

# CDA-1000 によるクロレラ測定 ～培養経時変化～

## 1. はじめに

藻類は、一般的に、明期・暗期の周期を繰り返す環境下で増殖する。明期に体積を増加させ、暗期に分裂して細胞密度を高める。

そこで、CDA-1000 のアプリケーションとして、分裂期（暗期）における形態変化を捉えることができるのではないかと考え、クロレラの測定を試みた。

暗期におけるクロレラの大きさ（粒子径）の変化を、粒度分布の変化として捉えることができた。

## 2. 試料

明暗 12 時間ごとに設定した培養環境下において、 $1 \times 10^4$  mL の濃度で培養開始し 3 日後の暗期 0～10 時間までの 1 時間ごとを測定対象とした。測定試料は個別の試験管で培養し、培養開始から測定までの間は静置した。

## 3. 測定

試料をセルパックで適切な濃度に希釈したものを測定試料とした。（100 倍希釈）

装置条件

- アパチャー：100  $\mu$  m
- X 軸：粒子径
- 分析量：500  $\mu$  L

## 4. 結果と考察

暗期 6 時間まで、粒度分布、濃度に大きな変化を認めなかった。7 時間以降に粒度分布が変化し始め、粒度分布右側（大粒子）の山が小さくなっていく様子を観察した。10 時間後の測定では、0 時間後測定の分布ピークよりもさらに小さな位置にピークをもつ分布を示した。（図 1, 2）

これらの粒度分布の変化は、クロレラが、十分に大きくなってから分裂（四分割）する様子を反映したものと推察する。

クロレラは藻類生長阻害試験など生態への影響を評価するために用いられる。生長阻害を受ければ、培養に伴う細胞の大きさの変化や、阻害要因の影響度合いに応じた増殖速度の変化に差異が現れる。これら変化の程度は、粒度分布、粒子径、濃度など CDA-1000 が提供するデータに反映されると考えられる。よって、生長阻害を評価する測定装置として CDA-1000 を適用できる可能性がある。

明期・暗期の時間、照明強度、光源種類（波長）、培養温度など、生育環境が生活環に与える影響を評価する場合にも本装置が有用と考える。

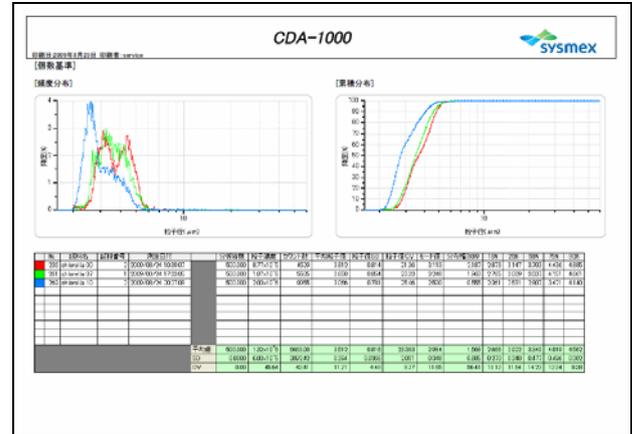


図 1 重ね合わせ印刷例

複数のグラフの重ね合わせが可能である。図 1 から、時間経過に伴う粒度分布の変化がわかる。

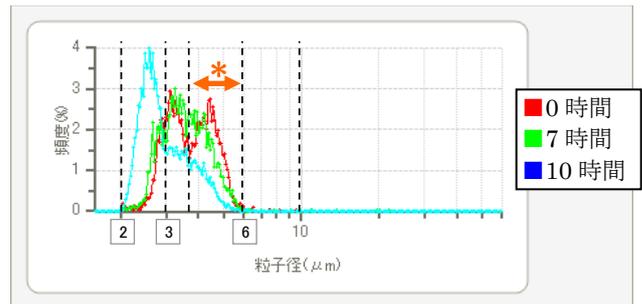


図 2 粒度分布の解析

0 時間の二峰性粒度分布のうち、大きい粒子径の山(図 2\*)に分布する細胞が分裂（四分割）すると仮定して算出した濃度は、10 時間後の測定値とほぼ同じである（表 1）。明期に大きくなり暗期に分裂する生活環を反映したと考える。

①	0 時間	$8.8 \times 10^5$ mL	測定値
②	0 時間*印	$4.4 \times 10^5$ mL	*範囲
③	10 時間*印	$3.8 \times 10^5$ mL	*範囲
④	算出濃度	$2.3 \times 10^6$ mL	①+②×4-③
⑤	10 時間後	$2.0 \times 10^6$ mL	測定値

表 1 各時間の細胞濃度

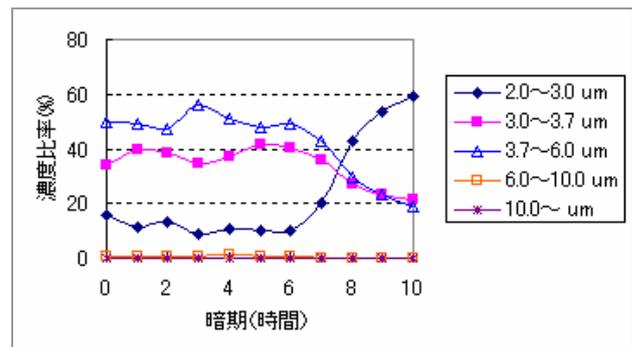
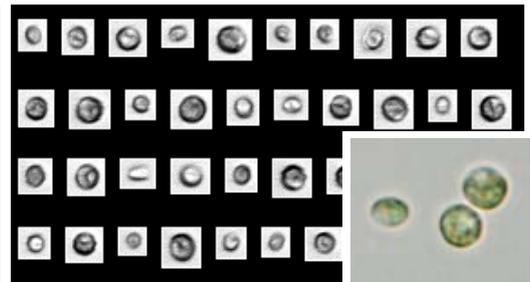
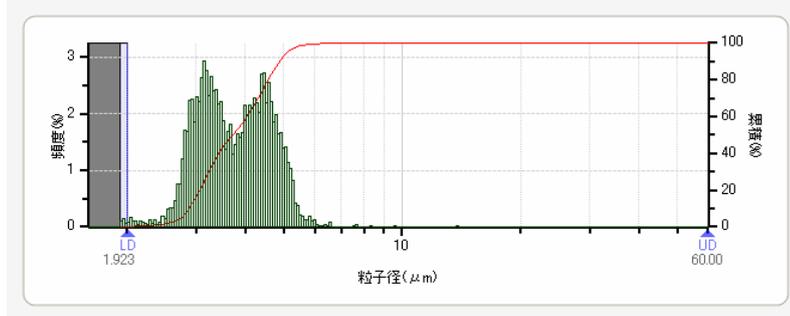


図 3 大きさと細胞比率の変化

粒子径範囲は図 2 の分割線（破線）に対応。

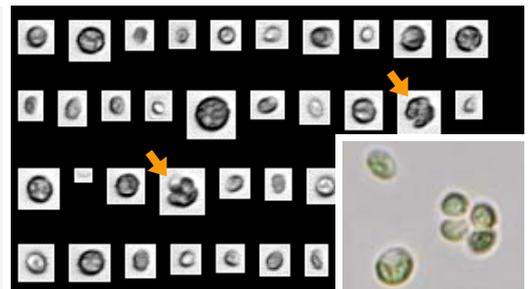
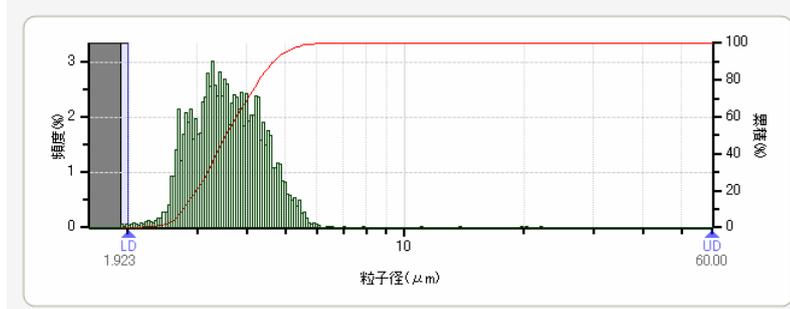
### 5. 粒度分布と画像

0 時間後



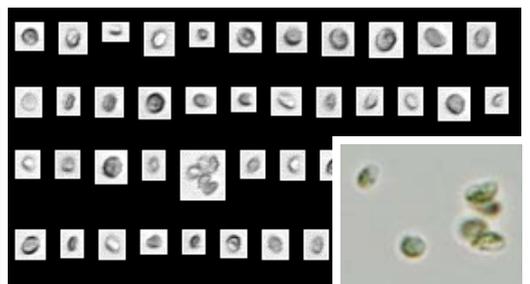
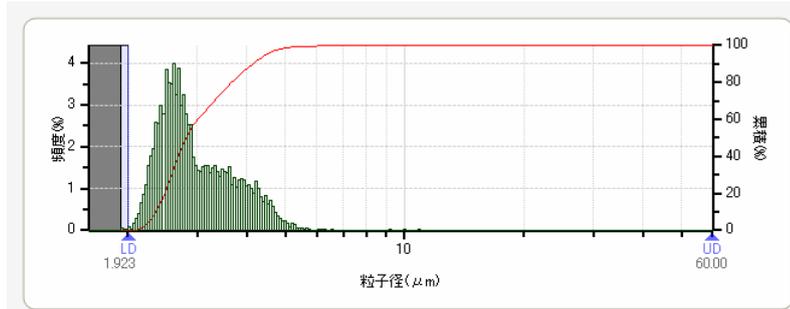
大きくて色の濃い細胞を多数認めた

7 時間後



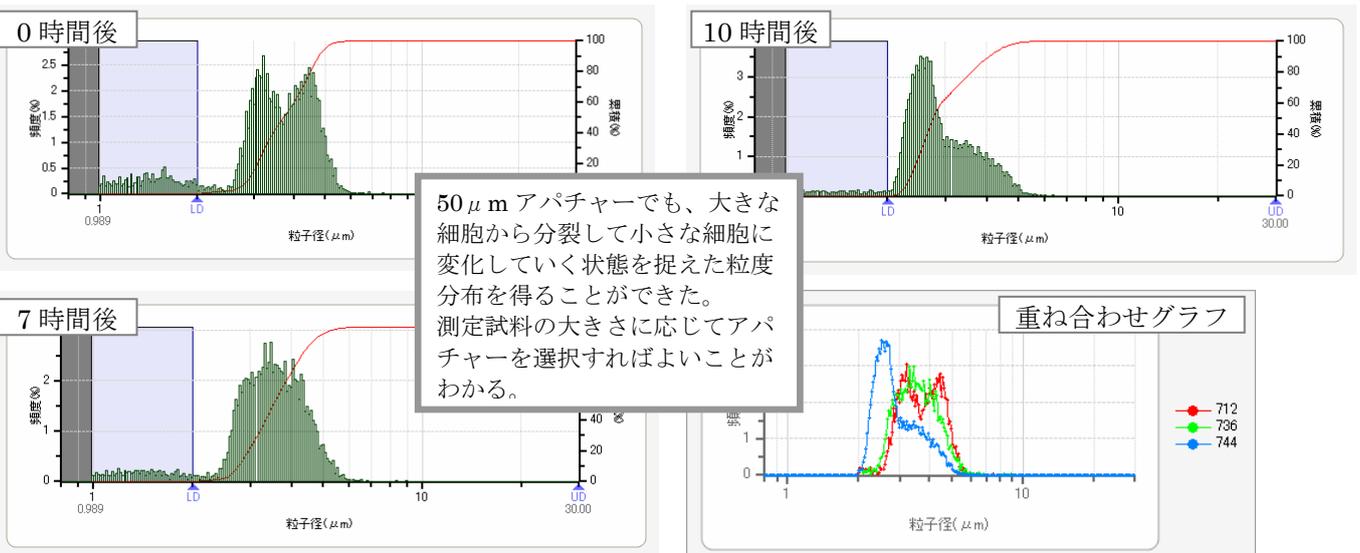
(矢印) 分裂過程の細胞を認めた

10 時間後



小さくて色の薄い細胞を多数認めた

#### ■ 50 μm アパチャーで測定した場合



発行：シスメックス株式会社 科学計測事業部

〒651-2271 神戸市西区高塚台 4 丁目 4 番地の 4

Tel. (078) 991-2091 Fax (078) 997-9976

URL : <http://www.sysmex.co.jp/labscience/>

Published by : SYSEMEX CORPORATION SCIENTIFIC INSTRUMENTATION BUSSINESS DIV.

Copyright © 2009 by SYSEMEX CORPORATION

No part of this publication may be reproduced without the prior the written permission of the publisher.

Printed in Japan.

本誌の内容を無断で複写・複製・転写すると、著作権・出版権の侵害となることがありますのでご注意ください。