

ゾウリムシに関するご質問

Q. 細胞の生死は、どのように確認するのですか。

A. ゾウリムシの生死の確認は、虫眼鏡や実体顕微鏡で観察して、泳いでいるかどうかで確認します。生きていれば、各細胞はランダムな方向に泳いでいます。死んでいれば、沈殿するか、またはゴミのように水の流れて従って同じ方向に浮遊します。泳いでいない細胞の生死を確認する際には、スライドガラスに細胞を含む水滴を置き、カバーガラスをかけて顕微鏡で観察します。生きていれば、2個の収縮胞が交互に開閉します。死んだ細胞の収縮胞は開きっぱなしになっています。

Q. 培養液の交換時期を教えてください。

A. 溶液が透明になりましたら、飢餓状態になりますので、培養液を加えます。細胞の増え具合を見て、18 x 180 mm の試験管を使用した場合は、適量(2~10 ml)の培養液を加えます。培養液の種類によっては、溶液が透明になりにくい場合もあります。

Q. ミドリゾウリムシの培養に最適な照度を教えてください。

A. クロレラが光合成することができるように 2000~2500 ルックス程度の光（蛍光灯の近くか窓際）で培養して下さい。光が強すぎるとダメです。紫外線には弱いので、直射日光などにはご注意ください。

Q. ゾウリムシの酸素補給の為に、1日1回、容器をシェイクした方が良いでしょうか？

A. 容器内のゾウリムシを均一に分散させる意味では、1日1回程度揺るのはいいことだと思います。ゾウリムシは負の走地性を示して培養液の上部の細胞密度が高くなります。シェイクによって、均一に分散させ、容器の下のエサを消費させやすくさせることができます。しかし、ゾウリムシは連続震盪培養をきらいますのでご注意ください。

Q. 容器内に見える沈殿物（ゾウリムシを除く）は何ですか？

A. 培養液によっては、沈殿物が存在する場合がありますが、ゾウリムシの培養に影響しません。

Q. 配達されたゾウリムシ株が弱っていました。どうしたら良いですか？

A. ゾウリムシ株のコンディションには常に気を配って発送しておりますが、夏場など、配達の状態によっては、お届けするまでに株が弱ってしまうことも少なからずあります。また、正常に配達されてもすぐに開封せずに、暫く放置されていたために、株が弱ってしまうということもあるかもしれません。

従って、NBRP ゾウリムシでは、お受け取り後少なくとも、1～2日以内に必ず細胞生死の確認をお願いしております。

メールでご連絡を頂いていた場合には、ご相談に応じております。細胞の様子を見られた後でも状態が改善されない場合には、無償にて再発送をさせて頂いておりますので、ご安心下さい。

ご連絡がなく、数日後に不具合が生じた場合には、責任を負いかねますので、ご注意下さい。

Q. 培養液はどんなものが多いですか。

A. 培養液にはいろいろなものが使われていますが、NBRP ゾウリムシでは、レタスジュース培養液を使用しています。この培養液は、細胞を同調して飢餓状態にさせることが容易なので、接合を誘導する実験や食細胞活動の観察及び細胞内共生の誘導に適し、大量培養にも適しています。原液を作成して保存しておけば、希釈してオートクレーブで滅菌するだけですので、安価に短時間で作成可能です。作成方法の詳細が必要な場合には、NBRP ゾウリムシ事務局にご連絡ください。

他の培養液としては、完全合成培地培養液、ワラの煮汁培養液、青汁培養液、赤エンドウ豆培養液、クロロゴニウム培養液、酵母菌培養液、エビオス培養液、カロリーメイト培養液などがあります。

Q. 順調に増えたときのゾウリムシの個体数を数える良い方法がありますか？血球計算板を購入したのですが、動きが早くて難しそうです。

A. 血球計算板は使用しません。

ゾウリムシの細胞密の調整法をご説明します。

1. 遠心や濾過で濃縮した細胞浮遊液を攪拌して容器内での細胞密度を均一にします。
2. 1液の100または200 μL を、1 mL のメスピペットなどでとり、プラスチックシャーレ上に、水滴として分けます。
3. 各水滴には生きたゾウリムシが泳いでいますが、各水滴に適当な固定液（飽和ピクリン酸など）を1滴加えると細胞が固定されます。
4. 実体顕微鏡（無ければムシメガネも可）を使って、各水滴の全細胞数を数えます。サンプリングエラーを防ぐため、1－4を3回行い、平均値を出します。毎回、攪拌する必要があります。
5. 200 μL の細胞数の平均値が a なら、細胞密度は $5 \times a$ cells/mL になります。
6. 5の細胞密度から細胞浮遊液を希釈して、必要な細胞密度に調整します。