

研究題目	水中微生物の超音波トラッピングと運動能力評価に関する研究	報告書作成者	齊藤 光徳
研究従事者	齊藤 光徳		
研究目的	<p>微生物の運動機能や学習機能への関心が高まるとともに、それらの運動を制御したり、運動能力を定量的に評価することが必要となってきた。従来はレイノルズ数などの流体力学パラメータをもとにして、運動速度から遊泳力を評価するような方法しかなく、力学定数や近似式の不確定さのために正確な評価は困難であった。</p> <p>最近、マイクロオーダーの微粒子をトラップしたり移動させたりする方法としてレーザーマニピュレーション法が開発されている。微生物の分野においても、この方法を利用して鞭毛モータのトルクやミオシン分子のステップ幅などが測定されている。しかしながら、光の放射圧は小さく、大きな遊泳力をもつ微生物をトラップするには大きな光パワーが必要となり、微生物が熱的に懐死するという問題がある。また、ミドリムシなどのように光合成を行う微生物は光に反応するため、光照射が運動に影響を与えることも考えられる。</p> <p>そこで本研究では、超音波を利用してゾウリムシ・ミドリムシなどの水中微生物をトラップする技術を開発する。超音波は本来的に圧力波であるため、大きな音響放射圧を生じさせる。したがって、熱的な影響を与えない程度の小さなパワーで、広い範囲にわたって微生物をトラップすることが可能と考えられる。この超音波トラップ法によって、トラップに必要な超音波パワーから微生物の運動能力を評価する方法を開発するとともに、将来的にはこれらの微生物の学習・遺伝などの研究に役立てることを目標として研究を行う。</p>		

## 研究内容

微生物のトラッピング実験に用いた装置を、説明書の図1に示す。微生物を入れるサンプルセルは、アルミニウム板に幅10mm、深さ2mm程度の溝を掘り、その上をアクリル板でカバーして作製した。セルの両端には、3MHz付近に共振周波数をもつ高分子(PVDF)トランスデューサを取り付け、高周波発振器による励振で超音波を発振させた。超音波の周波数は3MHz付近で微調し、水中に定常波が立つようにした。セルの下には冷却器を取り付けて水温を制御できるようにし、水中に差し込んだ温度計によって水温を測定した。セル内の微生物の様子は、倍率100~400倍の顕微鏡で観察し、CCDカメラを通じてビデオテープに記録した。

体長50 $\mu\text{m}$ 程度のミドリムシをこの装置で観察したときの顕微鏡写真を、図2(a)に示す。このように均一に分散して泳いでいるミドリムシに超音波を照射すると、図2(b)に示すように、等間隔の列上にトラップされることがわかった。列の間隔は250 $\mu\text{m}$ であるが、これは3MHzの超音波の波長の半分、すなわちセルの両端から放射される超音波によって生じる定常波の節の間隔になっている。超音波定常波の節の位置においては、両側から節に向かう音響放射圧が生じるので、微生物がその力によって節の位置にトラップされるものと考えられる。

超音波のパワーを弱めると音響放射圧が小さくなるため、微生物はトラップから逃れるようになる。したがって、超音波のパワーを変えてトラップ率(どれぐらいの割合の微生物が節にトラップされるか)を測定することにより、微生物の運動能力を評価することができると考えられる。本研究では、ミドリムシとゾウリムシをサンプルとして、さまざまな超音波パワーでトラップを試み、多数の実験データからトラップ率を算出してそれらの運動能力を評価した。また、水温を変化させて実験を行い、水温によって運動能力がどのように変化するかを調べた。

研究のポイント	<p>超音波トラッピング法では、従来のレーザートラッピング法では捕捉できない大型微生物の捕捉が可能と期待されるが、実際にどれぐらいの超音波パワーが必要か、超音波周波数はどれぐらいが適当か、などの点について明らかにしていく必要がある。また、微生物の運動能力をどの程度定量的に評価できるかも明らかにしていく必要がある。例えば、微生物は低温や高温の環境下では運動能力が落ち、運動が最も活発になる温度が存在するが、そのような微妙な運動能力の変化を超音波トラッピングで評価できることを示す必要がある。</p>
研究結果	<p>多数のミドリムシに対して行った実験の結果を図3(a)に示す。○、●、△、▲、□はそれぞれ超音波のパワー密度を6、11、17、23、28 mW/mm<sup>2</sup>にしたときの測定値を示しており、超音波のパワー密度が大きくなるほどトラップ率が上昇している。また、水温が25℃のときにトラップ率が最も低くなっているが、このことは、ミドリムシの運動が25℃付近で最も活発になることを意味している。図3(b)は体長200 μm程度のゾウリムシについて行った実験の結果を示しているが、ゾウリムシの場合は30℃付近で最も運動が活発になることがわかる。このように、超音波トラッピング法は微生物の運動能力を評価するのに有効であることが示された。</p>
今後の課題	<p>本研究の結果、微生物の運動能力を相対的に評価できることが明らかになったが、実際にどれぐらいの遊泳力をもっているかという定量的な評価をするには至らなかった。微生物のサイズ・形状などから理論的な計算を行うと、超音波のパワー密度や周波数からトラップ力を算出できると考えられるので、このような定量評価をしていくことが今後の重要な課題である。さらに、この方法を利用して、水温だけでなく光照射や水質が微生物に与える影響についても調べ、将来的には運動能力の個体差・学習・遺伝などについても研究を発展させたい。</p>

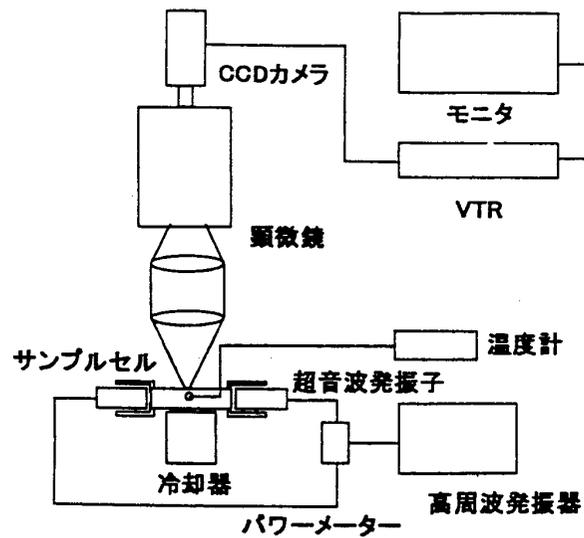
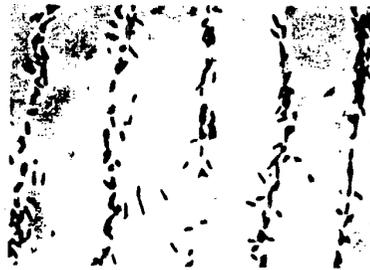


図1 微生物の超音波トラッピングを行う実験装置。



(a)



(b)

図2 (a)水中を自由に泳ぎ回るミドリムシ(体長約 $50\mu\text{m}$ )と、(b)それらが $3\text{MHz}$ の超音波定常波によってトラップされた様子。

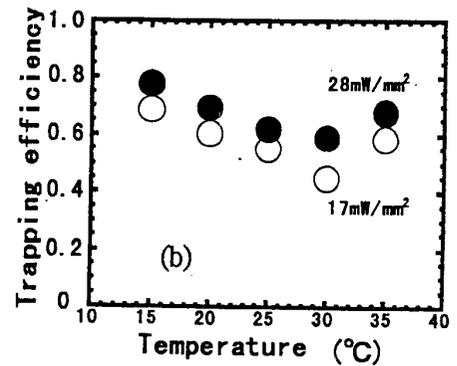
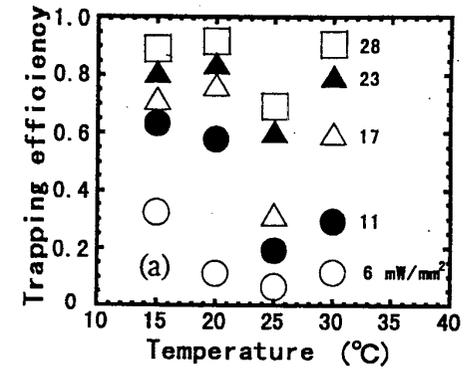


図3 (a)ミドリムシと(b)ゾウリムシのトラップ率の水温依存性。図中の数値は超音波のパワー密度を表す。

(注:フローチャート図,ブロック図,構成図,写真,データ表,グラフ等 研究内容の補足説明にご使用下さい。)