4P088

石油を生むオーランチオキトリウムのコヒーレント・ラマン・イメージング

(筑波大・数理 [1],東大院・理 [2],筑波大・生命環境 [3])○石塚 圭 [1],瀬川 尋貴 [2],小出 昌弘 [3],吉田 昌樹 [3],渡邉 信 [3],加納 英明 [1]

CARS spectral imaging of living algae, *Aurantiochytrium* ~Toward *in-vivo* visualization of hydrocarbon accumulation ~

(Institute of Applied Physics, University of Tsukuba [1], Graduate School of Science, The University of Tokyo [2], Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba [3])○Kei Ishitsuka[1], Hiroki Segawa[2], Masahiro Koide[3], Masaki Yoshida[3], Makoto Watanabe[3], and Hideaki Kano[1]
s1420321@u.tsukuba.ac.jp

[序] 世界中でエネルギー資源の問題が注目されている。これまで、石油や天然ガスなどの天然資源はあと数十年で枯渇すると言われ、代替エネルギー資源の研究と開発が世界中で進められてきた。その中でも、藻類バイオ燃料の実用化に向けた研究が近年特に注目が集まっている。特に、微細藻類の持つ潜在能力への関心が高まっており、これらの藻類が持つ性質を活用して将来のエネルギー資源への応用が期待されている。

微細藻類の一種であるオーランチオキトリウムは、高い増殖速度、脂質蓄積能を持ち、細胞内においてトリアシルグリセロール(TAG)とスクアレンの、主に 2 種類の脂質を合成する。このうちスクアレンは、化石燃料に替わるエネルギー資源として、近年実用化に向けた研究が進められているが、生細胞内での TAG との識別が課題となっている。

そこで本研究では、coherent anti-Stokes Raman scattering(CARS)顕微鏡を用いて、オーランチオキトリウム生細胞の分子振動イメージングを行った。

[実験] 実験には、研究室で立ち上げた CARS 分光イメージングシステムを用いた。光源には、マイクロチップ Nd:YAG レーザー（中心波長 1064 nm）を用いた。基本波である 1064 nm のパルス光を二つに分け、一方をω_1光として、もう一方をフォトニック結晶ファイバー(photonic crystal fiber)に導入して、広帯域スーパーコンティニューム光を発生させ、それをω_2光として用いた。ω_1、ω_2の光学距離を適切に調整し、2 つの光が同軸になるように最適化した。

測定サンプルには、培養時間が 24 時間、48 時間、72 時間、96 時間の 4 種類の藻類細胞を用いた。細胞の懸濁液をスライドグラス及びカバーガラスで挟み、試料とした。これを顕微鏡上のピエゾステージに置きサンプルをスキャンして分光イメージを取得した。

[結果と考察] 図 1 に、オーランチオキトリウム生細胞の結果（Im[χ(3)]スペクトル）を示す。細胞は 72 時間培養後のものである。細胞内に、脂質成分として少なくとも異なる 2 種類の成分（(a)及び(b)）が存在することがわかった。それぞれのラマンスペクトルを標品のスクアレン及び TAG のラマンスペクトルと比較することにより、図 1(a)及び(b)は各々スクアレン、TAG であると同定した。図 1(a)及び(b)のスペクトルは、図 2(a)の光学像中のそれぞれ A 点及び B 点から得られたものである。図 2(b)には CH_2 伸縮振動にて得られた CARS イメージ

を示す。図 2(b)ではスクアレンと TAG の両者が可視化されている。

図 1 で示したスペクトルの C=C のバンドに着目すると、スクアレンは 1662 cm^{-1}、TAG は 1652 cm^{-1} であった。この波数差に注目し、スクアレンと TAG の細胞内での分布を示す C=C の波数シフトによる空間イメージを構成した(図 2(c))。図 2(d)及び(e)には、C=C のバンドを二つのガウス関数でフィットした結果を示す。スクアレンと TAG が、生細胞内で明瞭に識別されている。

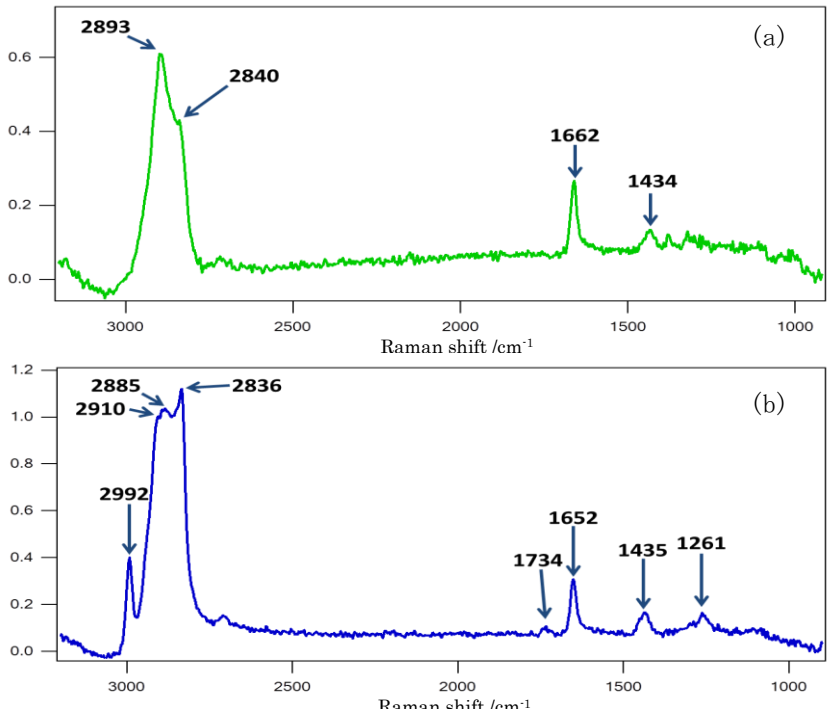

図 1. 生細胞内の(a)スクアレン及び(b)TAG の Im[$\chi^{(3)}$]ラマンスペクトル。

図 2(a). 光学像

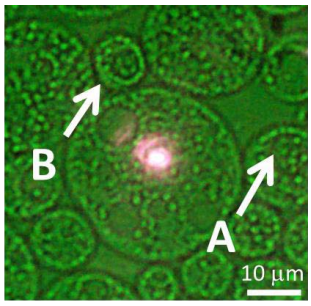

図 2(b). CH_2 伸縮イメージ

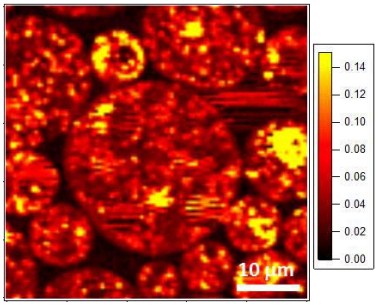

図 2(c). C=C 波数シフトイメージ

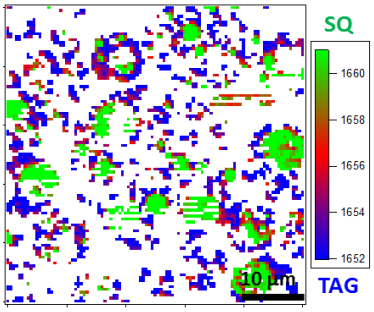

図 2(d). C=C イメージ(1662 cm^{-1})

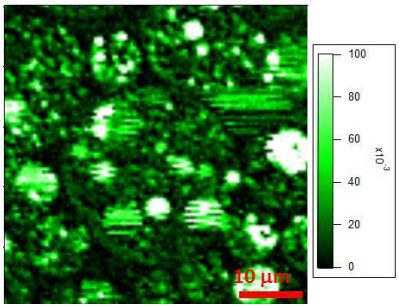
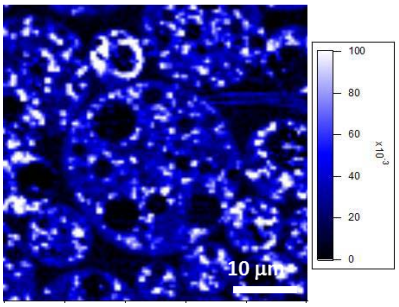
図 2(e). C=C イメージ(1652 cm^{-1})