

マルチプレックス CARS 顕微分光によるアーバスキュラー菌根菌のラベルフリー分子イメージング

(関学大¹・筑波大²・理研 BRC³) ○祖父江編¹・竹下典男²・市橋泰範³・重藤真介¹

Label-free molecular imaging of an arbuscular mycorrhizal fungus using multiplex CARS microspectroscopy (¹Kwansei Gakuin University, ²University of Tsukuba, ³RIKEN BRC), ○Amu Sofue,¹ Norio Takeshita,² Yasunori Ichihashi,³ Shinsuke Shigeto¹

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) have symbiotic interactions with the roots of many land plants by providing plants with phosphorus from the soil and in turn, receiving sugars from them. Toward elucidation of the mechanism of this symbiosis, it is crucial to visualize the localization and dynamics of various biomolecules involved in a mycorrhiza, but label-free imaging of arbuscular mycorrhizal fungi has remained largely unexplored. In this study, we performed fast, label-free molecular imaging of the spores and hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* using broadband multiplex CARS microspectroscopy. By using the Raman bands characteristic of unsaturated lipids and polysaccharides, we successfully visualized the cell walls of the spores and hyphae, lipid droplets accumulated in the spores, and the interior of the hyphae without staining.

Keywords : coherent anti-Stokes Raman scattering; Raman microspectroscopy; bioimaging; mycorrhizal fungi

陸上植物の多くの根に共生しているアーバスキュラー菌根菌は、植物から糖などを受け取る代わりに、土壌中のリンなどの栄養分を植物に供給する役割を担っている。そのため、その共生メカニズムの解明は環境・農業問題の解決に資するものと期待される。本研究では、菌根中の様々な物質の局在と動態の可視化に向け、高速イメージングが可能なマルチプレックス CARS 顕微分光 (ω_1 : 1064 nm, ω_2 : 1080–1600 nm) を用いたアーバスキュラー菌根菌 *Rhizophagus irregularis* の孢子および菌糸のラベルフリー分子イメージングを行った。得られた菌根菌の $\text{Im } \chi^{(3)}$ スペクトル (自発ラマンスペクトルに相当) およびイメージング結果を図 1 に示す。孢子内部 (1748 cm^{-1} , 1656 cm^{-1})、孢子および菌糸の壁部 (1642 cm^{-1} , 817 cm^{-1})、菌糸内部 (1481 cm^{-1}) に特徴的なラマンバンドを選択することで染色の必要なく、孢子内部の油滴、細胞壁、菌糸内部という *R. irregularis* の異なる部位を同時かつ明瞭に可視化することに成功した。

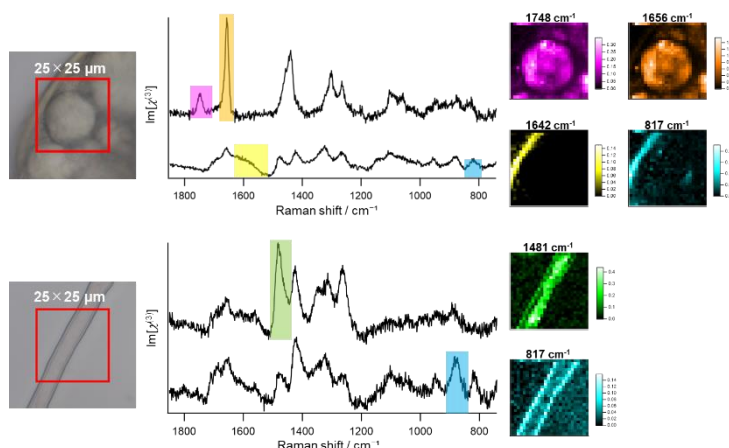


図 1. 菌根菌 *R. irregularis* の孢子及び菌糸の $\text{Im } \chi^{(3)}$ スペクトルおよびイメージング結果

- 1) L.Zhang et al., *Trends Plant Sci.*, **27**(4), 402-411 (2022)