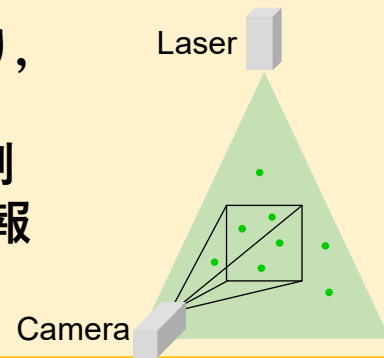


厚岸湖及び別寒辺牛湿原における 珪藻浮遊現象の解明

東京理科大学 理学研究科
井出 祐貴

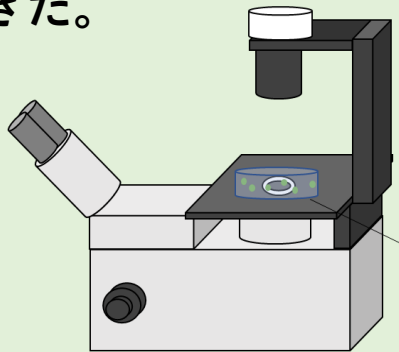
- [1] Xiao, F., Li, X.Y., Lam, K.M., Wang, D.S., 2012. Investigation of the hydrodynamic behavior of diatom aggregates using particle image velocimetry. J. Environ. Sci. 24, 1157-1164
[2] White, D.J., Take, W.A., Bolton, M.D., 2003. Soil deformation measurement using particle image velocimetry (PIV) and photogrammetry. Geotechnique. 53, 619-631.

- ・流体中を浮遊する生体分子は数多くあり、珪藻にも水中を浮遊するものがある。
- ・珪藻浮遊の研究例として粒子画像流速測定法 (PIV) を用いた細胞群の浮遊の速度報告などがある。 [1,2]



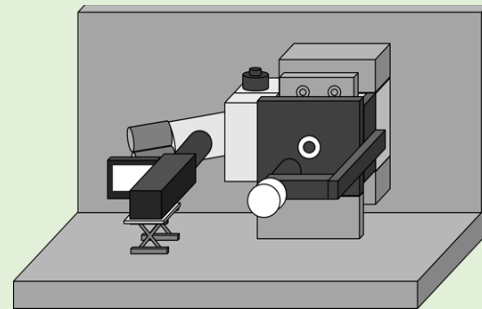
これまでの研究では

- ・倒立顕微鏡でシャーレ内を浮遊する珪藻を観察できた。



- ・しかし、この観察方法では細胞の浮遊によって顕微鏡の焦点から外れてしまう。

- ・今回は、地表面に対して垂直な試料ステージを持つ顕微鏡（以下、横倒し顕微鏡）を使用した。

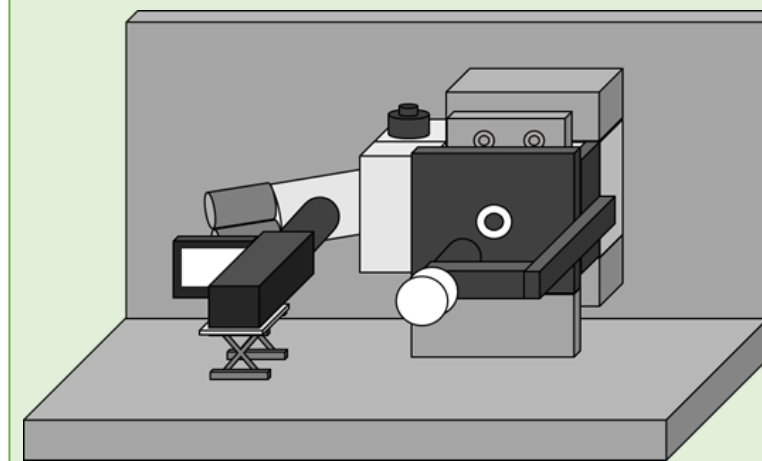
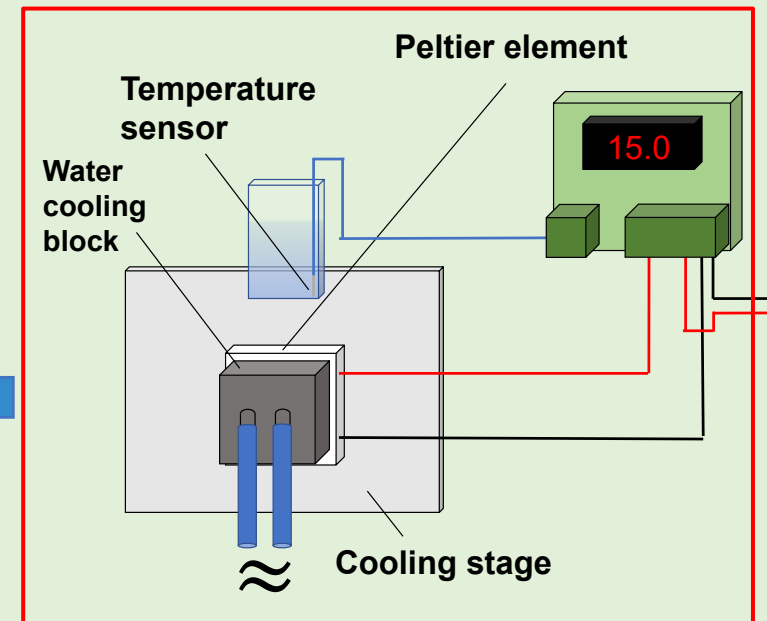


- ・横倒し顕微鏡であれば、細胞の浮遊を観察できる。

- ・浮遊性の珪藻は鞭毛などの運動器官を持たないことから、細胞の浮遊には液中の温度が関係すると考えた。

本研究

- ・横倒し顕微鏡に取り付けられる温度制御装置を作製し、細胞の浮遊と温度の関係について調べた。

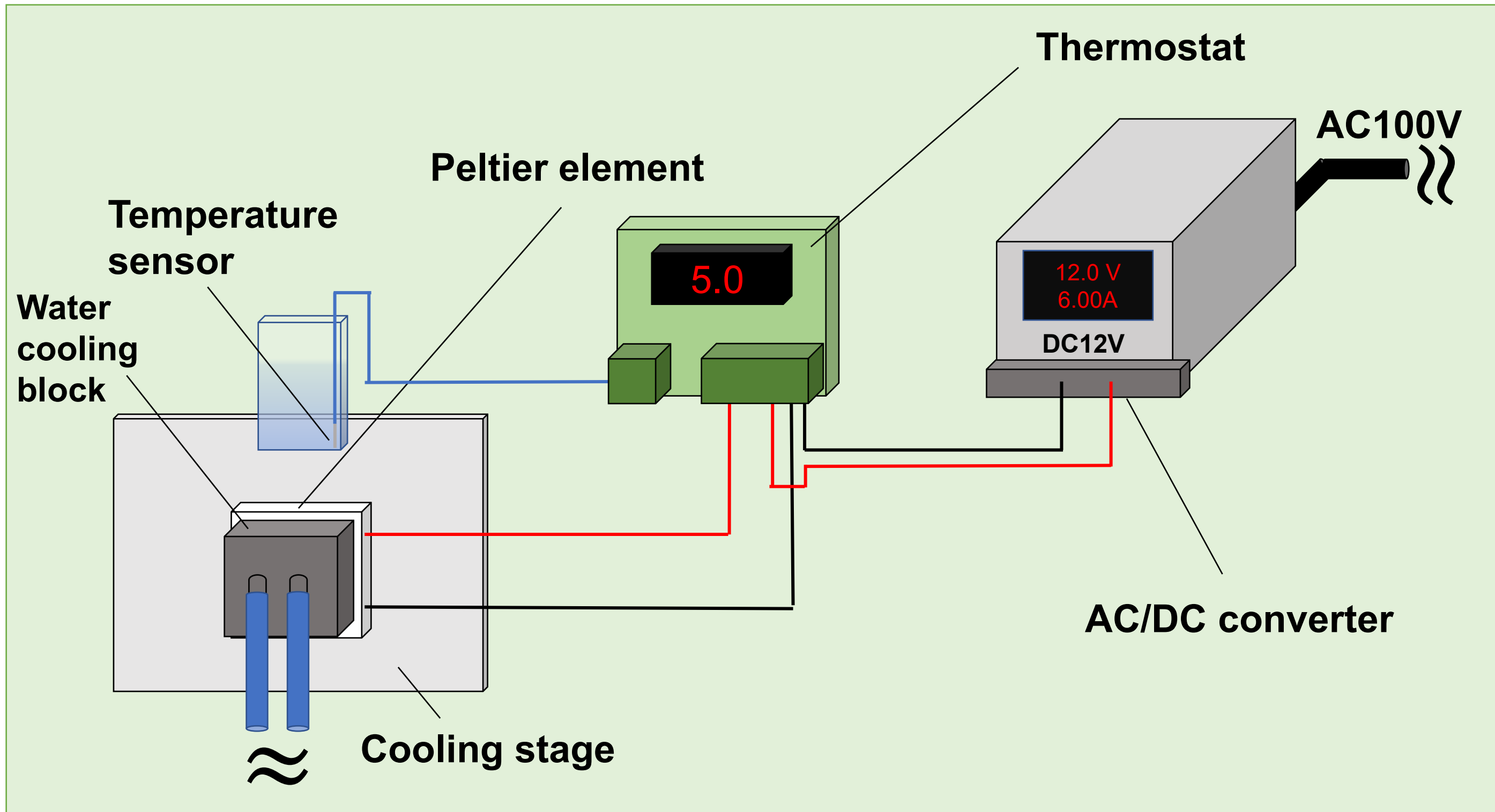


- ・細胞の浮遊と温度の影響を調べるために温度制御ステージを作製した。

研究目的

細胞の浮遊と温度の影響を顕微鏡直接観察で可視化する。

- 温度制御ステージ ガラスチャンバー内底面の温度を監視・制御 (5 °C , 35°C), ペルチェ素子 (TEC1-12706, HiLetgo), サーモスタット (XH-W1209, waves)

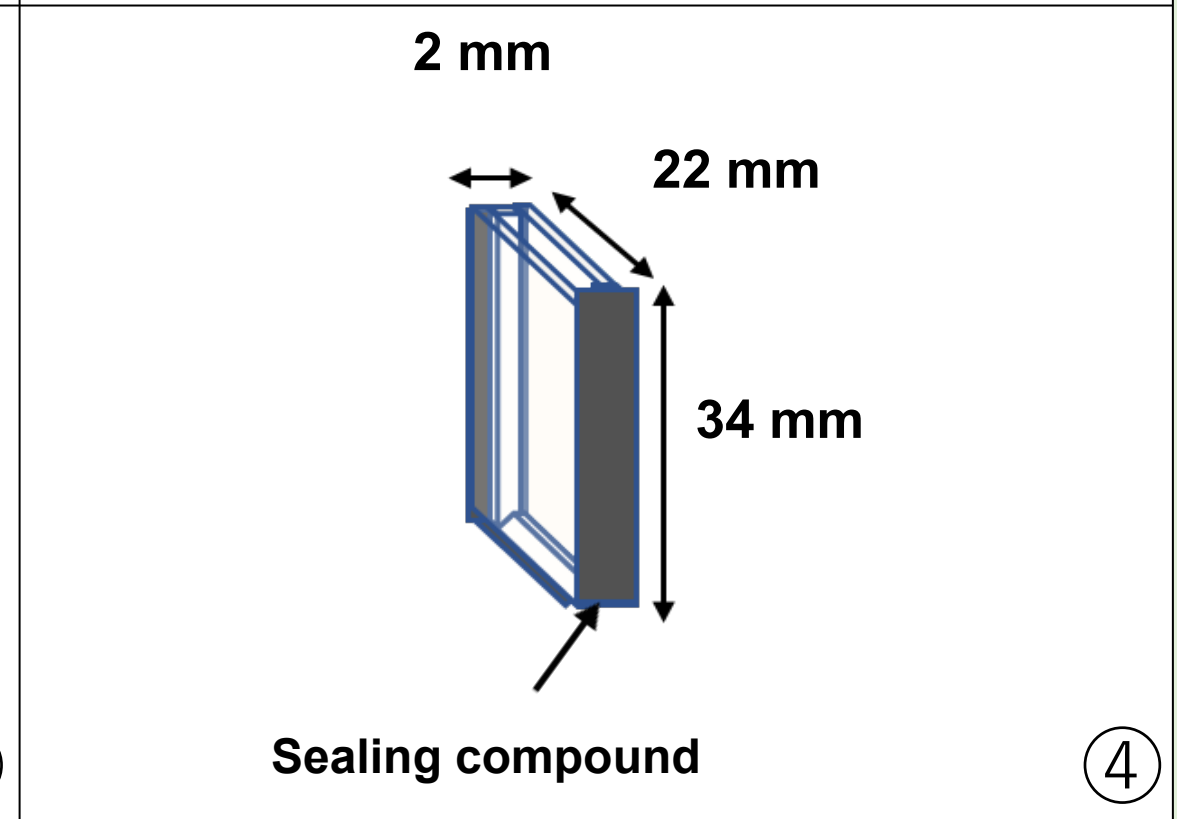
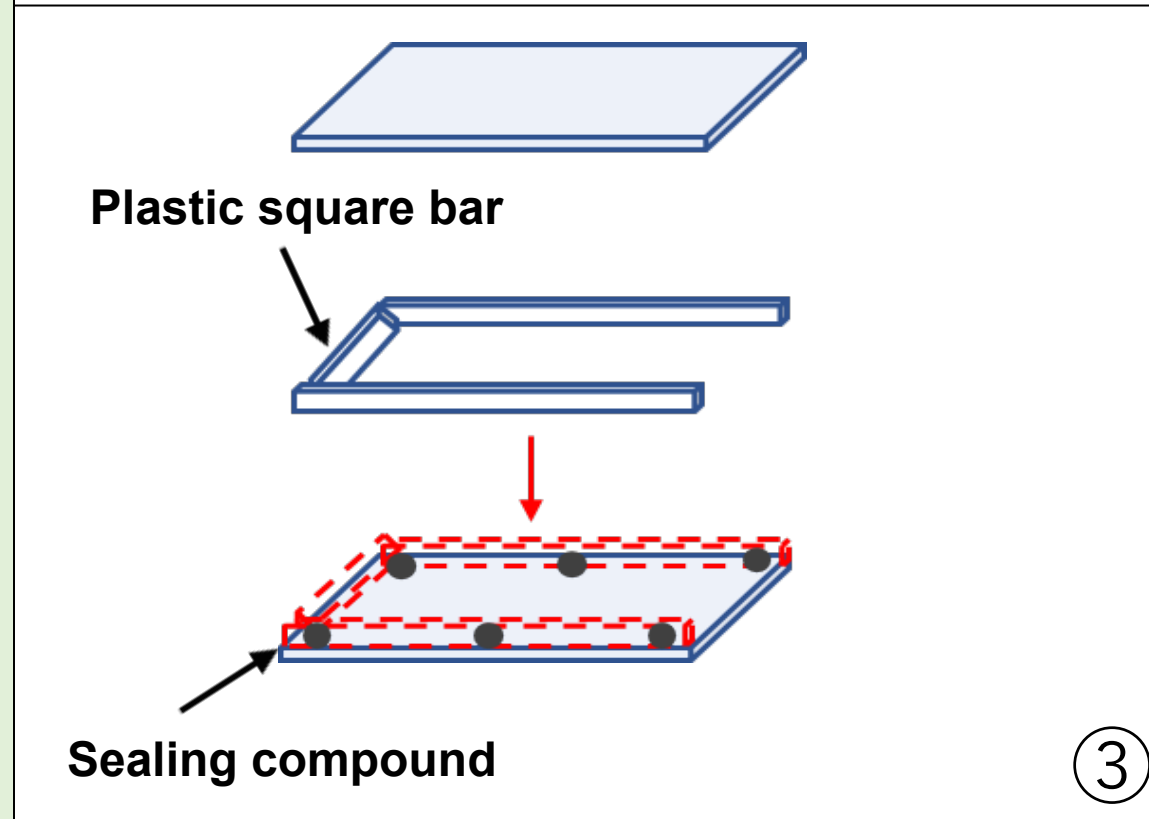
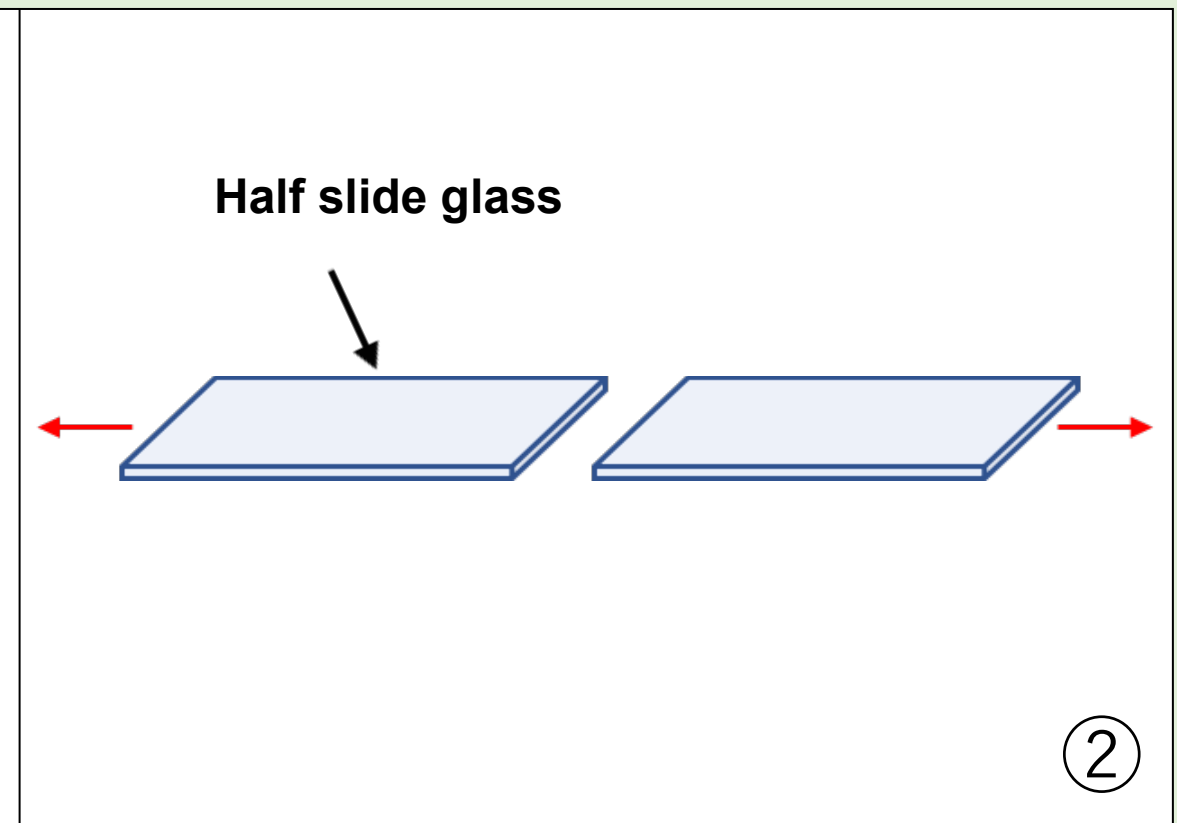
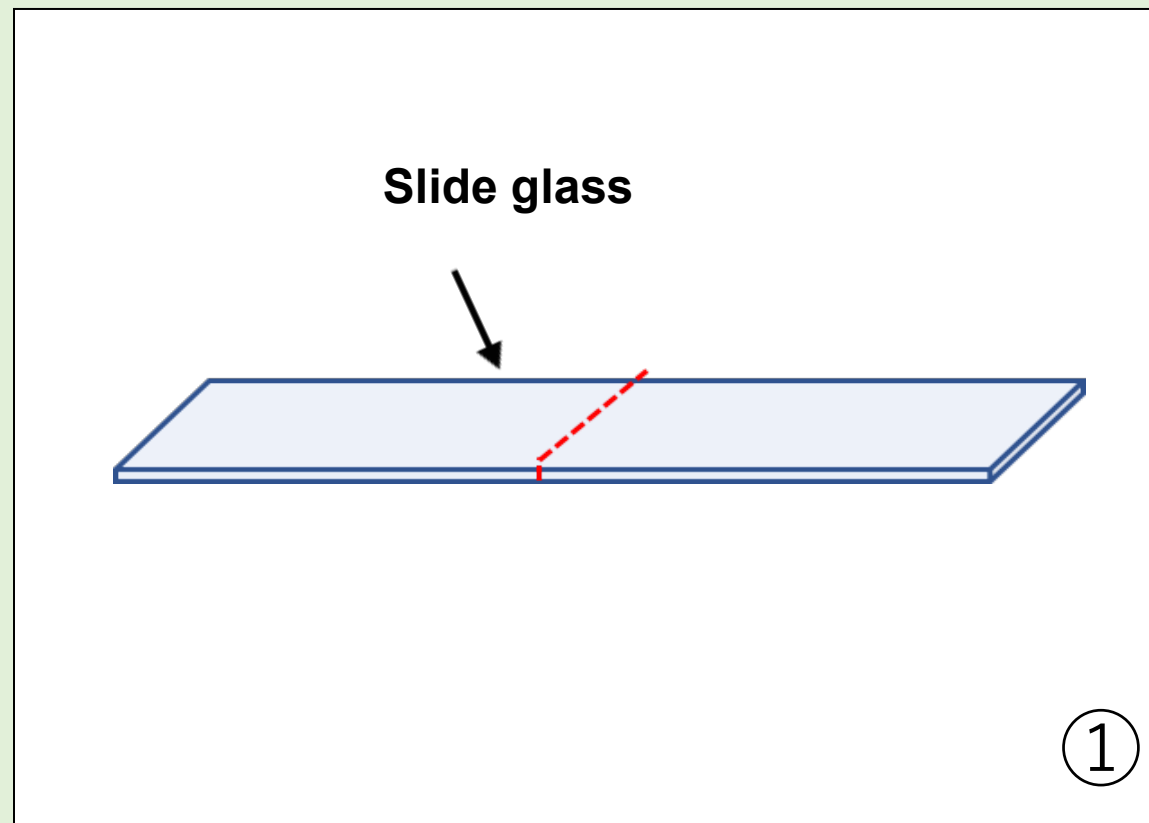


- ・ 自然界を再現するため、チャンバー中に温度勾配がつくように設計した。

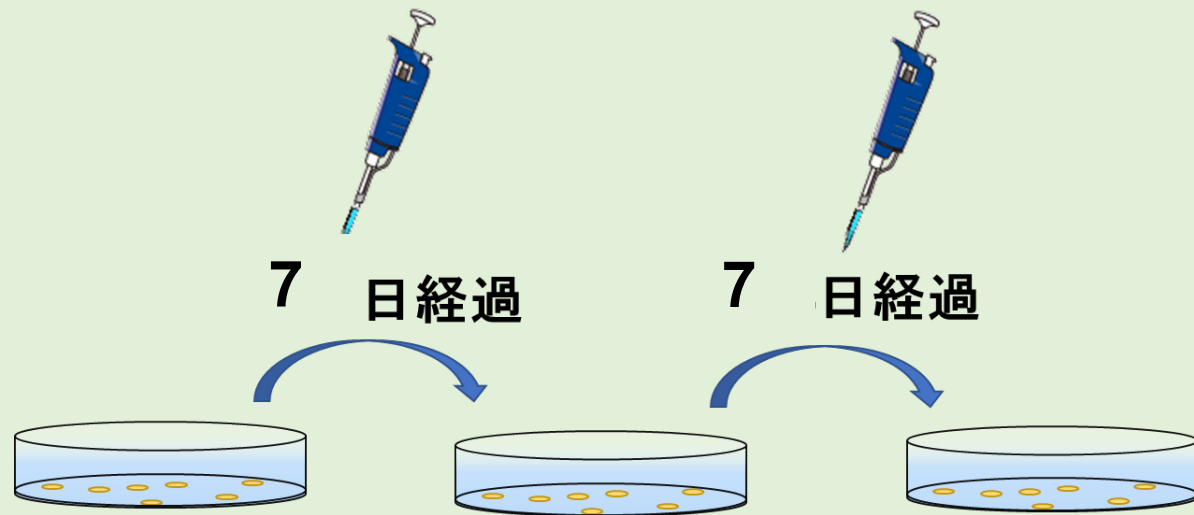




自作チャンバー (1496 mm³)

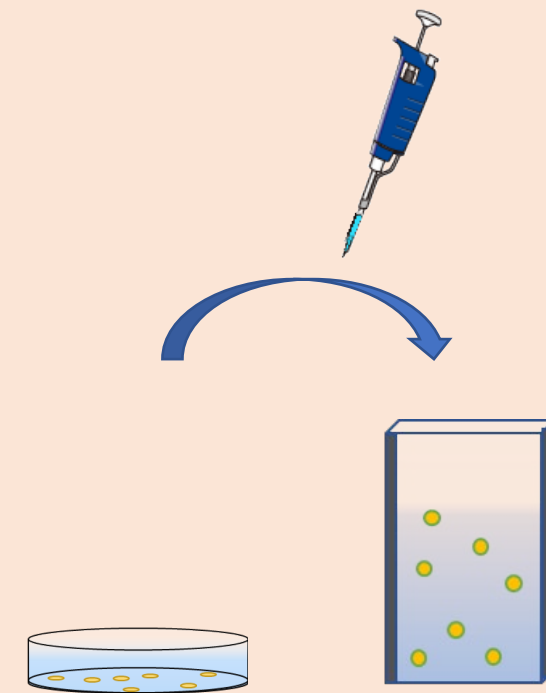


培養



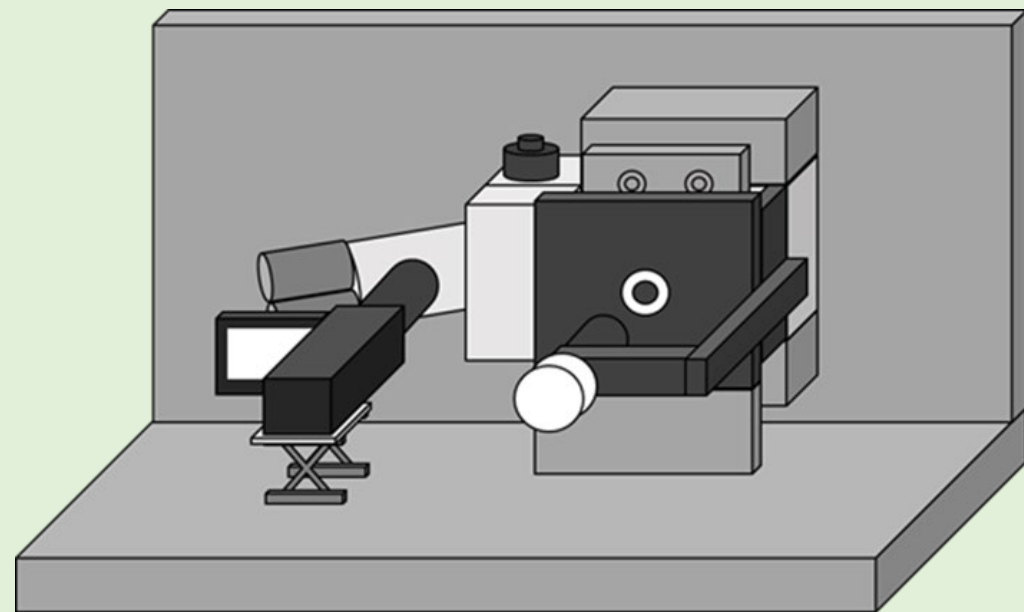
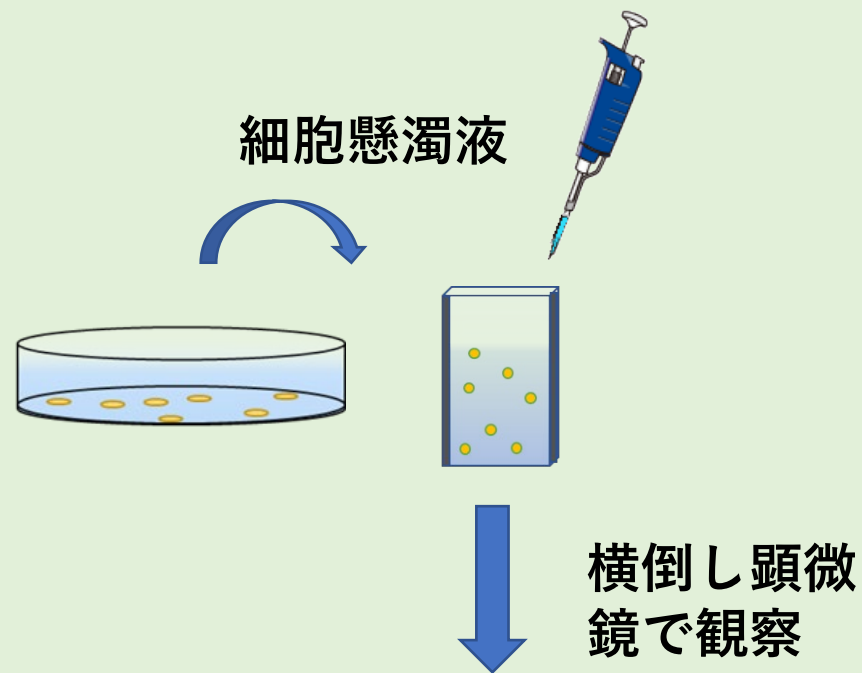
- ・ 珪藻
- ・ ダイゴ人工海水SP : 10 ml
(G9903-500ML, Sigma-Aldrich)
- ・ Bold Modified Basal Freshwater Nutrient Solution 液体培地 (B5282-500ML, Sigma-Aldrich)
- ・ f/2 培地: 800 μ l
(395-01343, Nihon Pharmaceutical)
- ・ 培養温度: 18 °C

観察

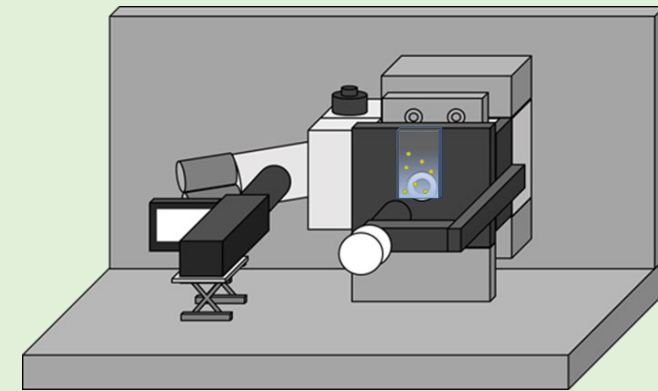


- ・ 自作ガラスチャンバー
(縦:22 mm 横: 34 mm, 厚さ: 2 mm)

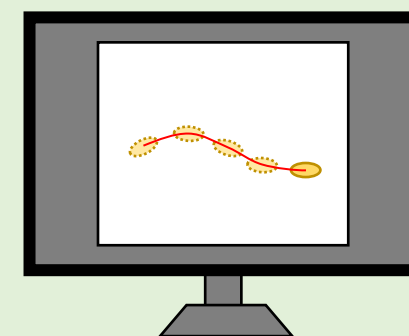
1. 細胞懸濁液10 ml入りのシャーレに細胞懸濁液を1 ml滴下した。



2. 倒立顕微鏡の試料ステージにのせ、30 fpsで細胞の浮遊を記録した(10分間)。

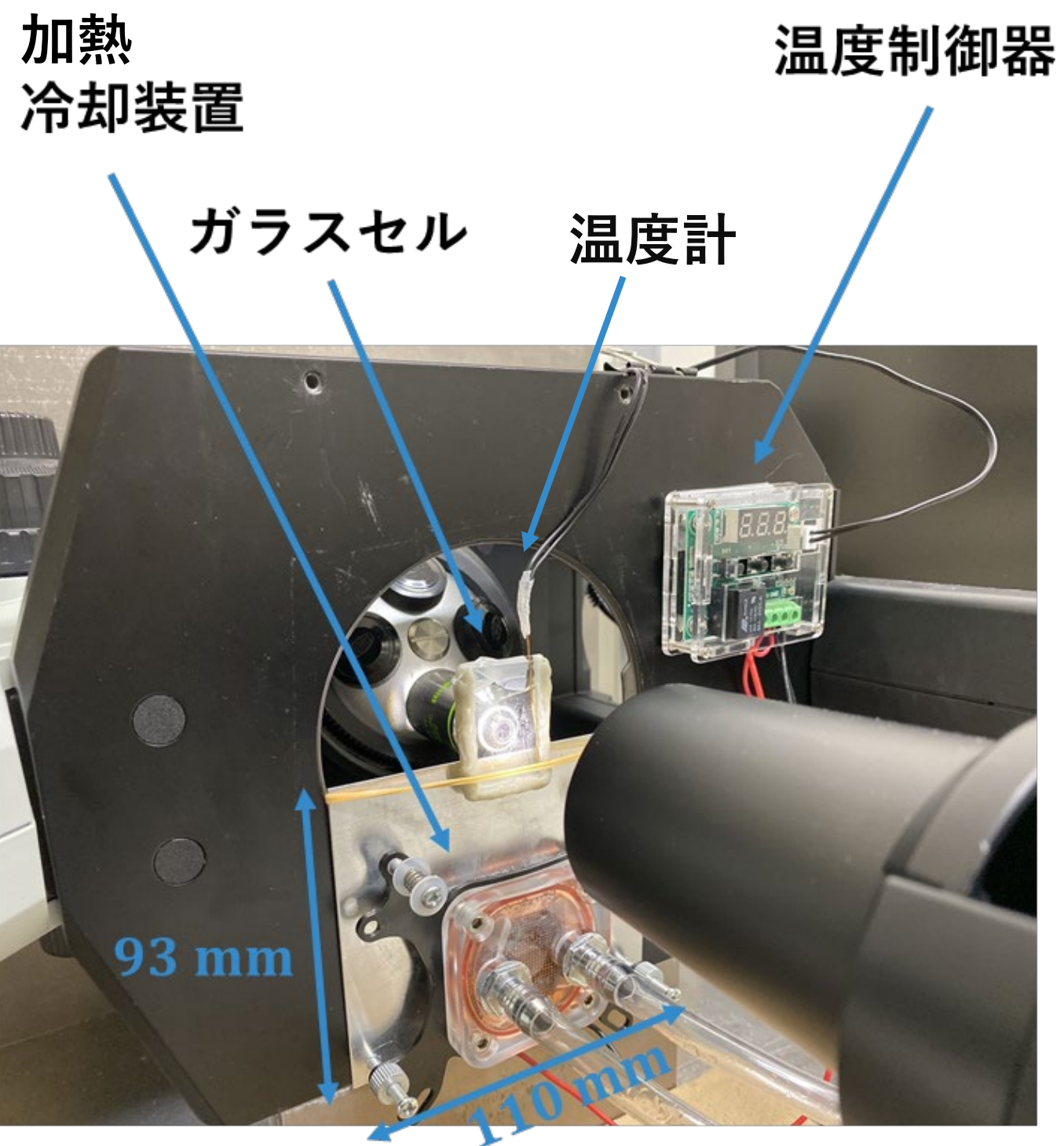
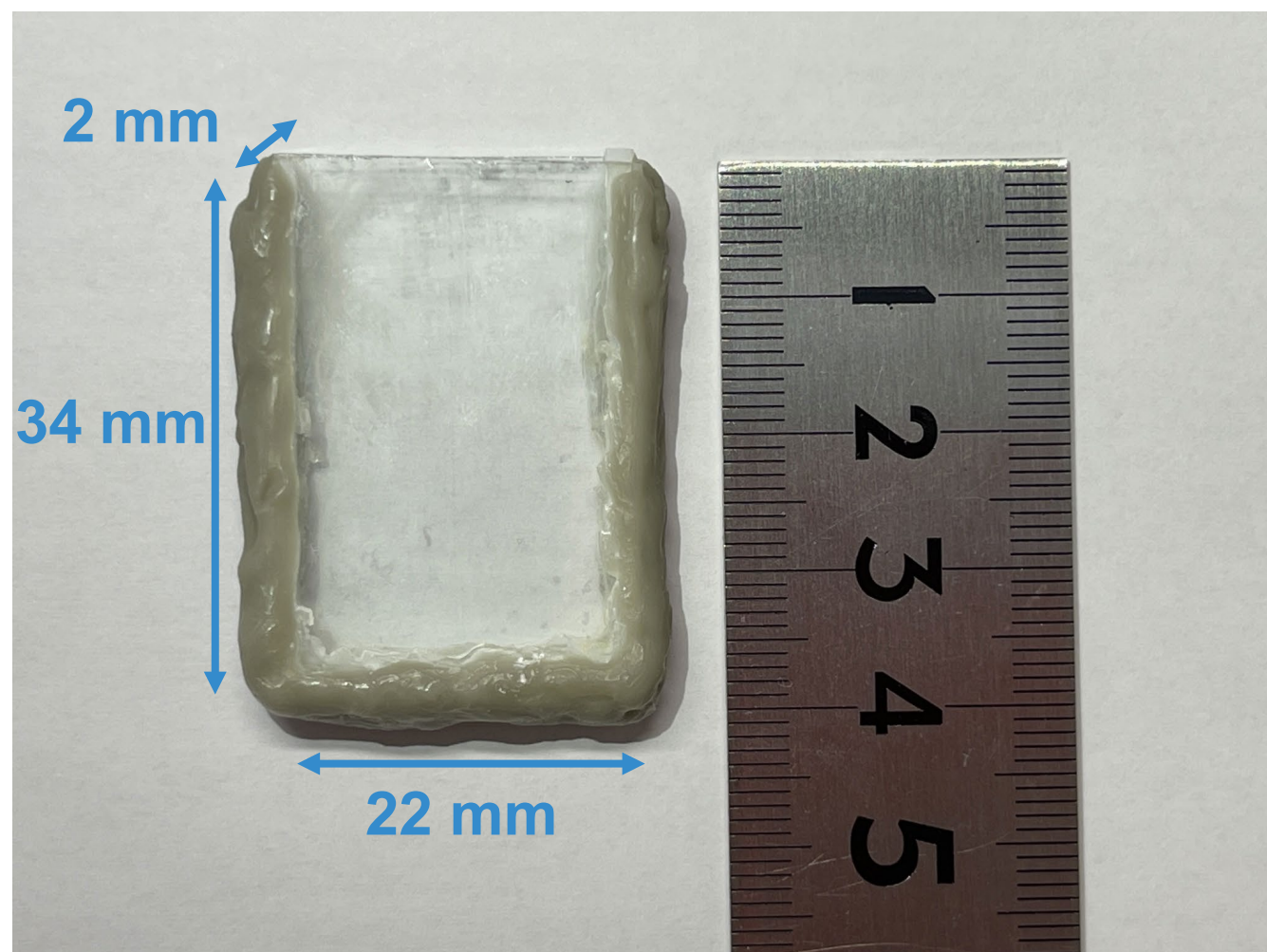


3. 二次元動画計測ソフトウェアMove-tr/2Dを用いて細胞の幾何重心座標を算出し、これをもとに移動距離、速さも算出した。



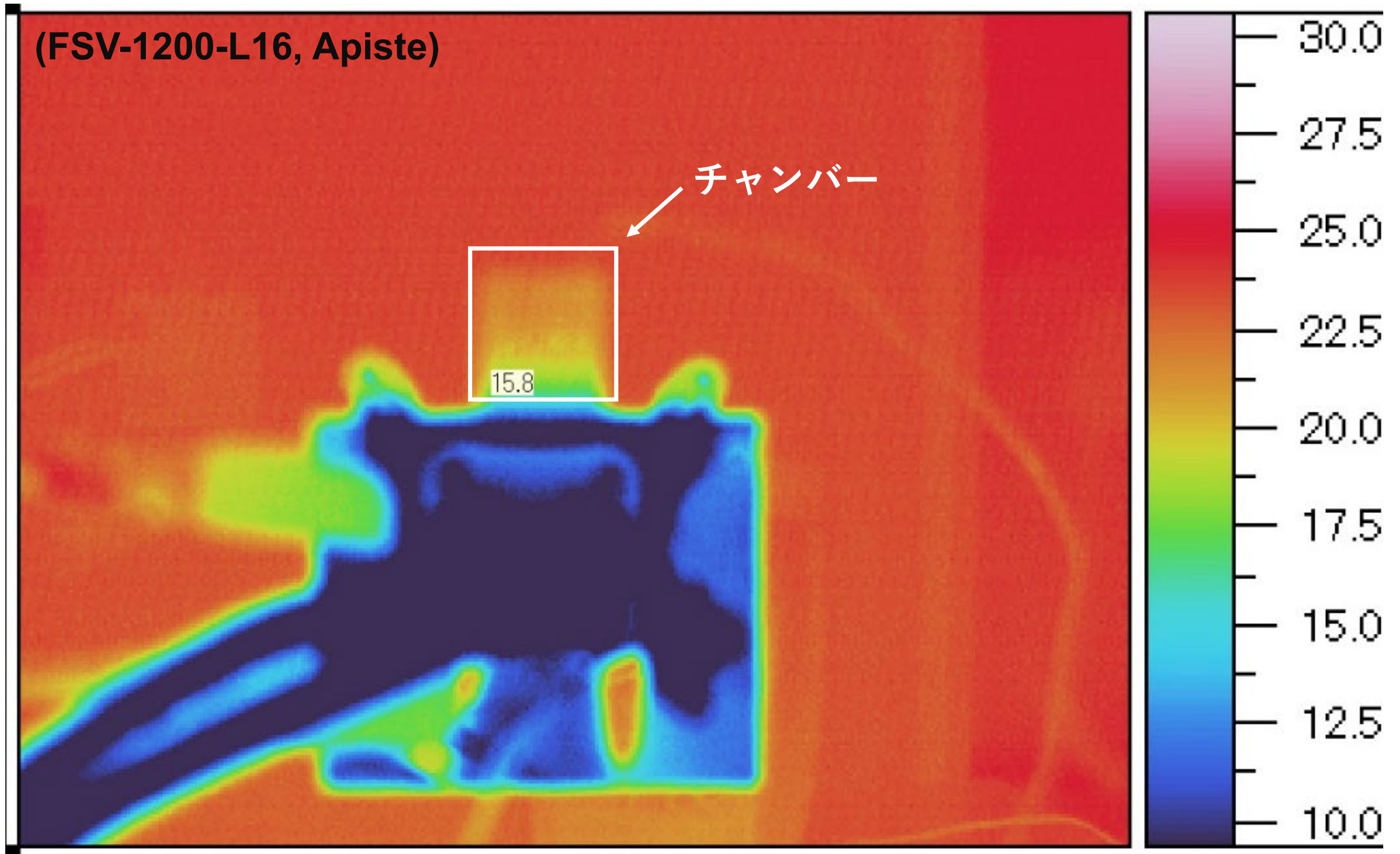


- 細胞は羽状であり、ガラス質の殻で覆われている。
- 被殻の中心には核が確認でき、これは珪藻である。
- 細胞の長軸は20µmで短軸は5µmほどであった。



- ・長時間観察しても液漏れがないことを確認した

- ・横倒し顕微鏡に適合し、1s毎に温度制御を行っていることを確認した。



- ・ チャンバー内に温度勾配を作り出すことに成功した。



- ・ 図は観察試料の顕微鏡画像に珪藻細胞の顕微鏡画像と同時刻の軌跡を上書きしたものである。
- ・ 動画は実時間である。

	速度 [µm/s]	SE
細胞1	41.3	± 0.61
細胞2	33	± 0.65
細胞3	11.4	± 0.39

- 自作チャンバーでは細胞は様々な方向に浮遊した。
- 細胞の浮遊を解析した結果、珪藻の速さは、
細胞1で $41.3 \pm 0.61 \mu\text{m/s}$ 、細胞2で $33.0 \pm 0.65 \mu\text{m/s}$ 、細胞3で $11.4 \pm 0.39 \mu\text{m/s}$ となった。
- 本研究では自作チャンバーでは温度による違いがみられ、小さなチャンバーでは温度の違いがみられなかった。
- 本研究により、珪藻細胞の浮遊現象に対する温度の影響を顕微鏡直接観察により可視化した。

今後の展開

- ビーズと珪藻の比較
- 温度制御ステージの改良
- PIVへの応用

謝辞

本研究は、厚岸湖・別寒辺牛湿原学術研究奨励補助金（代表：井出祐貴）の助成を受けたものである。