**ポリリン酸蓄積植物プランクトンの観察**

2013年11月5日　　山口　聖

2014年8月31日加筆

**スライドグラス作成**

2％のグルタルアルデヒドで固定されている植物プランクトンサンプルを準備する。

1mg/mlの凍結されているDAPIを10分間超音波処理する（DAPIの結晶をなくすため）。

エッペンに移されたサンプル1mlに対し、60mlのDAPIを添加する（最終濃度は50～100μg/mlに調整）。

そのまま30～60分暗条件・室温で放置する。

時間がきたら、サンプルを0.2μmのブラックフィルターに濾過し、スライドグラスを作成する（全菌の時と同じ要領、引く圧には注意が必要か）。

**蛍光顕微鏡観察**

蛍光顕微鏡を用いて観察を行う際には、まずは対物レンズ×20くらいの低倍率から行い、植物プランクトンの濾過状況を確認する。

黄色い顆粒であるポリリン酸の蓄積状況がわからないor植物プランクトンが分からない場合にはさらに倍率を上げる。最初に×100の油滴レンズで観測を行った場合、オイルの影響で、倍率を低くできなくなるので注意が必要。

サンプルは20μmネットで採取しているため、20μmよりも大きく粒子しかないはずなので、対物レンズ×100は基本的には必要ないと思われる。

植物プランクトンは、最低100固体を目安に写真を撮る（データが少ない場合、データの信憑性に関係してくる）。このときDAPIフィルターだけでなく、自家蛍光の写真があるとさらに望ましい（フィルターはNo.3をセット）。