

二光子励起顕微蛍光スペクトルによる植物葉緑体光合成膜の微細構造の解析

長谷川 慎¹, 椎名 隆², 寺嶋 正秀¹, 熊崎 茂一¹
京大院・理¹, 京都府立大・人環²

[序]

植物など光合成を行う生物はより効率よく光合成を行うために、固体レベル、細胞レベル、分子レベルで様々な環境応答を示す。我々はその中でも明反応の行われるチラコイド膜の環境応答ダイナミクスを調べるために研究を行っている。植物のチラコイド膜では膜が折れ重なったグラナ構造と折れ畳まってない領域がある事が電子顕微鏡による観察で知られている。我々は電子顕微鏡とは違った観点から、生体条件下での構造と分子状態について新たな知見を得るために、ラインスキヤニング二光子励起顕微分光装置を開発し、実際にチラコイド膜を観察した。このラインスキヤニング二光子励起顕微分光装置では従来の顕微分光装置より測定時間が大幅に短縮できるため、多くの断面を測定でき、三次元構造について詳細に議論を行えるようになった。サンプルとしては C4 植物であるトウモロコシの葉緑体について実験を行った。C4 植物では葉肉細胞と維管束鞘細胞で分担して光合成を行っており、それぞれの細胞の葉緑体には系 I と系 II の組成比など違いがある事が知られている。

[実験条件]

トウモロコシは研究室内で栽培したものを 7 mm 角に切り取り、スライド硝子とカバー硝子で水と一緒に封じたものを観察対象試料として用いた。この試料を二光子励起ラインスキヤニング顕微分光装置を用いて測定した (装置の詳細は参考文献[1])。励起は 805 nm、0.1 ps の近赤外パルスレーザーによる二光子励起で行った。光が当たっている昼の状態のものと、光の当たっていない夜の状態のものについてそれぞれ測定を行った。また同じ領域を複数回測定し光が当たった後の変化を観察した。

[結果]

夜採取したものでは複数回測定すると細胞全体のスペクトルに変化が見られた (図 1.b)。このスペクトルの変化を解析するとスペクトルには二つの成分があることが確認できた (図 1.c)。続いてこれらの成分の分布を比べるためにスペクトルの重ならない波長領域を選んでそれぞれの三次元の蛍光像をマッピングした。赤色領域は 665 nm ~ 681 nm を (図 2.a)、遠赤色領域は 715 nm ~ 740 nm (図 2.b) を選択してマッピング

した。

これら二つの分布には違いが見られ、遠赤色蛍光では葉緑体全体に比較的均一に分布しているのに対し赤色蛍光では一部に集中が見られた。

[考察]

波長から赤色領域は系 II 由来の蛍光で遠赤色領域は系 I 由来の蛍光であると推定される。

グラナ中には系 II が多く存在するため、系 II 蛍光が一部に集中していたという結果はグラナ構造を反映しているものと思われる。講演当日は系 I、系 II の分布を統計的に比較した結果や、細胞の成長段階や組織による違いについても発表する予定である。

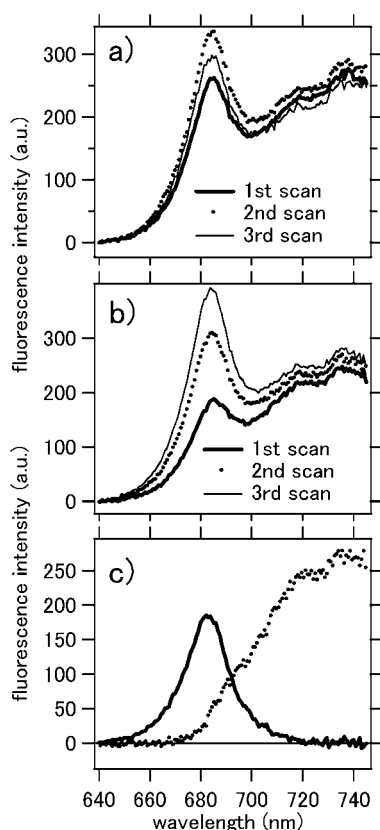


図 1

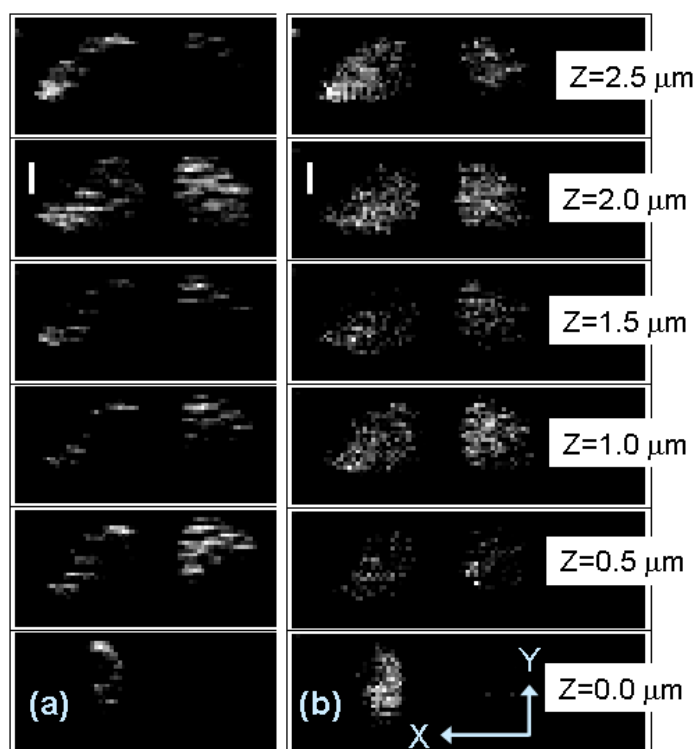


図 2

[文献]

1) “ Line-Scanning Semiconfocal Multiphoton Fluorescence Microscope with a Simultaneous Broadband Spectral Acquisition and its Application to the Study of the Thylakoid Membrane of a Cyanobacterium *Anabaena* PCC7120”

Shigeichi Kumazaki*, Makoto Hasegawa, Mohammad Ghoneim, Yugo Shimizu, Kenji Okamoto, Masayoshi Nishiyama, Hirozo Oh-oka† and Masahide Terazima, *Journal of Microscopy*, in press, (2007), November.