

タイヨウチュウ *Raphidiophrys contractilis* を用いた水質モニタリングシステム
に応用可能な簡易型流動チャンバーの検討

榎本 淑恵¹, 福泉 翔¹, 枝松 緑¹, 洲崎 敏伸², 安藤 元紀¹
(¹岡山大学・院教育・細胞生理, ²神戸大学・院理・生物)

Improvement of a flow-through type chamber for an aquatic bio-monitoring system
using adhesiveness to substratum of heliozoon cells

Toshie ENOMOTO¹, Sho FUKUIZUMI¹, Midori EDAMATSU¹, Toshinobu SUZAKI² and Motonori
ANDO¹ (¹Lab. Cell Physiol., Grad. Sch. Edu., Okayama Univ., ²Dept. Biol., Grad. Sch. Sci.,
Kobe Univ.)

SUMMARY

Our research group previously reported a novel bio-monitoring system for aquatic hazards that uses adhesiveness of the heliozoon, *Raphidiophrys contractilis*, to the substratum. This system uses a flow-through type chamber in which cells damaged by harmful materials are flushed away by the water current, while cells retained in the chamber are continuously monitored with a digital camera. In this study, we improved the flow-through chamber to optimize substrate-dependent adhesiveness of *R. contractilis*. The improved chamber was characterized by a small volume (0.45 ml) and an exchangeable coverslip bottom. *R. contractilis* was more adherent to the glass coverslip than the plastic one, indicating that the substrate material influences sensitivity of the monitoring system. In the presence of potassium cyanide as a toxicant, the number of cells retained on the glass coverslip decreased in a concentration-dependent manner. These results

show that the improved chamber is efficient enough to be of practical use in our monitoring system. Further studies are needed to examine the response of *R. contractilis* to various toxic substances.

[目的] ハリタイヨウチュウ (*Raphidiophrys contractilis*) は、汽水域に生息する太陽虫の一種で、球形の細胞体から多数の軸足と呼ばれる微小管の束を内包した仮足を放射状に伸ばした形をしている。餌虫が軸足の先端に接触すると、軸足の急速な短縮が起こり、餌虫を捕獲する。Khanら (2006) は、タイヨウチュウが有害物質に対して極めて敏感に反応し、その軸足が短縮したり消失したりすることを示した¹⁾。いくつかの有害重金属イオンに対しては上水道水質基準値以下の濃度で軸足の短縮が観察され、タイヨウチュウがバイオモニタリングに適した生物であると結論づけた。昨年本大会において、この性質を応用した新しい水質モニタリング装置の有用性について、我々の研究グループが報告した²⁾。しかし、試験用として克服すべき問題点があったため、本研究では、細胞が接着する基底面の材質、測定チャンバーの容積、および試験水の流速について細胞接着能に与える影響を再検討し、新たな測定チャンバーを考案した。さらに、新しいシステムを用いて有害物質についての検討を行った。

[材料と方法] ハリタイヨウチュウは室温で二者培養したものを10%海水(汽水, pH=7.0)で洗い、新たに考案した測定チャンバーに入れて基底面に接着させるため4時間静置した。有害物質を含む試験液を微量ポンプでチャンバー内に送入した後、ポンプをいったん停止し20分間静置した。その後、再びポンプを用いて汽水を一定流速で2時間灌流した。倒立顕微鏡下で小型CMOSカメラを介しtime-lapse記録後、撮影画像から基底面に接着し続けているハリタイヨウチュウの個体数を20分毎に計測した。上下水道の水質基準項目に定められているシアン濃度を基準として試験液とした。コントロールとして汽水を用いた。

[結果と考察]

1. 新しい簡易型流動チャンバーの考案

流動チャンバーのスペーサーをシリコン板に変更しチャンバー内の形状変更を容易にした。チャンバーの形状を再検討するとともに、その容積を0.45 mlまで減らすことで溶液置換時間の短縮および有害廃液の削減に成功した。チャンバーの基底面を使い捨て方式にしたことにより、細胞接着面の材質検討が可能となった。

2. 細胞接着強度と接着面の関係

接着面の材質の違いによる細胞接着能を検討するため培養細胞観察用のplastic coverslipと通常のglass coverslipを基底面として使用し比較したところ、流速だけではなく接着面の材質の違いによっても細胞の基質接着能が変化することがわかった。このことを応用すれば、試験液の種類によっては接着能が弱い材質を使用し本システムの感度を上げることも可能と考えられた。

3. シアン化カリウムについての検討

本システムを用いたシアン化カリウムについての検討の結果、シアン化カリウムの濃度が高くなるほど基底面に接着し続ける細胞の数は減少し、濃度に依存した影響が認められた。シアン化物の上水道基準値濃度である0.01 mg/l以下でも明らかな反応が見られたことから、水質モニターとして実用上の感度を有すると考えられた。

今後は、未検討の有害重金属や有害有機溶媒による影響を調べ、ハリタイヨウチュウの個々の有害物質に対する応答特性を明らかにし、本システムの水質モニターとしての有用性を判断する必要がある。

[文献]

- 1) Khan, S.M.M.K. et al. (2006) *Env. Sci.*, 13, 193-200.
- 2) Yoshimura, C. et al. (2008) *Jpn. J. Protozool.*, 41: 57-58.