

## 赤外顕微分光法による植物プランクトンの粘質鞘の分析

## Infrared Micro-Spectroscopy Observation of Plant Plankton

竹本 邦子<sup>a</sup>, 池谷 仁里<sup>b</sup>, 家路 豊成<sup>c</sup>, 太田 俊明<sup>c</sup>, 木原 裕<sup>a</sup>  
Kuniko Takemoto<sup>a</sup>, Hisato Ikegaya<sup>b</sup>, Toyonari Yaji<sup>c</sup>, Toshiaki Ohta<sup>c</sup>, Hiroshi Kihara<sup>a</sup>

<sup>a</sup>関西医科大学, <sup>b</sup>兵庫県立大学, <sup>c</sup>立命館大学 SR センター

<sup>a</sup>Kansai Medical University, <sup>b</sup> Graduate School of Life Science, University of Hyogo, <sup>c</sup>The SR Center, Ritsumeikan University

赤外顕微分光法を用いて、細胞の周囲を透明な粘質鞘囲まれたシアノバクテリアにおける細胞と粘質鞘におけるタンパク質及び多糖類の存在について調べた。タンパク質の Amide I (1600-1700 $\text{cm}^{-1}$ ) と Amide II (1500-1600  $\text{cm}^{-1}$ ) といった特徴的な吸収に注目した結果、粘質鞘にはタンパク質は殆ど含まれていない可能性が示唆され、細胞と粘質鞘の識別法として赤外顕微分光法が有効であることが示された。

The components of both the extracellular mucilage sheath and cell of cyanobacteria was analyzed by Infrared (IR) micro-spectroscopy. The presence of protein in the mucilage sheath was explored with their IR spectra such as the amide I (1600-1700  $\text{cm}^{-1}$ ) and II (1500-1600  $\text{cm}^{-1}$ ), which are the most intense bands of the protein infrared spectrum. Small peaks of amide I and II were detected, which suggested that a small amount of protein was present in the mucilage sheath. The results demonstrate the effectiveness of the IR micro-spectroscopy for a technique of distinguishing between cell and mucilage sheath.

**Keywords:** infrared (IR) micro-spectroscopy, cyanobacteria, mucilage sheath

**背景と研究目的:** 琵琶湖では、集水域における流入負荷の削減対策により、生物化学的酸素要求量 (BOD) は減少傾向にあるにもかかわらず、化学的酸素要求量 (COD) は増加傾向を示している (COD と BOD の乖離現象) [1]。

琵琶湖の植物プランクトンにおける長期変遷と季節性調査によると、近年、粒子性全有機炭素 (P-TOC) や、プランクトンの藻体量の目安とされる色素クロロフィル a のピーク時に、粘質鞘を生成する藍藻が多く計数されている。この調査結果は、藻体量には反映されていない有機物量の増加を示唆するものである。すなわち、藍藻綱が持つ細胞の周囲にある透明な粘質鞘に含まれる有機物が COD の増加に寄与していることが考えられる。

そこで、本研究では赤外顕微分光を用いて細胞と粘質鞘に含まれる糖とタンパク質の分布について評価できるか検討した。

**実験:** 粘質鞘をもったシアノバクテリアの細胞懸濁液を、アルミコーティングされたガラス基板上に滴下し、乾燥させた。実験は立命館大学 SR センター赤外顕微鏡ビームライ

ン BL-15 で、赤外顕微鏡 (Thermo社製 Nicolet 6700 + Continuum XL) を用いて測定した。赤外顕微鏡の測定条件は、反射測定 (透過反射), 32 倍カセグレン, 顕微アパーチャサイズ 25  $\mu\text{m} \times 25 \mu\text{m}$ , 2 次元分析 (走査 100  $\mu\text{m}$  ステップ) とした。測定は、滴下後 24 時間以内に行った。

**結果、および、考察:** 寒天粉末 (CAS#9002-18-0) のスペクトルとタンパク質の赤外吸収スペクトルから、検討対象が、多糖類とタンパク質であることから、4000-1200 $\text{cm}^{-1}$  の中赤外領域で議論を行うことにした。この領域の、N-H伸縮 (3300-3100  $\text{cm}^{-1}$ ), タンパク質の Amide I (C=O伸縮, 1650  $\text{cm}^{-1}$  付近を中心とした 1700-1600  $\text{cm}^{-1}$  の吸収), Amide II (N-H変角, 1550  $\text{cm}^{-1}$  付近を中心とした 1600-1500  $\text{cm}^{-1}$  の吸収) といった特徴的な吸収に注目することにした。

代表的な光学顕微鏡像とスペクトル結果を Fig. 1 に示す。ピーク解析可能なスペクトルを得ることができた。

細胞を測定したスペクトルには 3300

$\text{cm}^{-1}$ (N-H 伸縮),  $1650 \text{ cm}^{-1}$  (Amide I)や  $1550 \text{ cm}^{-1}$  (Amide II) にそれぞれピークが存在し、タンパク質の特徴的な吸収を示している。Amide I, II に見られる微細な構造は空気中の水分による吸収が残っているものと考えられる。

粘質鞘を測定したスペクトルにおいて、 $1650 \text{ cm}^{-1}$  (Amide I) の付近の吸収が乱れている。これは、糖の C=O によるものであると考えられる。Amide II の吸収が確認できた場所もあったが (Fig.1(b) 上から 4 番目), 吸収量から考えると、粘質鞘に存在するタンパク質は相当少ない可能性が考えられる。

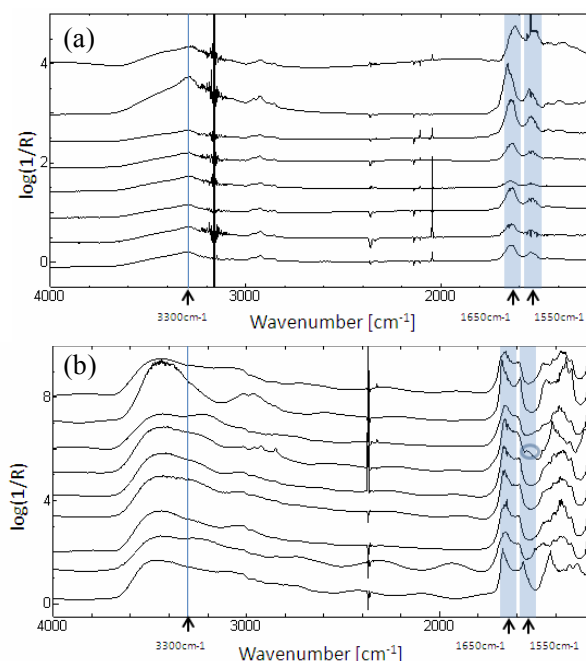
以上、赤外顕微鏡ビームライン BL-15 で、シアノバクテリアの細胞と粘質鞘の顕微 IR 測定を行い、ピーク解析可能なスペクトルを得ることができた。更に、Amide I, II の吸収帯から、タンパク質の存在が強く示唆された。糖の指紋領域としての吸収が  $1200\text{-}1030 \text{ cm}^{-1}$  の領域に現れることから、今後、これらの吸収を利用した粘質鞘の識別を行う予定である。また、未処理の比較的大きなシアノバクテリアについて、Amide I, II と糖の二次元分布も調べる予定である。

## 文 献

[1] 滋賀県琵琶湖環境科学研究センター 研究報告書平成 21 年度, 6 (2011).

## 論文・学会等発表 (予定)

未定



**Fig. 1.** Micro-IR spectra of cyanobacteria after the removal of the mucilage (a) and the removed mucilage (b).