

## ユーグレナ (*Euglena gracilis*) における第二高調波の観察

<sup>1</sup>筑波大院数理, <sup>2</sup>筑波大院生命

○千葉 祐介<sup>1</sup>, 吉田 昌樹<sup>2</sup>, 渡邊 信<sup>2</sup>, 加納英明<sup>1</sup>

### Observation of second harmonic in *Euglena gracilis*

○Yusuke Chiba<sup>1</sup>, Masaki Yoshida<sup>2</sup>, Makoto M Watanabe<sup>2</sup>, Hideaki Kano<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba, Japan

<sup>2</sup> Faculty of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, Japan

**【Abstract】** One of the worldwide tasks in recent years is energy problem. Algae biomass is attracting much attention as an alternative energy source to fossil fuels. Among them, *Euglena* has been recognized as providing alternative biofuel such as paramylon [1], which is *Euglena*-derived carbohydrate similar to starch, in a sustainable manner. Although paramylon stored in *Euglena* can be recognized as white round structures inside cells, the quality of each structure has not been investigated in detail. In the present study, we performed nonlinear optical imaging using coherent anti-Stokes Raman scattering (CARS) and second harmonic generation (SHG) to clarify optimal growth conditions and paramylon storage. In the course of the study, we unexpectedly observed several second harmonic (SH) spots inside cells.

### 【序】

近年における世界的な課題の一つにエネルギー問題が挙げられる。そこで化石燃料の代替エネルギーとして注目を集めているのが藻類バイオマスである。藻類バイオマスは非耕地での生産が可能であり、脂質蓄積能が高いことから、陸上植物よりも高効率で生育が可能である。これまでに我々は、オーランチオキトリウムという従属栄養生物が液胞内にスクアレンという炭化水素系オイルを蓄積することに注目して、スクアレン蓄積過程についての研究を行ってきた[2]。本研究では、本手法を独立栄養生物である緑色藻類（ユーグレナ）へと拡張した研究を行ったので報告する。

### 【方法 (実験・理論)】

実験では、研究室で立ち上げた CARS 分光イメージングを用いた。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。光源の繰り返し周波数は 33 kHz, パルス幅は約 800 ps である。1064 nm のパルス光を二つの光に分け、一方を  $\omega_1$  光, 他方をフォトニック結晶ファイバーに導入し、広帯域スーパーコンティニューム(supercontinuum; SC)光  $\omega_2$  として用いた。二つの光パルスの光学距離を適切に調整し、同軸で顕微鏡に導入される最適化した。

サンプルには、従属栄養で培養したユーグレナ (*Euglena gracilis*) を用いた。細胞懸濁液を 50  $\mu\text{L}$  ほど取り分けてスライドガラス及びカバーガラスで挟んだものを試料とし、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することで分光イメージを取得した。出射後の出力は  $\omega_1$  が 170mW,  $\omega_2$  が 80mW であった。一回のスキャンに要する時間はおよそ 8 分であった。

### 【結果・考察】

今回の実験では、細胞内のパラミロン合成を効率的に行わせるため、グルコースを添加して従属栄養培養をしたユーグレナを用いた。Fig. 1(a)及び(b)に CARS(CH 伸縮及び C-O-C 伸縮)イメージを示す。(a)及び(b)共に顆粒状の構造が見られており、これ

らはユーグレナが細胞内に蓄積したパラミロンだと考えられる。これらに加え興味深いことに、細胞内に複数の SH 輝点が見られた (Fig. 1(c))。Fig. 1(c)に示されているように、SH 輝点はパラミロンと共局在を示さないことから、未知の細胞内生体分子とそのアーキテクチャが選択的に可視化されたと考えられる。Fig. 1(c)の矢印で示した SH 輝点の位置における  $\text{Im}[\chi^{(3)}]$  スペクトルを Fig. 1(d)に示す。899  $\text{cm}^{-1}$ における C-O-C のバンドが弱いながら観測されたことから、パラミロンとは異なる多糖類に由来する可能性が考えられる。

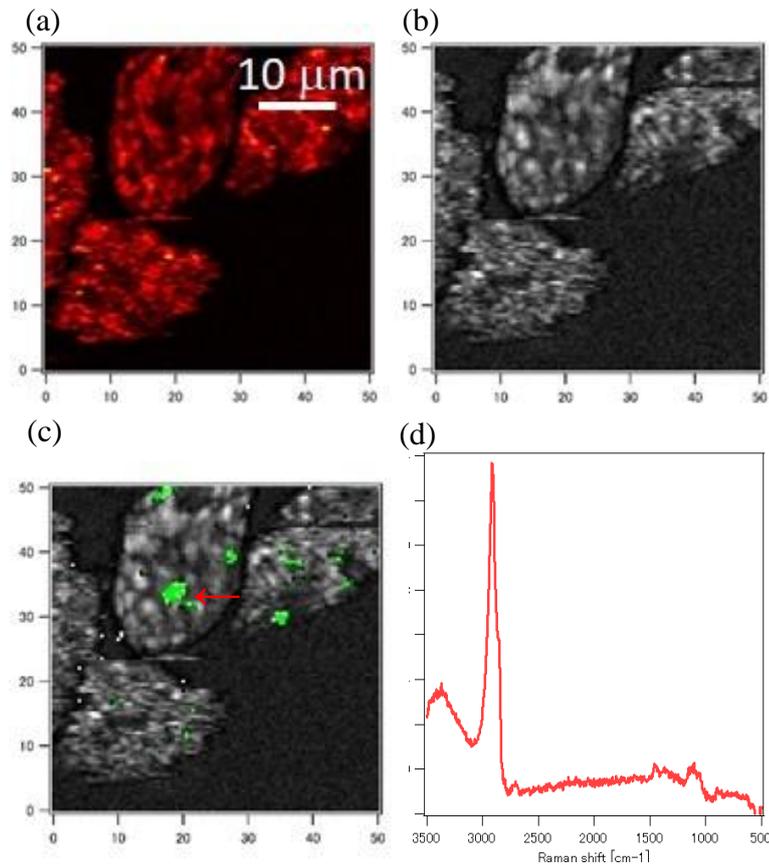


Fig. 1(a) CARS image at CH stretching vibrational mode; (b) CARS image at C-O-C stretching vibrational mode; (c) merged image of CARS(b) and SHG; (d)  $\text{Im}[\chi^{(3)}]$  spectrum at the SHG spot indicated by the arrow.

### 【参考文献】

- [1] Ozeki *et al.*, Nature Microbiology 10,1038 (2016).
- [2] Ishitsuka *et al.*, J. Raman spectrosc 48,8 (2017).