

関西学院大学 研究成果報告

2020年 3月 11日

関西学院大学 学長殿

所属：理工学研究科
職名：博士研究員
氏名：菅野菜々子

以下のとおり、報告いたします。

研究制度	<input type="checkbox"/> 特別研究期間 <input type="checkbox"/> 自由研究期間 <input type="checkbox"/> 大学共同研究 <input type="checkbox"/> 個人特別研究費 <input checked="" type="checkbox"/> 博士研究員 ※国際共同研究交通費補助については別様式にて作成してください。
研究課題	分子分光プロファイリングによるポストコッホ生態物理化学
研究実施場所	理工学部 重藤研究室
研究期間	2020年 1月 1日 ～ 2020年 3月 31日 (3ヶ月)

◆ 研究成果概要 (2,500字程度)

上記研究課題に即して実施したことを具体的に記述してください。

微生物は生物地球化学的循環の中で重要な役割を担うとされる。これまで、微生物活性の研究は純粋培養された微生物を使用して実験室内で進められてきたが、実際の環境中では様々な種類の微生物が混在しており、微生物が自然界で実際にどのようにその能力を発揮しているかは不明点が多い。

本研究では環境中に微生物がどのように分布しその能力を発揮するかを明らかにすることを目標に、顕微ラマン分光法による環境中での微生物・生理活性物質分布様式の可視化技術の開発を目指している。2019年度は顕微鏡観察系の条件検討および複数種の微生物のラマンスペクトルの取得解析を行った；

- ① 複数微生物比較に向けたラマンスペクトル取得のための条件決定
- ② 極小微生物観察のための位相差観察系の検討
- ③ 系統分類学的・生理学的に異なる特徴を持つ種々の微生物種のラマン分光スペクトルデータの取得解析

① 複数微生物比較に向けたラマンスペクトル取得のための条件決定

環境中での微生物分布の可視化には微生物の分類群や生理活性物質に特徴的なスペクトルを探索し、標識として使用する。特徴的なスペクトルを探索するには様々な微生物種のスペクトルを大量に取得し比較する必要がある、迅速なスペクトル取得条件を求める必要がある。細胞サイズが小さくスペクトル強度の低い微生物種(アンモニア酸化アーキア)でも十分な結果が得られる範囲で迅速にデータを取得可能なレーザー強度および露光時間の検討を行った。細胞へのダメージを考慮したレーザー強度の最大値である3mWレーザー強度において露光時間30-60秒で比較検討可能なスペクトルが取得可能であることを明らかにした。

② 極小微生物観察のための位相差観察系の検討

モデル微生物として知られる大腸菌や枯草菌などの細胞長は数 μm 程度だが、環境微生物には μm 以下の大きさの微生物種も多い。細胞サイズが小さい微生物の観察に向けて、位相差対物レンズを用いた微生物の画像取得およびラマンスペクトル取得の検討を行った。100倍油浸の位相差対物レンズおよび明視野観察用対物レンズを比較した結果、細胞サイズが最大で $0.9\mu\text{m}$ の微小なアーキア細胞を位相差観察下で正確に捉えて画像を取得することに成功した。ラマンスペクトルについては明視野観察用対物レンズに比較すると強度は落ちるものの、同等の波形のスペクトルの取得に成功し、位相差観察系での画像およびラマンスペクトル取得が可能なことを明らかにした。

③ 系統分類学的・生理学的に異なる特徴を持つ種々の微生物種のラマン分光スペクトルデータの取得解析

微生物種・生理活性物質特異的なスペクトルの探索および分類システムの構築には機械学習を使用する。機械学習には様々な微生物種のスペクトルを得る必要があるため、今年度は3つの生物ドメインである細菌、アーキア、真核微生物の代表的な種についてラマンスペクトルを取得した。細菌としてはモデル微生物である大腸菌および芽胞形成能を持つ枯草菌、菌糸・孢子嚢形成が知られる放線菌、好熱細菌のラマンスペクトルを取得した。アーキアとしてはメタンアーキア、好熱アーキア、アンモニア酸化アーキア、好塩性アーキア、好酸性アーキアのスペクトルを取得した。真核生物としてはモデル微生物である分裂酵母のスペクトルを取得した。また光合成微生物のスペクトル取得に向け、光合成微生物に特化した培養環境の整備を行った。

以上

提出期限：研究期間終了後2ヶ月以内

※個人特別研究費：研究費支給年度終了後2ヶ月以内 博士研究員：期間終了まで

提出先：研究推進社会連携機構（NUC）

※特別研究期間、自由研究期間の報告は所属長、博士研究員は研究科委員長を経て提出してください。

◆研究成果概要は、大学ホームページにて公開します。研究遂行上大学ホームページでの公開に支障がある場合は研究推進社会連携機構までご連絡ください。