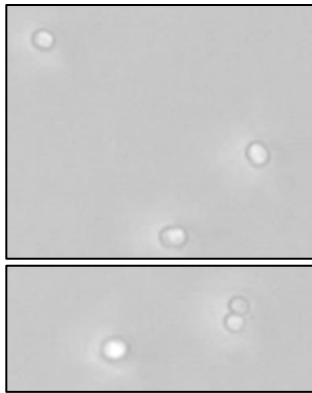


スペクトル型フローサイトメーターによる シアノバクテリアの生分解性プラスチック産生能評価

～ スペクトル解析による自家蛍光分離 ～

シアノバクテリア

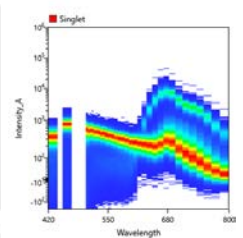
Synechocystis sp. PCC6803



非染色

ナイルレッド
染色

スペクトル測定

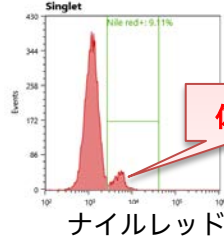


(生分解性プラスチックマーカー)

スペクトル型セルアナライザー
SA3800

従来型

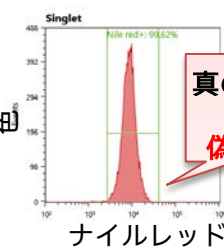
未染色



偽陽性

ナイルレッド

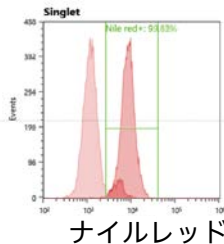
ナイルレッド染色



真の陽性
+
偽陽性

ナイルレッド

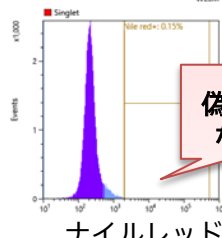
Overlay



ナイルレッド

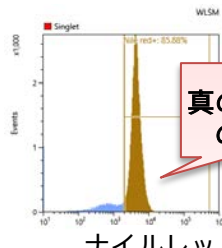
偽陽性を含む
不正確な定量

スペクトル型



偽陽性
なし

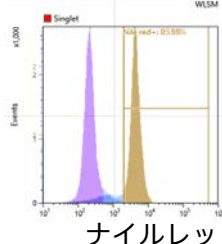
ナイルレッド



真の陽性
のみ

ナイルレッド

Overlay



ナイルレッド

偽陽性を排除した
正確な定量

結果

Synechocystis sp. PCC6803の生分解性プラスチックを染めるためナイルレッド染色を行い*、従来のバンドパスフィルター型フローサイトメーターと、スペクトル型セルアナライザーSA3800で測定し比較した。従来型のフローサイトメーターでナイルレッド蛍光を測定すると、非染色サンプルにおいても、ナイルレッド偽陽性集団が見られた。これは、クロロフィルの自家蛍光の漏れ込みと考えられ、自家蛍光により、ナイルレッド蛍光の定量解析が困難となっている。同一のサンプルをスペクトル型セルアナライザーSA3800で測定すると、非染色サンプルにおいて自家蛍光が分離され、正確な定量解析を行うことができるようになった。

材料と方法

サンプル

シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC6803

従来型フローサイトメーターによる測定

488/561レーザーを点灯し、ナイルレッド蛍光は600/60 nmのバンドパスフィルターで検出した。

スペクトル型セルアナライザーSA3800による測定

488/561レーザーを点灯し測定した。非染色サンプルから自家蛍光、ナイルレッド染色サンプルからナイルレッドのリファレンススペクトルを登録し、Unmixing処理を行った。

まとめ

フローサイトメーターは、一細胞ごとの蛍光を測定でき、また短時間で多検体を解析することができるため、バイオマス研究におけるスクリーニング等に有用であると考えられている。しかしシアノバクテリアを始めとする藻類は、クロロフィルおよび各種蛍光色素を持っており、強い自家蛍光を発する。そのため、他の蛍光色素とのオーバーラップにより、定量的な解析が困難である。藻類に限らず、細胞はそれぞれ固有の自家蛍光を発しており、薬剤等の処理によって自家蛍光スペクトルが変化するものもあるにも関わらず、今まではほとんど重要視されてこなかった。

ソニー製スペクトル型セルアナライザーSA3800は、波長域全体を捉えて蛍光スペクトルを形として検出することが可能である。そのため、細胞固有の自家蛍光も蛍光スペクトルとして計測可能である。

本アプリケーションノートでは、ナイルレッドで生分解性プラスチックを染色し、SA3800を用いてフローサイトメーター解析を行う際に自家蛍光を分離することで、正確な定量解析を可能とした。

SA3800は、油滴生産量の変化の解析や生分解性プラスチック産生能力の高い株のスクリーニングなど、バイオプラスチックやバイオエタノール研究に貢献し得る。また、水環境における未知の藻類の同定など、様々な研究に応用することが可能である。

【謝辞】

本アプリケーションノートの作成にあたりましては、早稲田大学教育学部理学科生物学専修植物生理学研究室の園池公毅先生に多大なるご指導をいただきましたこと、この場を借りて厚く御礼申し上げます。

【参考文献】

*: Tyo KE, Zhou H, Stephanopoulos GN. (2006). High-throughput screen for poly-3-hydroxybutyrate in *Escherichia coli* and *Synechocystis* sp. strain PCC6803. *Appl Environ Microbiol.* May;72(5):3412-7.

Spectral Cell Analyzer SA3800

多数の検体を高速・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



Spectral Technology

ソニー独自の「スペクトル解析」を採用。細胞一つ一つから得られる蛍光スペクトルを検出し、アンミキシング計算により客観性の高い解析を実現。細胞由来の自家蛍光も測定・分離ができ、高精度解析が可能

Smooth workflow

機器管理から解析までの快適なワークフローを実現。シングルステイン・フリーと長時間自動測定機能の充実により大幅に作業効率を改善

Easy to use integration

直感的かつ効率的に作業が行える、分かりやすいユーザーインターフェース

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
MAIL: cytometry@sony.co.jp
http://www.sony.co.jp/LS

