線虫行動録画・解析自動化システム

星勝徳、山内誠 岩手大学工学部 技術部

1 はじめに

本発表では線虫行動録画・解析システムの紹介と、業務依頼によって自動化のために改良した内容について報告させていただく。本システムは、自活性土壌線虫 Caenorhabditis elegans (通称 C.elegans) を種々の条件の下で寒天プレート上を這わせ、その行動をビデオテープに録画し解析するためのものである。C.elegans はモデル生物の1つで、体長1mm 程度のミミズのような形をし、体の透明度が高く、3日で次世代が生まれる。全細胞系譜や全遺伝子配列など生物学的に多くの知識が得られており、多様な変異体も確立され、ヒトを含む他の生物の研究に有益な情報をもたらしている。

2 改良以前のシステム

線虫の行動は直径 9cm の寒天プレート上で行う。その行動は実体顕微鏡に取り付けた CCD カメラで撮影し、ビデオテープに録画される。寒天プレートは電動 XY ステージに取り付けた載物台に乗せる。線虫が CCD カメラの視野から外れないようにパソコンで監視し、視野から出そうになったら電動ステージを移動し、視野中央に虫が居るようにプレートを移動させる。録画は最長で 2 時間行われる。実験後、ビデオテープを再生し、0.3 秒間隔で線虫周辺のみを 50 × 50pix のモノクロ画像で取り込む。取り込んだ画像は疑似カラー静止画としてパソコンの画面に表示し、手作業によって運動状態(前進、後退、停滞)を決める。このデータを基に EXCEL 等で実験者が目的とする統計解析を行う。

3 改良点

業務依頼によって、より自動化を進めるために行った上記システムの改良点は次の通りである。自動化を目的として XY 電動ステージ移動量の決定、 XY 電動ステージの座標をビデオテープに記録、 録画画像情報のビデオテープへの記録、 ビデオテープに記録した情報に基づく画像取得、 タイムコードに基づく画像の 3 画像/秒取込、 XY ステージ座標による虫位置の表現、 各種パラメーターの抽出、 移動運動の 4 状態自動判別、などを行った。その他システム全体のリファインとして 撮像台の防振、 15cm プレートまで扱えるように載物台の拡張、 底部が平面な水槽の作製、 制御用パソコンのアップグレード、 取り込み画像サイズの拡張、などを行った。また、プログラムは DOS 版 Turbo C/C++から、Windows 版 Visual Basic 6.0 に書き換えた上で、機能の変更・追加を行った。改良中のシステムにより計測した移動運動例として、自由走性、化学走性、加齢変化について、発表会場にて、いくつか報告させていただく。

4 今後

システムは現在も改良中である。解析プログラムも実験者の利便性を考慮しながら機能付加を行っている。 業務担当者としては、昨今のビデオ関連の発達を考慮すれば、画像取得関連を見直し、ハードディスク・レコーディングを検討したいところではある。しかし膨大なデータ保存のコストから、二の足を踏んでいるのが現状だ。基本的には業務依頼者次第であり、今後しばらくは、解析が中心となる。