

バイオスペckルのプランクトンを用いたバイオアッセイへの応用

Application of biospeckle on bioassay with plankton

埼玉大理工¹, 芝浦工大² ○(B)保科 拓也¹, 門野 博史¹, Umamaheswari Rajagopalan²

Saitama Univ.¹, Shibaura Inst. Tech.², °Takuya Hoshina¹, Hirofumi Kadono¹, Umamaheswari

Rajagopalan²

E-mail: kadono@mail.saitama-u.ac.jp

1. はじめに

近年種々の化学物質による環境汚染が深刻な環境問題となっている。従来、環境汚染の評価は個々の化学物質を特定し生物への毒性を評価してきた。しかし、現在化学物質は約8000万種登録されており、環境汚染物質を分析、特定しその毒性を評価することは技術的にもコスト的にもますます困難となっている。これに代わって最近では個々の化学物質を特定することなく、生物を用いることにより毒性を総合的に評価するバイオアッセイと呼ばれる直接毒性評価 (DTA) 手法が注目されている。用いる指標生物としては、細菌、藻類、ミジンコ、魚など多岐にわたる。このうち微生物を用いる手法をマイクロバイオアッセイと呼び、注目する特徴量として、死亡率、成長、繁殖さらにプランクトンの遊泳阻害や形態の変化などがある。

本研究では、バイオスペckルを用いることにより個々の個体を識別することなく環境条件に対する動物プランクトンの運動能力の変化を総合的に評価する手法について報告する。

2. 実験および結果

Fig. 1 に実験系を示す。プランクトンとしてゾウリムシを用いた。半導体レーザー(660nm)を光源として用い、平行光にした後厚さ 10mm のサンプルセルを照射する。透過光はレンズ L2 で集光され焦点面に置かれた Stop により鏡面波成分を除去した後、CCD カメラによりゾウリムシにより生じたバイオスペckルパターンを 60fps で PC に取り込む。Fig. 2 に得られたスペckルパターンの例を示す。本実験ではプランクトンの遊泳活性を定量評価するため連続的に取り込んだパターン間の相関係数の低下を計測した。照明光の不均一性の影響を避けるため 20 秒間の平均をとりそれぞれの画像から差し引いた後画像間の相関係数を計算した。基礎実験としてゾウリムシ培養液を 5°C に 48 時間保った後計測を開始し、約 1 時間放置し生

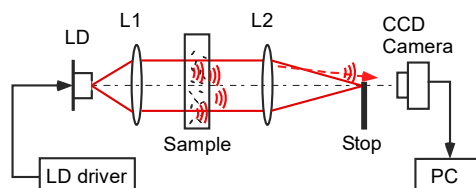


Fig.1 Experimental system

育適温である室温(25°C)で計測した結果を Fig.3 に示す。プランクトンの運動による画像間の相関の低下は不指数関数でよく近似することができ、これにより相関時間を計算した。およそ 5°C の状態では相関時間は 0.62sec であり低温のため遊泳は緩慢である。25°C では 0.19sec となり遊泳活性が高くなったことがわかる。

3. まとめ

本方法によりプランクトンの遊泳活性が定量的に評価できることが確認された。複数のプランクトン全体を集合的に評価できるため顕微鏡などを用いて個々の固体を評価する手法に比べて効率が良くまた、菌類などにも適用可能である。総合的水質評価には従来 COD, BOD が用いられてきたが生物の毒性とほとんど関連しないためバイオアッセイは今後ますます重要になるであろう。今後は、重金属などの汚染物質を暴露し提案手法の有効性を確認する予定である。

参考文献 生物応答を用いた排水評価・管理手法の国内外最新動向 鎌迫典久監修 エス・ティー・エス (2014)

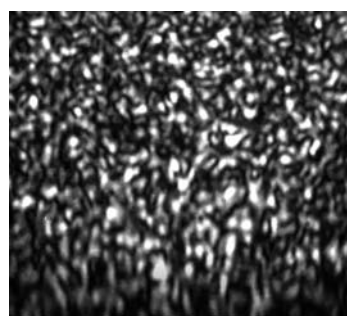


Fig.2 Speckle pattern generated from planktons

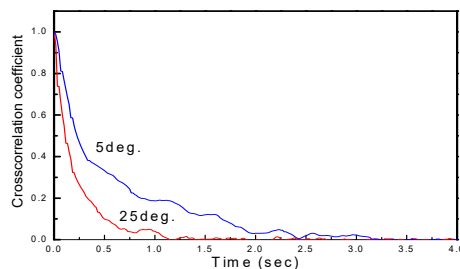


Fig.3 Correlation coefficient between biospeckle patterns