2015/1/21	八代海	堤防	2m	17	0.2	ポリカーボネート	12hr	2015/1/27	0.0	1
2015/1/21	八代海	堤防	2m	17	0.45	セルロース混合エステル	12hr	2015/1/27	0.3	31
2015/1/21	八代海	堤防	2m	17	0.45	セルロースアセテート	12hr	2015/1/27	0.1	6
2015/1/21	八代海	堤防	2m	17	0.4	ポリカーボネート	12hr	2015/1/27	0.0	4
2015/2/3	八代海	大島尾沖	2m	17	0.2	セルロース混合エステル	1hr	2015/2/5	0.0	4
2015/2/3	八代海	大島尾沖	2m	17	0.2	セルロースアセテート	1hr	2015/2/5	0.0	3
2015/2/3	八代海	大島尾沖	2m	17	0.2	ポリカーボネート	1hr	2015/2/5	0.0	0
2015/2/3	八代海	大島尾沖	2m	17	0.45	セルロース混合エステル	1hr	2015/2/5	0.1	7
2015/2/3	八代海	大島尾沖	2m	17	0.45	セルロースアセテート	1hr	2015/2/5	0.0	4
2015/2/3	八代海	大島尾沖	2m	17	0.4	ポリカーボネート	1hr	2015/2/5	0.1	12
2015/2/9	八代海	大島尾沖	2m	17	0.2	セルロース混合エステル	1week	2015/2/11	4.8	465
2015/2/9	八代海	大島尾沖	2m	17	0.2	セルロースアセテート	1week	2015/2/11	1.0	98
2015/2/9	八代海	大島尾沖	2m	17	0.2	ポリカーボネート	1week	2015/2/11	0.3	24
2015/2/9	八代海	大島尾沖	2m	17	0.45	セルロース混合エステル	1week	2015/2/11	5.9	569
2015/2/9	八代海	大島尾沖	2m	17	0.45	セルロースアセテート	1week	2015/2/11	1.3	120
2015/2/9	八代海	大島尾沖	2m	17	0.4	ポリカーボネート	1week	2015/2/11	1.2	114

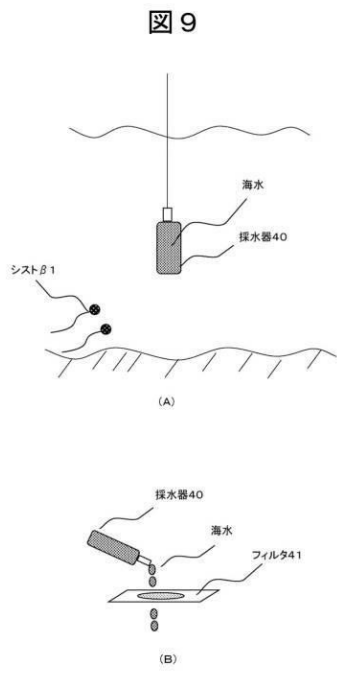
【 図 7 】



【 図 8 】



【図9】



## フロントページの続き

- (72)発明者 奈須 永典  
神奈川県横浜市神奈川区金港町5番地32 日本ソフトウェアマネジメント株式会社内
- (72)発明者 辻本 敦美  
神奈川県横浜市神奈川区金港町5番地32 日本ソフトウェアマネジメント株式会社内
- (72)発明者 吉武 和敏  
神奈川県横浜市神奈川区金港町5番地32 日本ソフトウェアマネジメント株式会社内
- (72)発明者 石野 良純  
福岡県福岡市東区箱崎六丁目10番1号 国立大学九州大学内
- (72)発明者 小林敬典  
神奈川県横浜市西区みなとみらい2-3-3 クイーンズタワーB棟15階 国立研究開発法人  
水産総合研究センター内
- (72)発明者 坂見 知子  
宮城県塩釜市新浜町 3-27-5 国立研究開発法人 水産総合研究センター 東北区水産研究  
所内

審査官 西 賢二

- (56)参考文献 特開2009-244200(JP,A)  
実開昭53-003891(JP,U)  
特開2007-263892(JP,A)  
特開昭58-019534(JP,A)  
特開2007-263893(JP,A)  
特開昭54-104892(JP,A)  
特開2010-000421(JP,A)  
中国実用新案第204228469(CN,U)  
松田漁具店 プラクトン用ネットNO BR 500超極細 直径15cm 細目103μ 深さ3cm 柄の長さ 30cm  
 , [ オンライン ] , [ 検索日 : 2019 07 29 ] , インターネット , <https://www.amazon.co.jp/%E9%81%B8%E5%88%A5%E7%B6%B2%E6%9D%BE%E7%94%B0%E6%BC%81%E5%85%B7%E5%BA%97%E3%83%97%E3%83%A9%E3%83%B3%E3%82%AF%E3%83%88%E3%83%B3%E7%94%A8%E3%83%8D%E3%83%83%E3%83%88%NO%BR%500%E8%B6%85%E6%A5%B5%E7%B4%B0%E7%9B%B4%E5%BE%8415cm%E7%B4%B0%E7%9B%AE103%CE%BC%E6%B7%B1%E3%81%953cm%E6%9F%84%E3%81%AE%E9%95%B7%E3%81%95%30cm/dp/B00IKA2970>  
河川整備基金助成事業 塩分が比較的安定している感潮域における付着性汚損生物の侵入動態の  
解明 報告書 , [ オンライン ] , [ 検索日 : 2019 7 30 ] , インターネット , URL , public rep  
ort.kasen.or.jp/181215007.pdf  
河川財団 助成事業成果報告書 条件検索 検索結果 , [ オンライン ] , [ 検索日 : 2019 07 30 ]  
 , インターネット , URL , [https://kikinshinsei.kasen.or.jp/searchDoc/sinsei\\_infos](https://kikinshinsei.kasen.or.jp/searchDoc/sinsei_infos)

## (58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)

C12M 1/00-3/10  
G01N 1/00-1/44  
Caplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS(STN)  
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)