

超解像蛍光顕微鏡による珪藻の葉緑体の観察

Observation of Diatom Chloroplasts by Super-resolution Fluorescence Microscopy

○堀内 友貴、佐藤 瑞樹、堀田 純一（山形大院理工）

○Yuki Horiuchi, Mizuki Sato, Jun-ichi Hotta (Yamagata Univ.)

E-mail: tts99002@st.yamagata-u.ac.jp

【はじめに】海洋における基礎生産の大部分は、一次生産者である微細藻類により生産されている。微細藻類は光合成により炭酸ガスの固定・酸素の生産を行っており、珪藻をはじめとする真核生物の微細藻類では、高等植物と同様に葉緑体で光合成が行われている。

微細藻類の生態を観察するための手法として重要な光学顕微鏡は、生物学のみならず、物理学、化学などの自然科学の研究分野において最も簡便な微細構造の観察手段として用いられている。しかしその空間分解能は「光の回折限界の壁」により波長の半分程度に制限されていたが、近年開発された超解像蛍光顕微鏡を用いるとその壁を超える高空間分解能の測定が可能となった。本研究では、珪藻の葉緑体を蛍光の揺らぎを利用する超解像蛍光顕微鏡法である Super-resolution Optical Fluctuation Imaging (SOFI)により観察を行ったので報告する。

【実験】試料として神奈川県横浜市で採取した大型珪藻 *Coscinodiscus* sp. を用いた。f/2 培地中で温度 20℃、明暗サイクルを 12 時間明期 12 時間暗期として培養し、固定処理を行わず SOFI による測定を行った。全固体レーザー(488 nm、100 mW)を励起光源として全反射対物レンズを用いてサンプルを一様に励起し、サンプルからの蛍光をダイクロイックミラー、バンドパスフィルターを通過させ、EM-CCD カメラにより撮像した。

【結果と考察】*Coscinodiscus* sp. の葉緑体を SOFI によりイメージングした結果を Fig. 1 に示す。従来型蛍光顕微鏡像と比較して高空間分解能かつ高コントラストの SOFI 像を得ることに成功した。今後は珪藻及びその他の微細藻類の核やミトコンドリア等の他の細胞内小器官を超解像蛍光顕微鏡により観察する予定である。

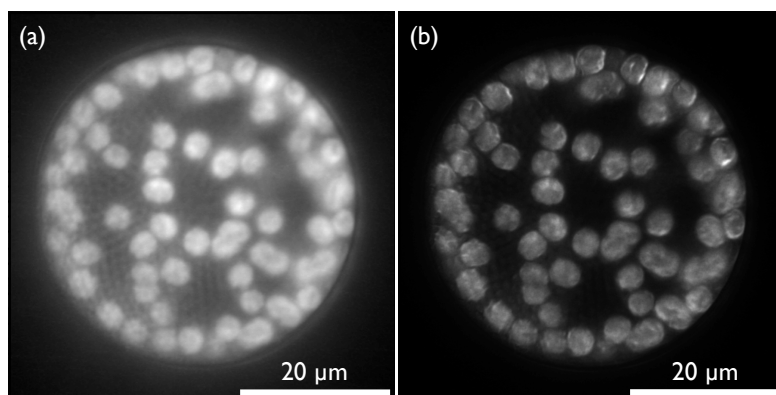


Fig. 1 Microscopic images of diatom chloroplasts.

(a) Wide-Field image (b) SOFI image