

## スペクトル型セルアナライザーSA3800によるヘマトコッカス藻のアスタキサンチン産生モニタリング

### 背景

赤色のカロテノイド色素であるアスタキサンチンは、強い抗酸化作用を持つため、化粧品や健康食品などに広く利用されている。さらに近年、動脈硬化や糖尿病性腎症を抑制する効果が報告され(文献1-3)、健康効用の研究も活発に進められている。現在商業的に利用されているアスタキサンチンの多くは、大量培養したヘマトコッカス属緑藻から抽出される。ヘマトコッカスは通常、クロロフィルを多く持つ緑色の遊走型細胞として存在しているが、窒素欠乏条件などのストレス環境下においては休眠細胞となり、細胞内にアスタキサンチンを多量に蓄積しクロロフィルの濃度は減少する(文献4)。商業規模の培養では、残留クロロフィルが抽出アスタキサンチンの純度低下を引き起こすため、培養条件の最適化やアスタキサンチン産生の定期的なモニタリングが必要不可欠である。

本アプリケーションノートでは、スペクトル型セルアナライザーSA3800にてヘマトコッカスのアスタキサンチン産生を経時的にモニタリングした結果を紹介する。

### サンプル・装置

- ・ Haematococcus lacustris (NIES-144, 国立研究開発法人 国立環境研究所 微生物系統保存施設)
- ・ スペクトル型セルアナライザーSA3800

### 方法

ヘマトコッカスをBG-11培地(対照条件)およびBG-11a培地(窒素欠乏条件)で培養し、細胞懸濁液をSA3800で488nmレーザーを点灯し測定した。

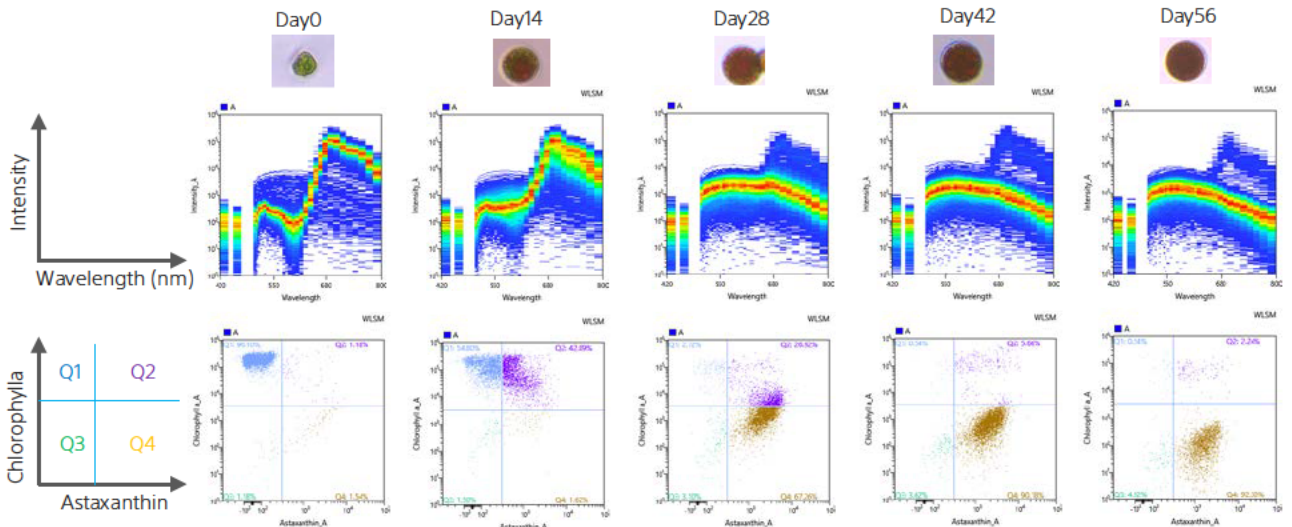


図1. 窒素欠乏培養したヘマトコッカスの蛍光スペクトルの経時変化

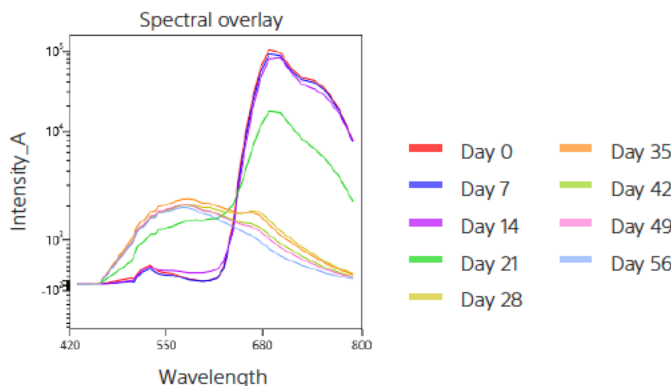


図2. 各窒素欠乏培養日数における主要蛍光スペクトルのオーバーレイ

## 結果

図1は、BG-110培地で培養したヘマトコッカスの明視野像、蛍光スペクトルの経時変化、およびスペクトル・アンミキシング(※蛍光スペクトルの形状をもとにアンミキシング計算を行うため、客観性の高い解析が実現できます)計算後のクロロフィルaとアスタキサンチンのドットプロットを示す。窒素欠乏条件下での培養日数を追うごとに、アスタキサンチンリッチな細胞(Q4集団)が増加していた。

また、スペクトル型セルアナライザーSA3800のヒストグラムオーバーレイ機能により、各窒素欠乏培養日数における主要な蛍光スペクトルを重ね合わせることで、570nm付近を極大とする色素(アスタキサンチン; 文献5)が蓄積され、680nm付近を極大とする色素(クロロフィルa)が分解されていることが判明した(図2)。さらに、窒素欠乏培養35日目の細胞の、Q4集団内の亜集団(T, U, V集団)の蛍光スペクトルを比較すると、クロロフィルaがほとんど分解されていない0.18%程度の集団を区別することができた(図3)。

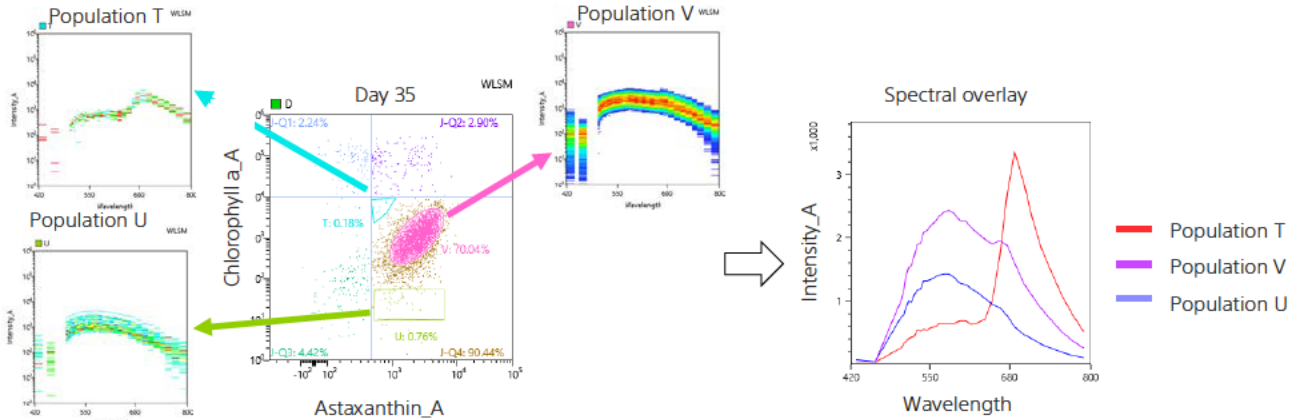


図2. 各窒素欠乏培養日数における主要蛍光スペクトルのオーバーレイ

## 考察

現在のアスタキサンチン産生評価は、吸光度測定または高速液体クロマトグラフィーが利用されているが、ヘマトコッカスからの色素抽出を必要とするため時間と手間を要する。フローサイトメトリーを利用すれば、色素抽出を必要としないため迅速に細胞内のアスタキサンチンから放出される蛍光を評価することが可能である。しかしながら現行の市販されているバンドパスフィルター型フローサイトメーターでは、細胞集団内の亜集団の微妙な蛍光強度の違いを解析することは不可能である。今回の結果からスペクトル型セルアナライザーSA3800では、細胞集団内の希少な亜集団の蛍光スペクトルを比較することで、アスタキサンチン産生やクロロフィル分解の詳細な解析が可能であることが示唆された。このようにスペクトル型セルアナライザーSA3800は従来型のフローサイトメーターでは不可能であった解析が可能であることから、藻類研究等において、基礎研究や産業利用など、幅広い研究への応用が期待できる。

### スペクトル型セルアナライザーSA3800

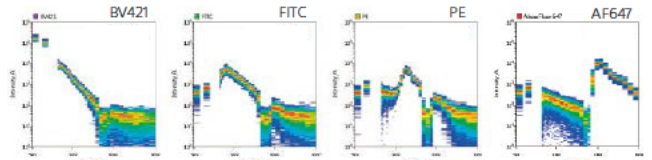
多数のサンプルを高速・簡便に解析できる全自動スペクトル型セルアナライザー

- ・先進のスペクトル光学技術による高精度かつ安定した解析
- ・機器管理から解析までの快適なワークフローを実現
- ・日々の実験をより効率的にする384対応3Dオートローダーとシンプルで直感的な操作/設定



### ソニー独自のスペクトル解析

従来のフィルター方式が蛍光の一部の波長領域を検出しているのに対して、スペクトル方式では細胞一つ一つの蛍光スペクトルを形として検出します。従来の二次元プロットやヒストグラムに加え、スペクトルプロットが表示可能で、蛍光信号を視覚的に捉えることができます。



各蛍光色素によるスペクトルプロット表示の一例

### 参考文献

1. Kishimoto Y, et al., Eur J Nutr. 2010; 49, 119.
2. Uchiyama K, et al., Redbx Rep. 2002; 7(5):290-3.
3. Naito Y, et al., BioFactons. 2004;20(1):49-59.
4. Shah MM, et al., Front Plant Sci. 2016 Apr 28;7:531.
5. Ukibe K, et al., FEMS Microbiol Lett. 2008 Sep;286(2):241-8.

### 発行元

ソニーイメージングプロダクツ&ソリューションズ(株)  
ライフサイエンス営業部  
〒243-0014 神奈川県厚木市旭町 4-14-1  
TEL : 0120-667-010  
FAX : 0120-388-060  
E-mail : cytometry@sony.com  
URL : <http://www.sony.co.jp/LS>

