

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Ⅱ

Application of bio-speckle on micro-bioassay with plankton Ⅱ

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、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的毒性評価 (DTA) 手法が注目されている。

本研究では、プランクトンの集合体試料から生成されるバイオスペckルに基づいて個々の個体を識別することなく環境毒性に対する動物プランクトンの運動能力の変化を集合的に評価する手法を提案する。今回は時系列のバイオスペckル画像データ間の差に基づいて遊泳活性を評価しその有効性を検証した [1]。今回は相互相関関数を用いる手法を提案しその有効性を比較検討した。

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 (638nm) を光源として用い、ミラー M1 により厚さ 1mm のサンプルセルを垂直に照射した。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から生じたバイオスペckルパターンを 60fps で PC に取り込む。Fig.2 にゾウリムシ (a) と得られたバイオスペckルパターン (b) の例を示す。

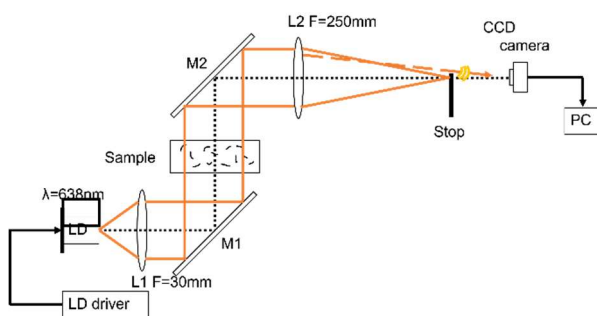


Fig.1 Experimental System

本実験では育成適温 (25℃) で培養したゾウリムシ培養液に塩酸を滴下し、pH が酸性方向に変化したときの遊泳活性を評価する。ゾウリムシがほぼ死滅する pH3.6 付近を下限として、コントロール (7.5pH 付近) までおよそ 0.5 刻みで pH を調整する。調整後 1 時間曝露した後バイオスペckルパターンの記録を開始する。

ゾウリムシの遊泳活性を定量評価するため初期画像と連続的に取り込んだ画像間の相互相関関数

を計測した。得られた相互相関関数は pH に依存して異なる収束値を示した。Fig.3 に時間差が 120sec に対する相関係数の変化を示す。7 pH から酸性になるに従って相関係数は増加し、3.6pH 付近ではすべての個体が死滅しているためパターンの変動はほとんどなく、相関係数は最も高い値となる。このように、pH が酸性になるに従って徐々に遊泳活性が低くなる様子が定量的に評価できることがわかる。興味深い点として 5.5pH 付近での相関係数が最も低く、遊泳活性が非常に高くなっていることがわかる。これは、環境の悪化に伴い逃避のため遊泳が活性化するものと推測される。

3. まとめ

バイオスペckル画像に変換し相互相関関数を用いることによりプランクトンの集合体としての運動活性を定量的に評価できることを確認した。多数のプランクトンを集合的に評価できるため顕微鏡などを用いて個々の個体を評価する手法に比べて効率が良く、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。

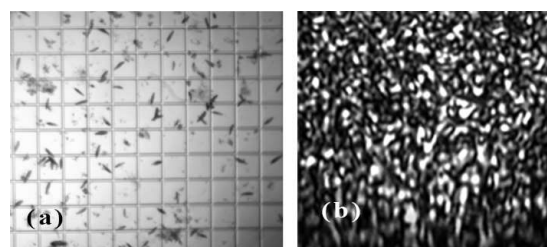


Fig.2 (a) Microscope image of Paramecium, and (b) corresponding speckle pattern

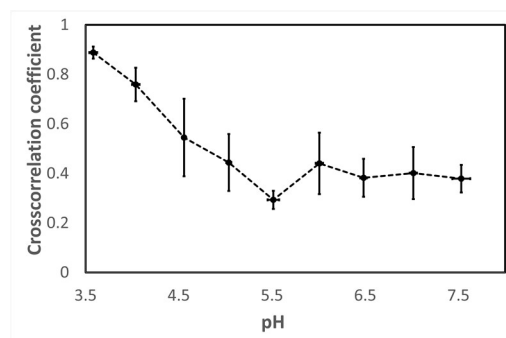


Fig.3 Crosscorrelation coefficient between bio-speckle patterns

参考文献 [1] 保科 拓也, 門野 博史, Umamaheswari Rajagopalan, 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, 第 82 回応用物理学会秋季学術講演会, 13a-N107-3(2021)