

CDA-1000 古細菌（アーキア）の培養濃度

1. はじめに

アプリケーションノート「古細菌（アーキア）の測定」(No. CDA-SCJ 10004)では、古細菌 (*H. salinarum*) の測定手段について検討し、方法を見出した。

ここでは、その測定方法を用いて、培養時の経日変化測定を実施した内容を報告する。

2. 検討内容

1) 経日変化測定

十分に増殖した菌液から、新たな液体培地へ適量を添加し、1日毎に測定を実施した。

2) 菌株

Halobacterium salinarum (NBRC14715)

培地：NBRCで指定されている No. 255 培地

3) 条件

・初期濃度

- ① 10^6 /mL
- ② 10^7 /mL

・培養温度

恒温槽 37°C (静置)

・試験管

攪拌の影響を避けるため、1日毎に測定する培養液は独立した試験管とした。

水分蒸発を避けるため、底に水を張って蓋を少し開けたケース内に試験管立てを入れた。

・装置条件

- アパチャー : 25 μ m(E)
- X 軸 : 粒子径
- 分析量 : 50 μ L
- 校正 : 10%NaCl 溶液で校正

・測定条件

カウント数が 3000~10000 程度となるように、10%NaCl 溶液で培養液を希釈して測定試料とした。培養で菌濃度が増加するため、試料ごとに希釈倍率を調整した。
希釈後よく攪拌して、速やかに測定した。

3. 測定結果

1) 解析条件

- L. ディスクリ : 0.847 μ m
- U. ディスクリ : 6.983 μ m
- 分布表示 : 体積基準

個数基準では、増殖時に分布が広がってピークが明確でないため体積基準とした。

2) 結果

(1) 粒度分布の変化

図1からわかるように、培養に伴い平均粒子径が大きくなってピークを迎えた後、徐々に小さく変化した。

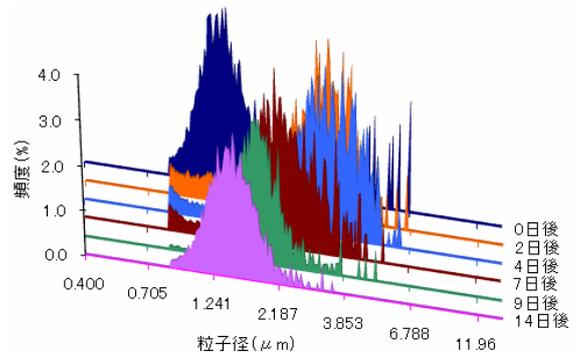


図 1-1 初期濃度 10^6 /mL (体積基準)

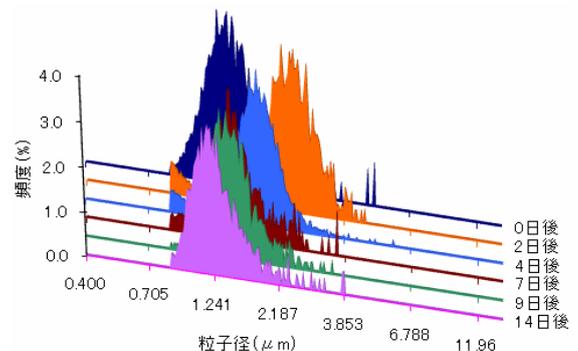


図 1-2 初期濃度 10^7 /mL (体積基準)

重ね合わせグラフ機能の表示では、分布の重なりが大きくて経日による変化を把握しにくいいため、頻度テーブルデータを出力してエクセルで処理した。

(2) 平均粒子径の変化

図2からわかるように、初期濃度 10^7 /mL の場合、早期 (1~2 日後) にピークを迎えて平均粒子径は 2.3 μ m であったが、 10^6 /mL の場合、4 日後にピークを迎えて平均粒子径は 3.2 μ m であった。培養過程における菌の動態は、初期濃度によって違いを認めた。

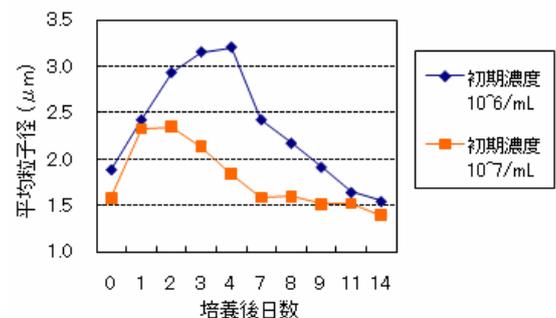


図 2 平均粒子径グラフ (体積基準)

(3) 濃度変化

図3から、培養2~3日後に増殖期に入ったことがわかる。

初期濃度 10^7 /mL では、8日後にはほぼ頭打ちとなり定常期に入ったと思われるが、 10^6 /mL では、14日後でも増殖期にあることがわかる。

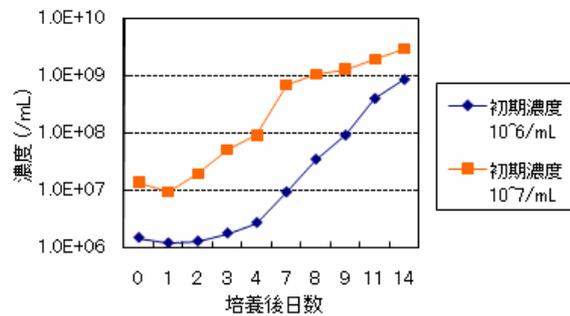


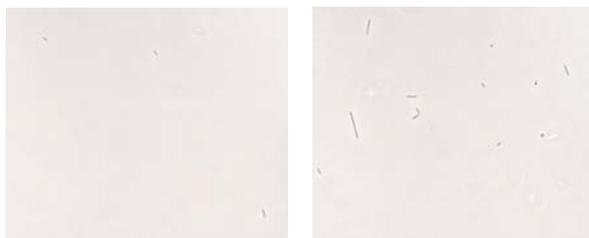
図3 濃度グラフ

3) 顕微鏡観察

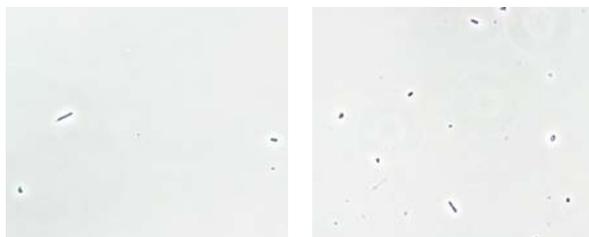
培養液の写真を示す。(位相差400倍)

初期濃度 10^6 /mL

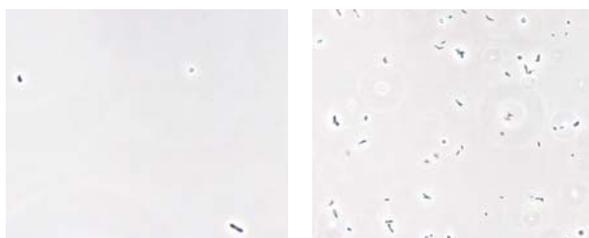
初期濃度 10^7 /mL



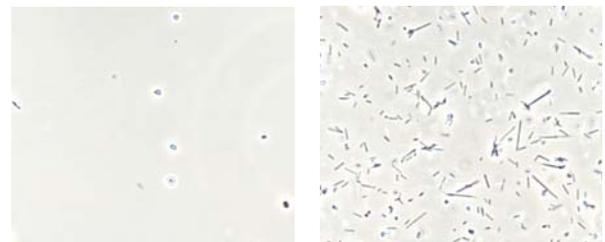
0日後



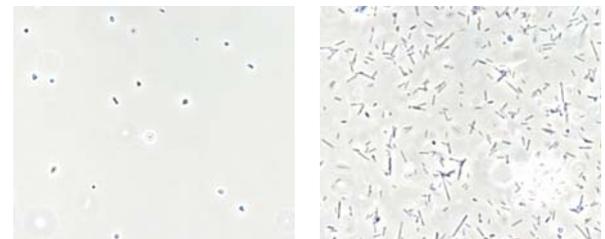
2日後



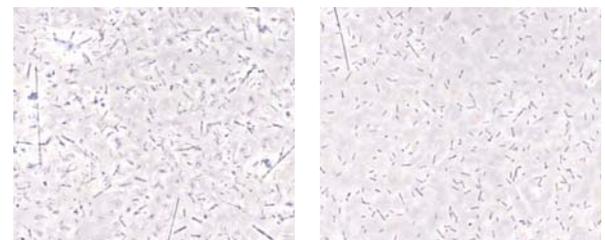
4日後



7日後



9日後



14日後

3. 考察

今回の経日変化測定の結果は、菌の増殖分裂時には菌体が約2倍になって分裂するために増殖期の期間は平均粒子径が大きくなるという培養時の特徴を捉えたものと考えられる。また、培養液中の菌濃度が高いと、栄養分を急速に消費して増殖し濃度が限界に近くなることを反映したと考える。

以上の結果から、測定試料中においては、古細菌が球状化しているため培養液中の菌の形態そのものを反映しているわけではないが、おおよその大きさ、相対的な比較は可能であると考えられる。

濃度測定が困難であると考えていた古細菌について、簡便に濃度を知ることができ、培養時の動態も把握することができる測定系を見出すことができた。

古細菌を用いた研究にCDAが利用されることを期待する。

発行：シスメックス株式会社 国内事業推進部 理化学課

〒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 BUSINESS DIV.

Copyright © 2010 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。