

# CDA-1000 古細菌（アーキア）の明暗環境培養

## 1. はじめに

高度好塩菌 (*H. salinarum*) は「光合成系」を有し、バクテリオロドプシンと呼ばれる膜タンパク質で構成されていることが知られている。バクテリオロドプシンは視覚に関わるロドプシンと類似しているが、ロドプシンが光の明暗を検知するのに使われるのに対して、バクテリオロドプシンは光駆動プロトンポンプとして働いており、高度好塩菌の生育・増殖に関与している。

また、明暗周期培養によって同調することも知られている

ここでは、明暗環境が高度好塩菌の培養に与える影響が、CDA 測定データへどのように反映されるかについて検討した。

## 2. 検討内容

### 1) 菌株

*Halobacterium salinarum* (NBRC14715)

培地：NBRC で指定されている No. 255 培地

菌液から新たな液体培地へ適量を添加して暗条件下で十分に増殖するまで培養した後、新たな培地に分注した。

### 2) 明暗環境

次の三条件で実施

- 1) 暗 (24 時間)
- 2) 明 (24 時間)
- 3) 暗 (12 時間) 明 (12 時間)

### 3) その他条件

・初期濃度

$10^6$ /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、測定毎に使用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いたケースを使用した。

・測定試料

希釈液には 10%NaCl 溶液を用いて培養液を希釈し、カウント数が 3000~10000 程度となるように、試料ごとに希釈倍率を調整した。希釈後よく攪拌し速やかに測定した。

・装置条件

アパチャー : 25  $\mu$ m (E)

X 軸 : 粒子径

分析量 : 50  $\mu$ L

校正 : 10%NaCl 溶液で校正

## 3. 測定結果

### 1) 解析条件

L. ディスクリ : 0.847  $\mu$ m

U. ディスクリ : 4.972  $\mu$ m

分布表示 : 体積基準

個数基準よりも分布の変化がわかりやすいため体積基準とした。

### 2) 結果

#### (1) 粒度分布の変化

図 1 に各明暗環境下の分布を示す。

CSV 形式で保存した頻度テーブルを Excel で処理した。

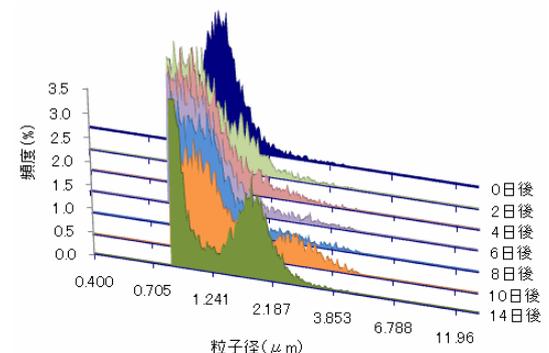


図 1-1 暗 (24 時間) (体積基準)

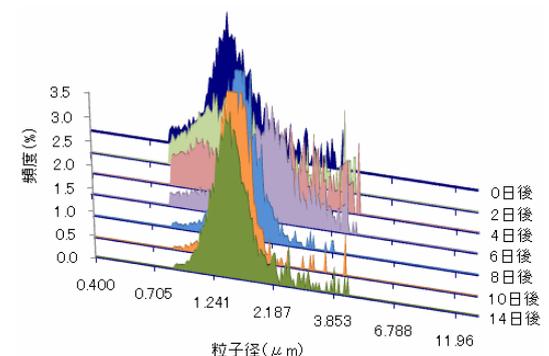


図 1-2 明 (24 時間) (体積基準)

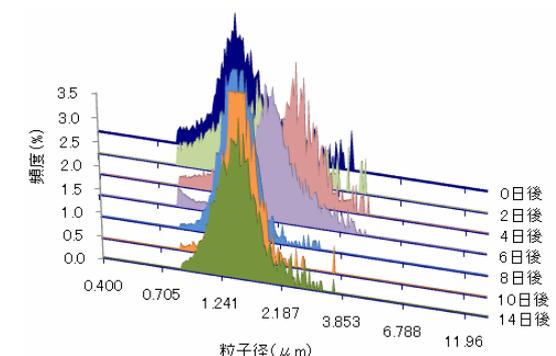


図 1-3 暗明 (12 時間) (体積基準)

明暗環境条件に依存した生長・増殖状態の差異が見て取れる。暗環境では生長が遅く10日後に粒子径の大きな部分に明確な分布を認めた。明環境では4日後に明らかな分布の変化が見られた。明暗環境では2日後から分布の変化が現れた。

## (2) 平均粒子径の変化

図2に平均粒子径のグラフを示す。

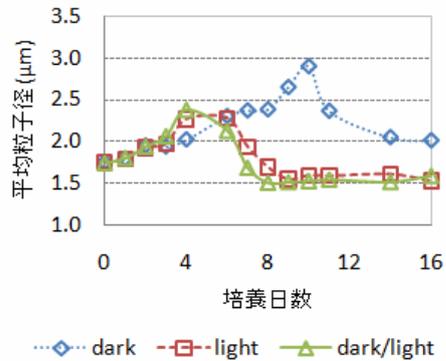


図2 平均粒子径グラフ (体積基準)

明暗環境培養が最も早く上昇を示し、わずかに遅れて明環境培養が上昇した。暗環境培養はなだらかな立ち上がりでかなり遅れてピークを迎えた。

## (3) 濃度変化

図3に濃度変化のグラフを示す。

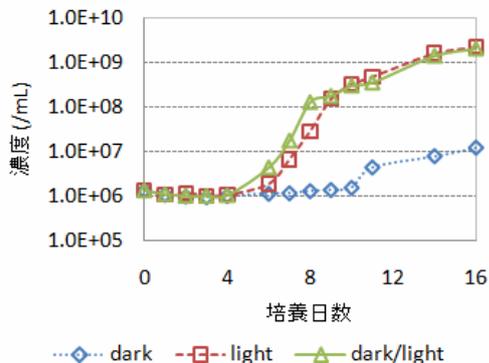
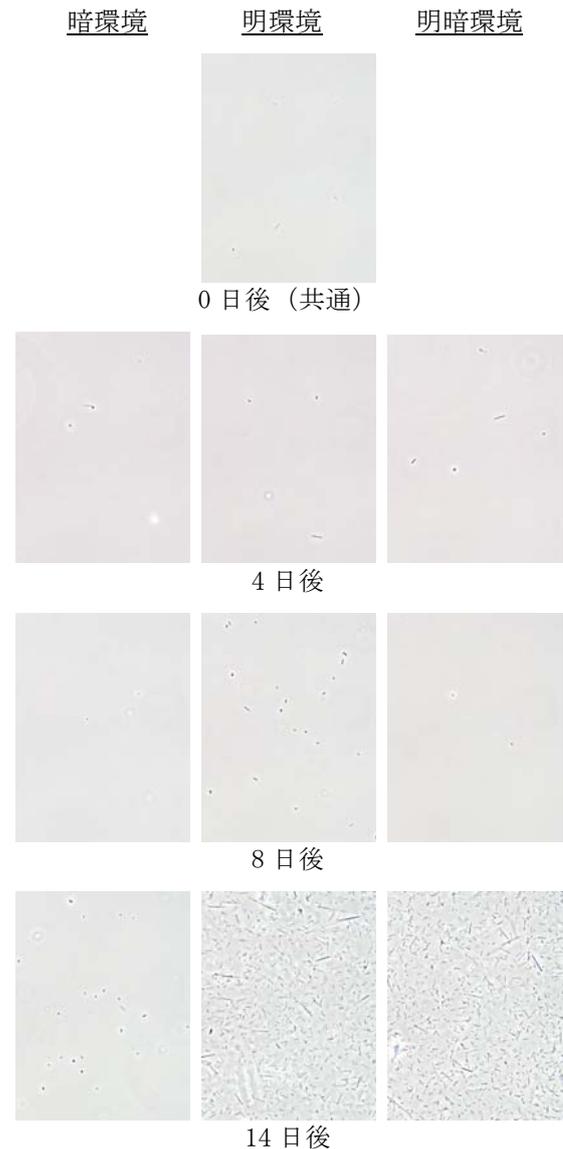


図3 濃度変化グラフ

平均粒子径と同じく明暗環境培養が最も早く上昇を示し、わずかに遅れて明環境培養が上昇した。暗環境培養はかなり遅れて立ち上がりを見せた。

## 3) 顕微鏡観察

培養液の写真を示す。(位相差400倍)



## 3. 考察

明暗環境が高度好塩菌 (*H. salinarum*) の生育・増殖に与える影響について、濃度、大きさの変化として捉える事ができた。明暗環境のみでなく、さまざまな培養環境条件が与える影響を簡便に捉える事が可能と考えられる。

発行：シスメックス株式会社 新事業推進グループ 理化学チーム

〒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。