

マクロ生物情報の 光センシング

三重大学大学院生物資源学研究科
資源循環学専攻

橋本 篤

かずさDNA研究所ワークショップ「Phenomixが拓く新たな生物研究」
(2012年3月9日)



本日の発表

- はじめに
 - センシング対象とするマクロ生物情報
 - マクロ生物情報の光センシング
- 光センシング
 - 光センシングの特徴
 - マルチバンドセンシング例
- 赤外分光センシング
 - 糖類の赤外分光特性
 - 代謝関連情報のセンシング例
 - コメの赤外分光特性
- おわりに




農業から食品工業

リモートセンシング（栽培情報、生体情報）


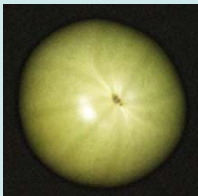

品質・安全性の追跡



品質・成分
味覚



品質・糖酸度・
色・形



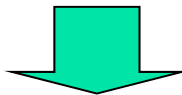
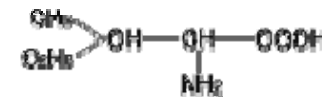
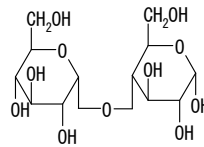
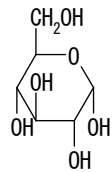
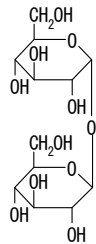
追熟・色（色素
変化）



食品工業



物質・細胞から個体へ

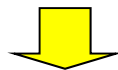
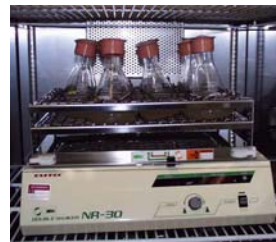


タバコ培養細胞



形の成長計測・解析

イネ培養細胞

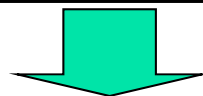


イネの成長計測・解析

大腸菌



キセノンガスによる水の構造化を用いた大腸菌の保存



様々なバイオインフォメーション

- 一次のバイオインフォメーション
 - DNA・RNA・タンパク質の順で生物体の機能として表現される情報
- 二次のバイオインフォメーション
 - 生命の維持(構造の秩序維持)に不可欠な代謝(一次代謝と二次代謝)情報
- 三次のバイオインフォメーション
 - 一次・二次の情報から発現した生体構造・形・物性・特性・感覚などの情報

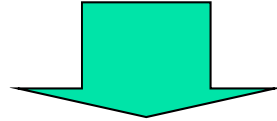
ミクロ



マクロ

Phenomics研究に求められるセンシング

生物個体の表現型を総合的に解析する



現場（生物場）対応型のセンシング手法：

簡便（前処理などが不必要）

迅速

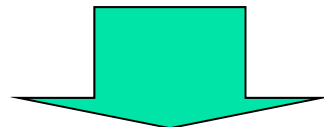
非破壊的

可搬型

ITとの親和性の高いセンシング手法：

ひとつのデータが様々な情報を含んでいる

データの加工（処理）がしやすい

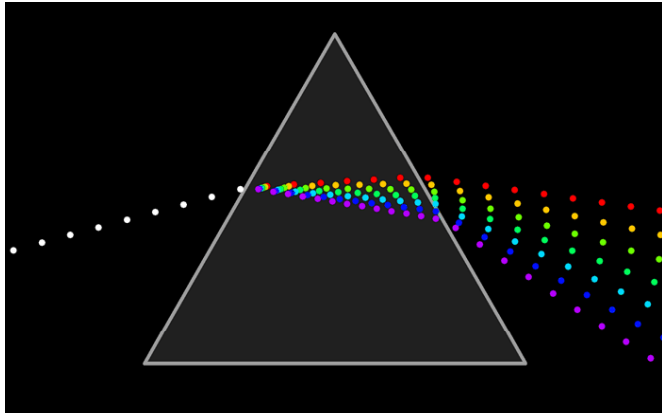


光（電磁波）センシング

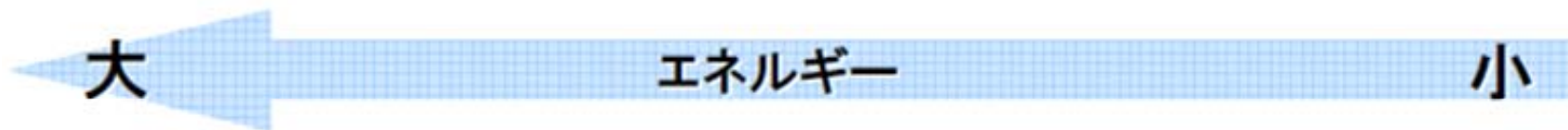
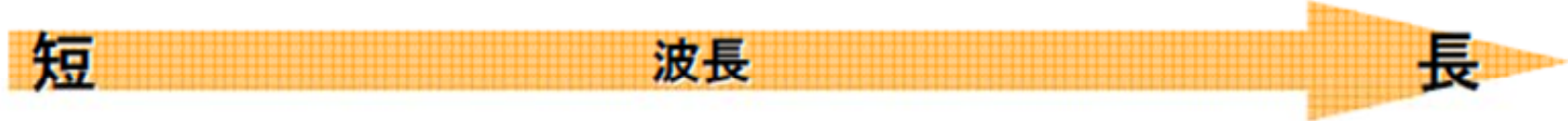
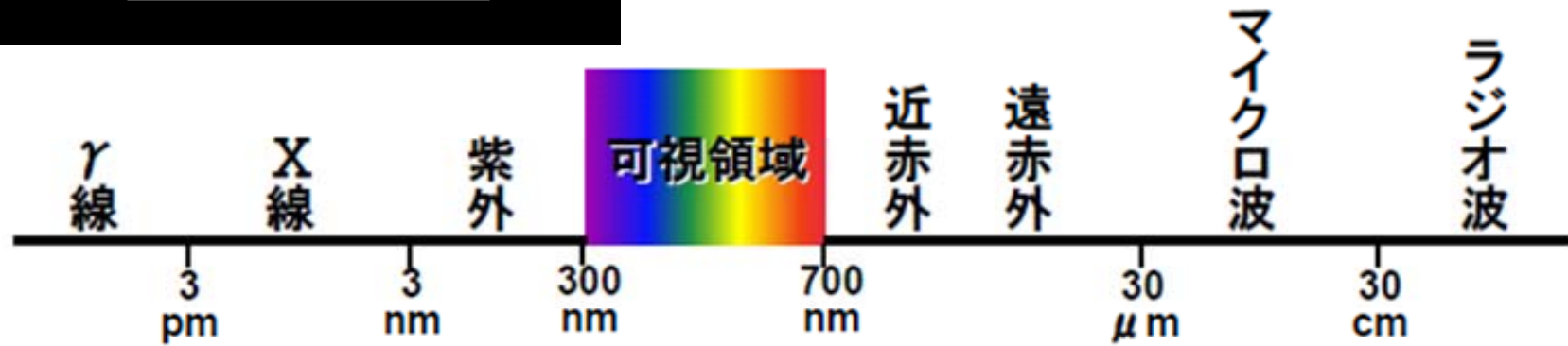
本日の発表

- はじめに
 - センシング対象とするマクロ生物情報
 - マクロ生物情報の光センシング
- 光センシング
 - 光センシングの特徴
 - マルチバンドセンシング例
- 赤外分光センシング
 - 糖類の赤外分光特性
 - 代謝関連情報のセンシング例
 - コメの赤外分光特性
- おわりに

光の種類と波長



$$E = h\nu = h\frac{c}{\lambda}$$



分光分析と分離分析

- 分離分析
 - クロマトグラフィーや電気泳動に代表される
 - 混合物を単一化学種に分画することが重要
- 分光分析
 - 混合物のままスペクトルを測定

↓

その**スペクトル情報**だけを分離

↓

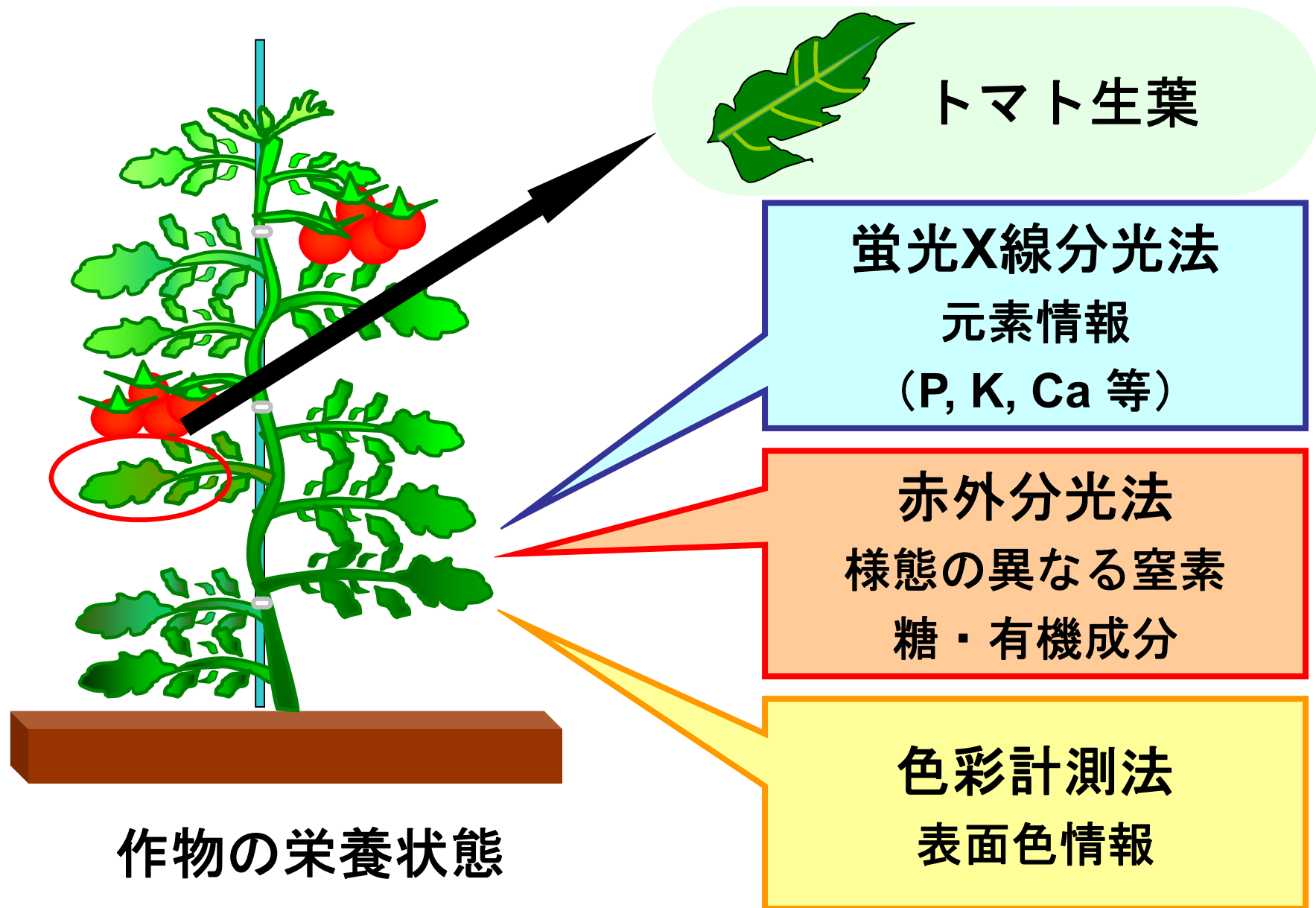
定量

主な光(分光)センシング手法

波
長

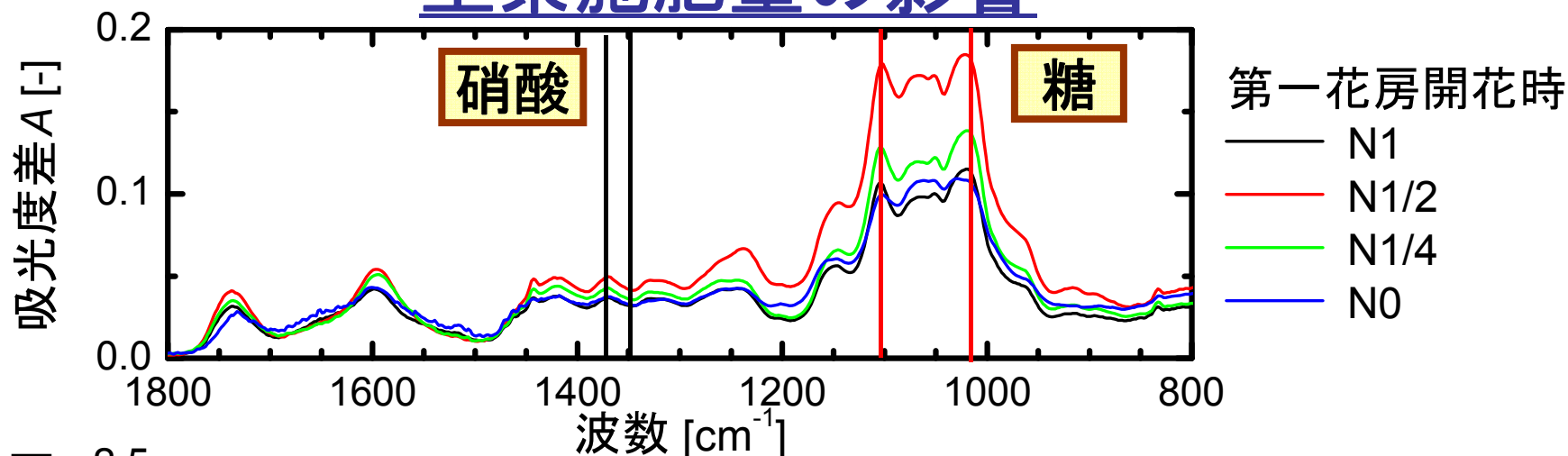
1. X線
蛍光X線分光計測
→ 葉など → K・Ca・P・Mg・Fe・Zn・Cu・S などの同時計測
2. 紫外線(UV)
蛍光分光計測 → 葉, 樹体など → 糖類, 色素, 有機酸など
3. 可視光(VIS)
分光計測, 色彩計測, 形状計測
→ 葉, 果実, 樹体など → 色素, 形状, 樹勢など
4. 近赤外線(NIR)
分光計測(拡散反射法, 透過法) → 果実など → 水分量, 糖度など
5. 中赤外線(MIR)
分光計測(ATR 法など) → 葉, 果実など
→ 糖類, タンパク質, 様態の異なる窒素など
6. テラヘルツ波(THz)
新しい計測手法(分光計測, イメージング) → 未開拓領域

トマト葉のマルチバンドセンシング

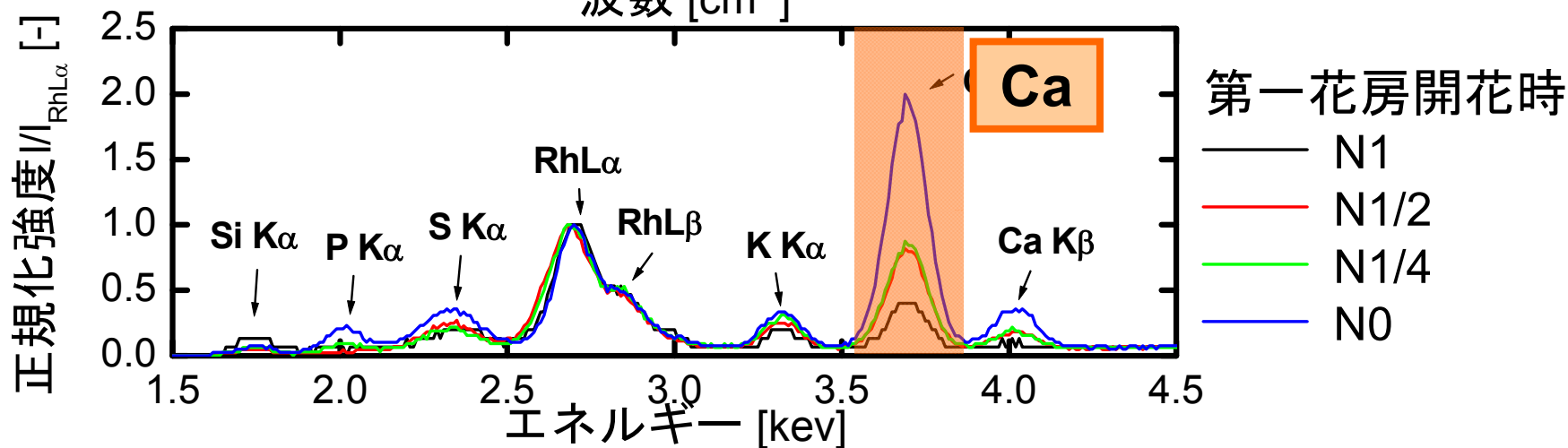


トマト葉の光センシング情報に及ぼす窒素施肥量の影響

赤外分光情報



蛍光X線分光情報



色彩情報

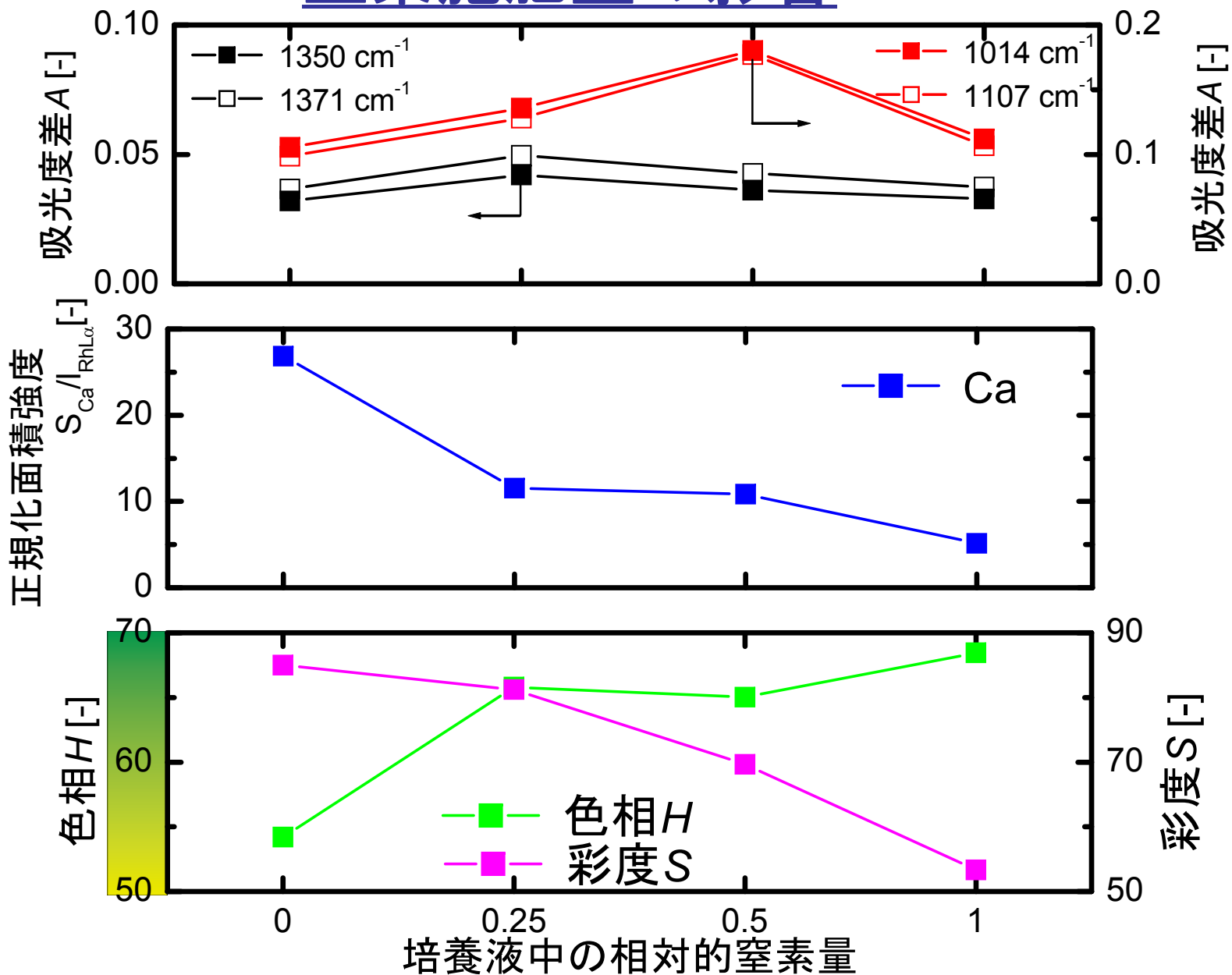
	N0	N1/4	N1/2	N1
第一花房直下本葉				

トマト葉の光センシング情報に及ぼす 窒素施肥量の影響

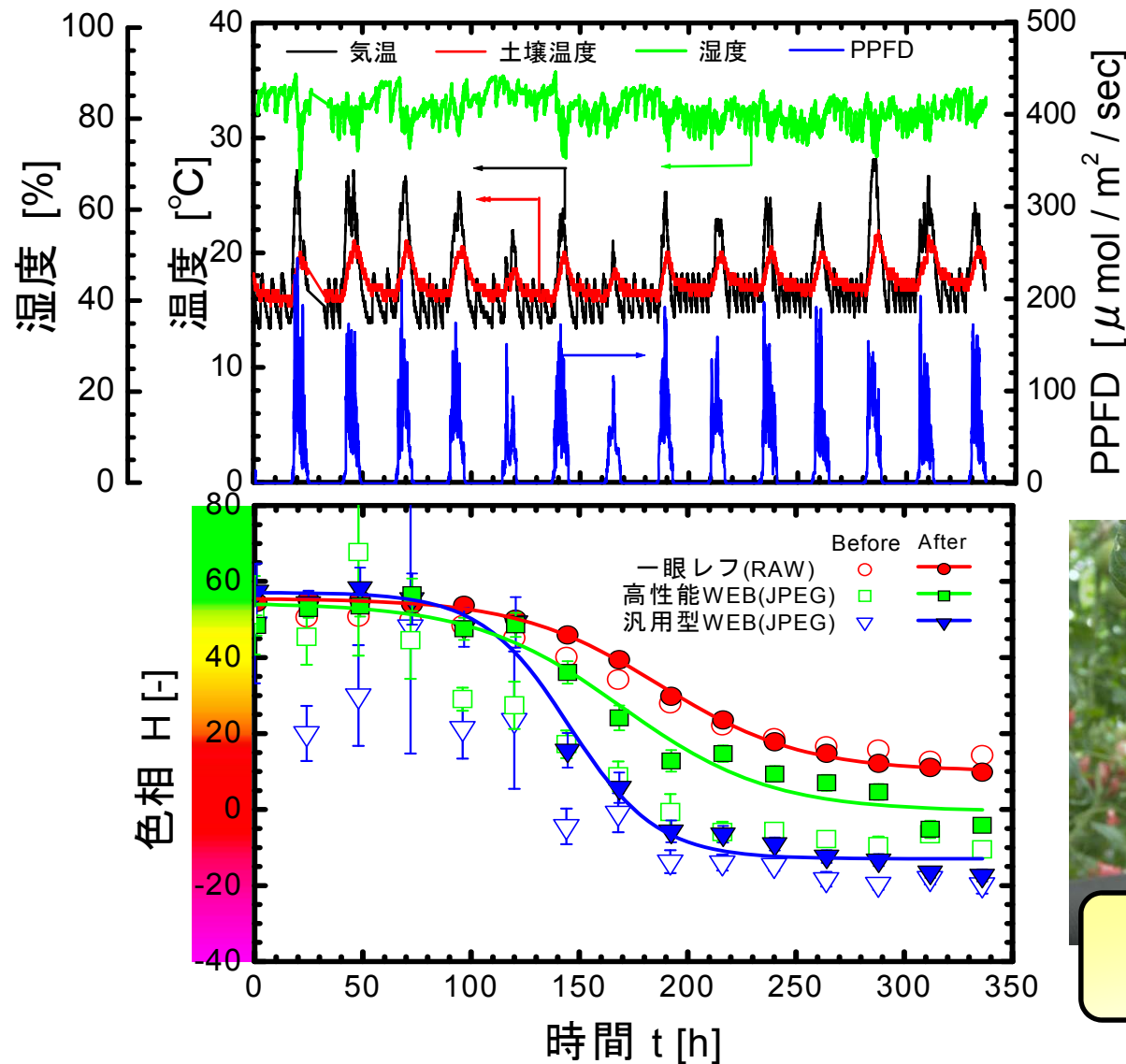
赤外分光情報

蛍光X線分光情報

色彩情報



栽培現場における色彩情報モニタリング



気象情報

色彩情報

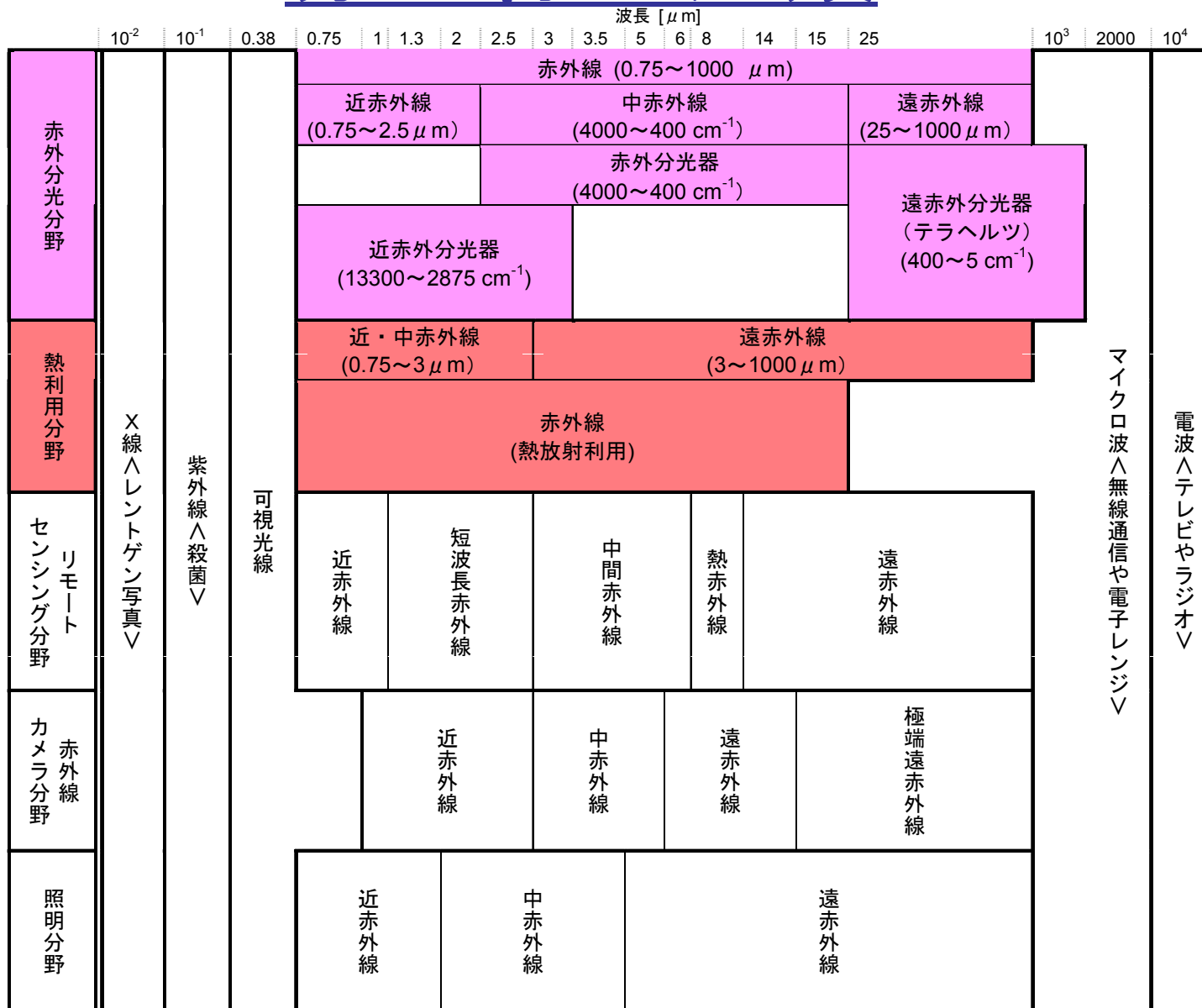


色補正処理後の色彩画像

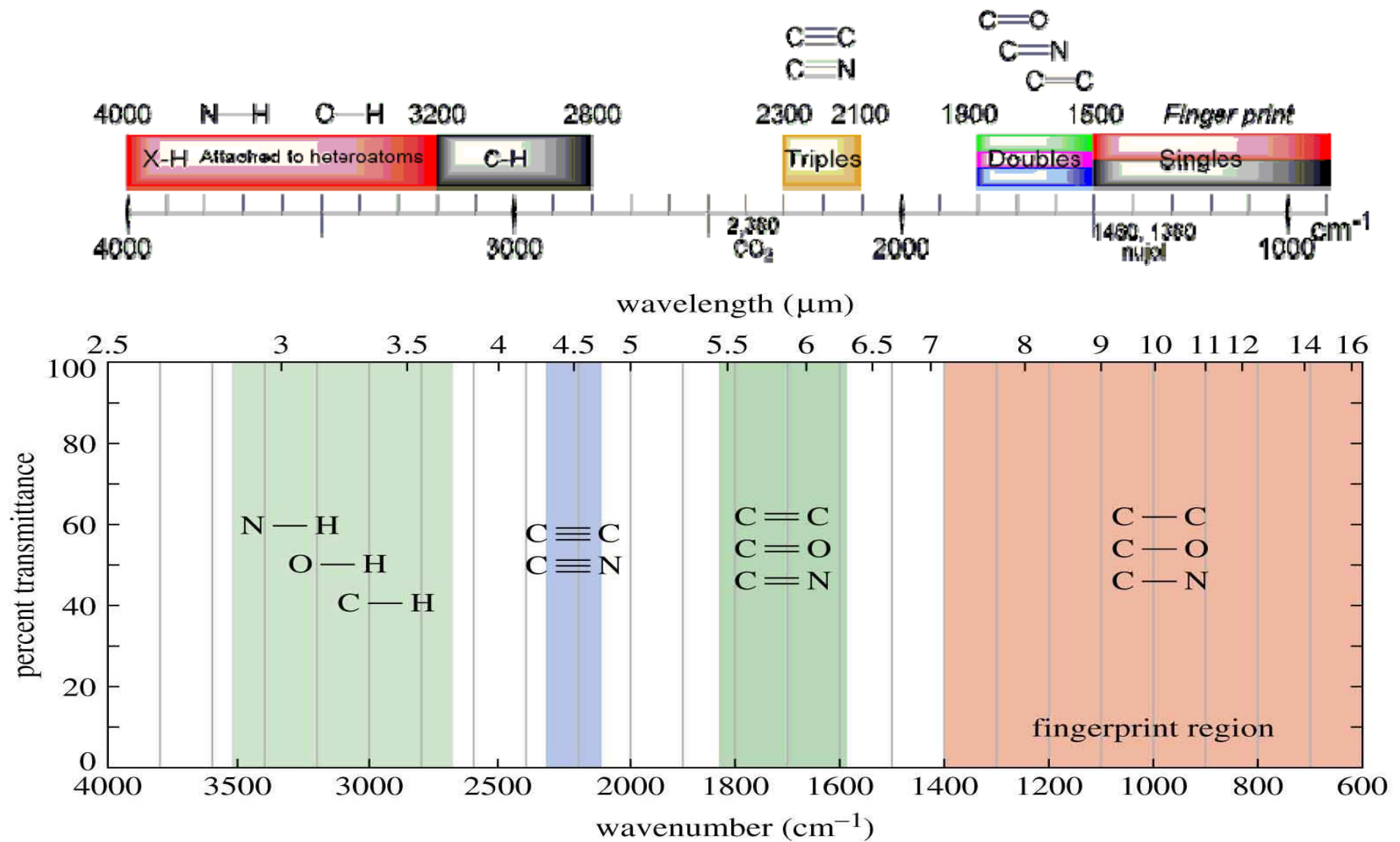
本日の発表

- はじめに
 - センシング対象とするマクロ生物情報
 - マクロ生物情報の光センシング
- 光センシング
 - 光センシングの特徴
 - マルチバンドセンシング例
- 赤外分光センシング
 - 糖類の赤外分光特性
 - 代謝関連情報のセンシング例
 - コメの赤外分光特性
- おわりに

赤外線の種類



赤外吸収のまとめ



赤外線利用に関する研究

基礎

- ・水の赤外分光特性
構造, 温度, イオン強度 etc
+
- ・糖類の赤外分光解析
単糖類 → 二糖類 → オリゴ糖 → 多糖類
- ・アミノ酸の赤外分光解析
アミノ酸 → タンパク質
- ・イオン解離性代謝物質の赤外分光解析
+
- ・赤外分光特性に及ぼす
幾何学的構造の影響

↓
代謝物質の生体内における機能
動的代謝挙動の理解

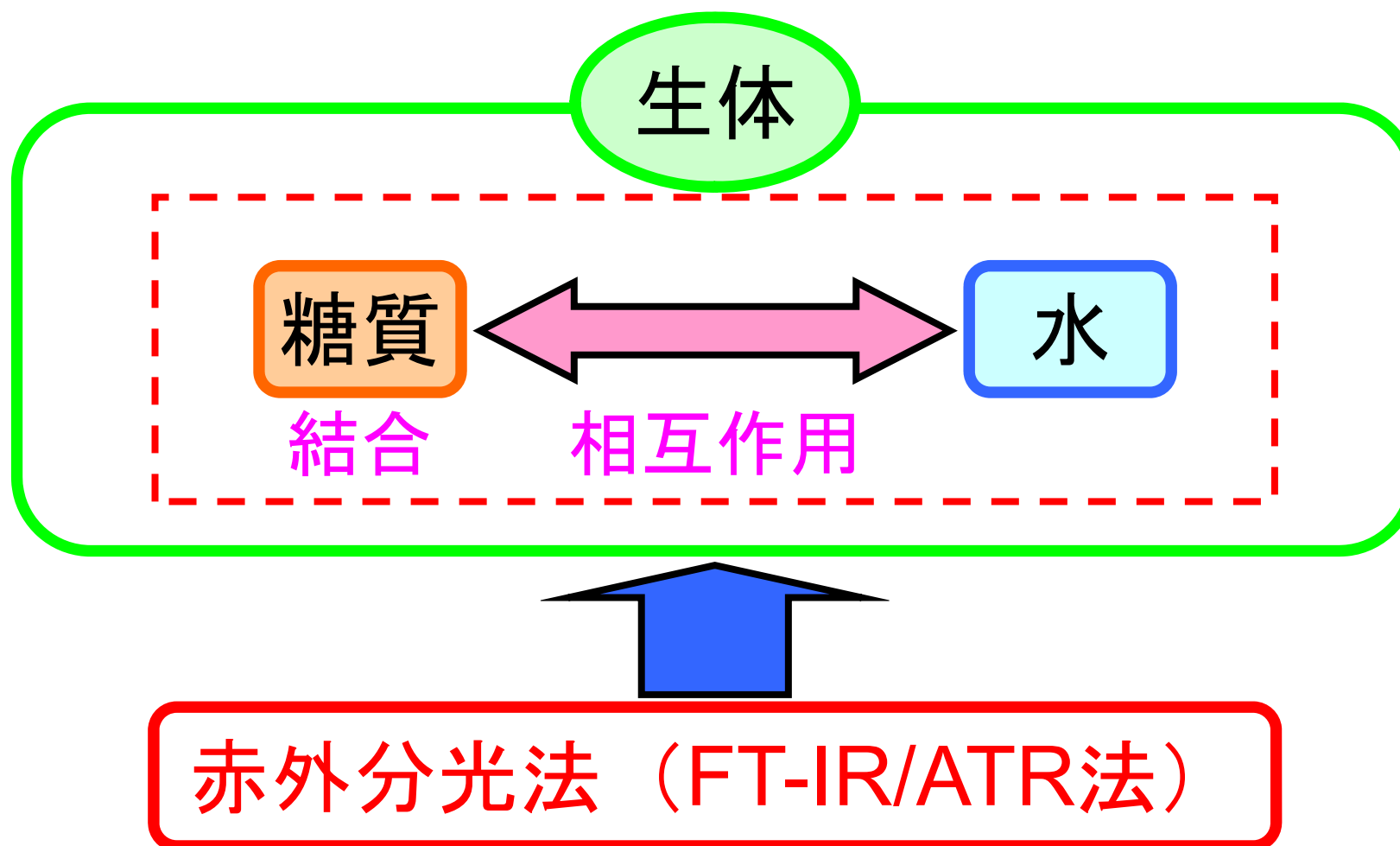
応用

- ・発酵過程のモニタリング
- ・酵素反応モニタリング
- ・食味に関する計測
- ・食品・農産物の成分計測
- ・樹体の栄養状態計測
(様態の異なる窒素の定量)
- ・食品・農産物の加熱
- ・赤外線乾燥
- ・赤外線照射殺菌

THz 分光分析

近赤外分光分析への展開

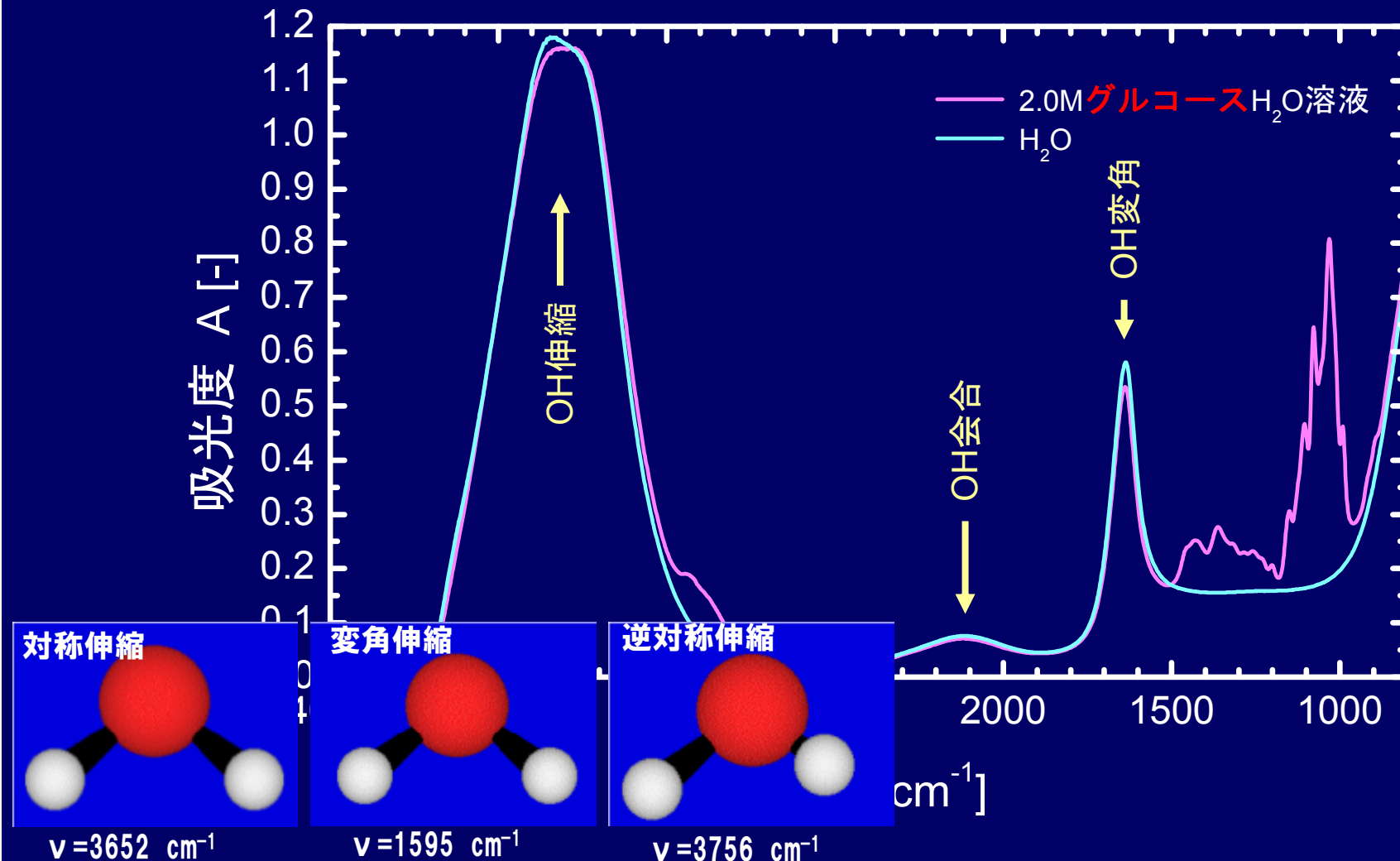
生体内における糖



- 官能基の基準振動が現れる

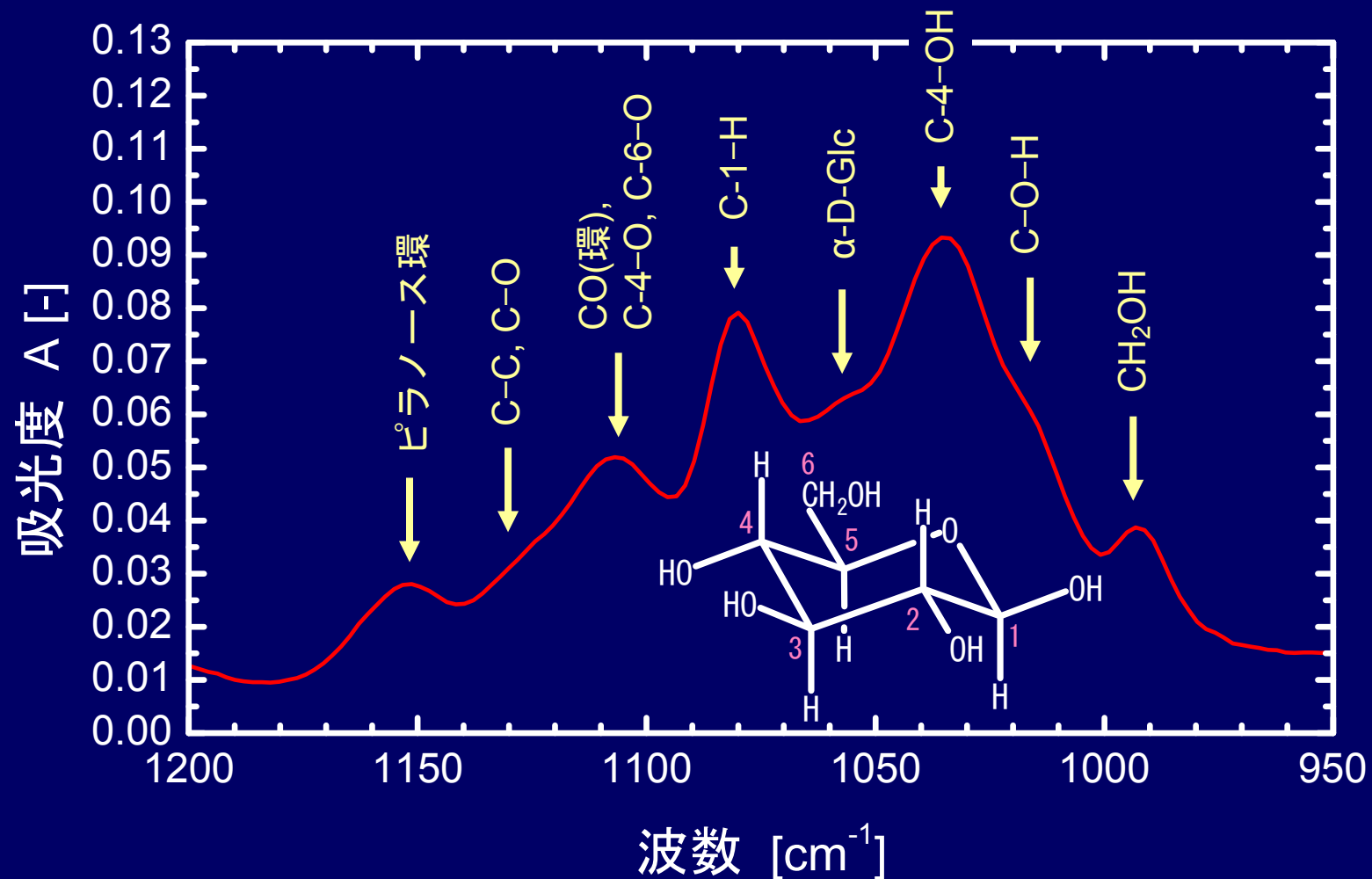
単糖類の赤外分光特性

H₂O溶液中のグルコーススペクトルの抽出



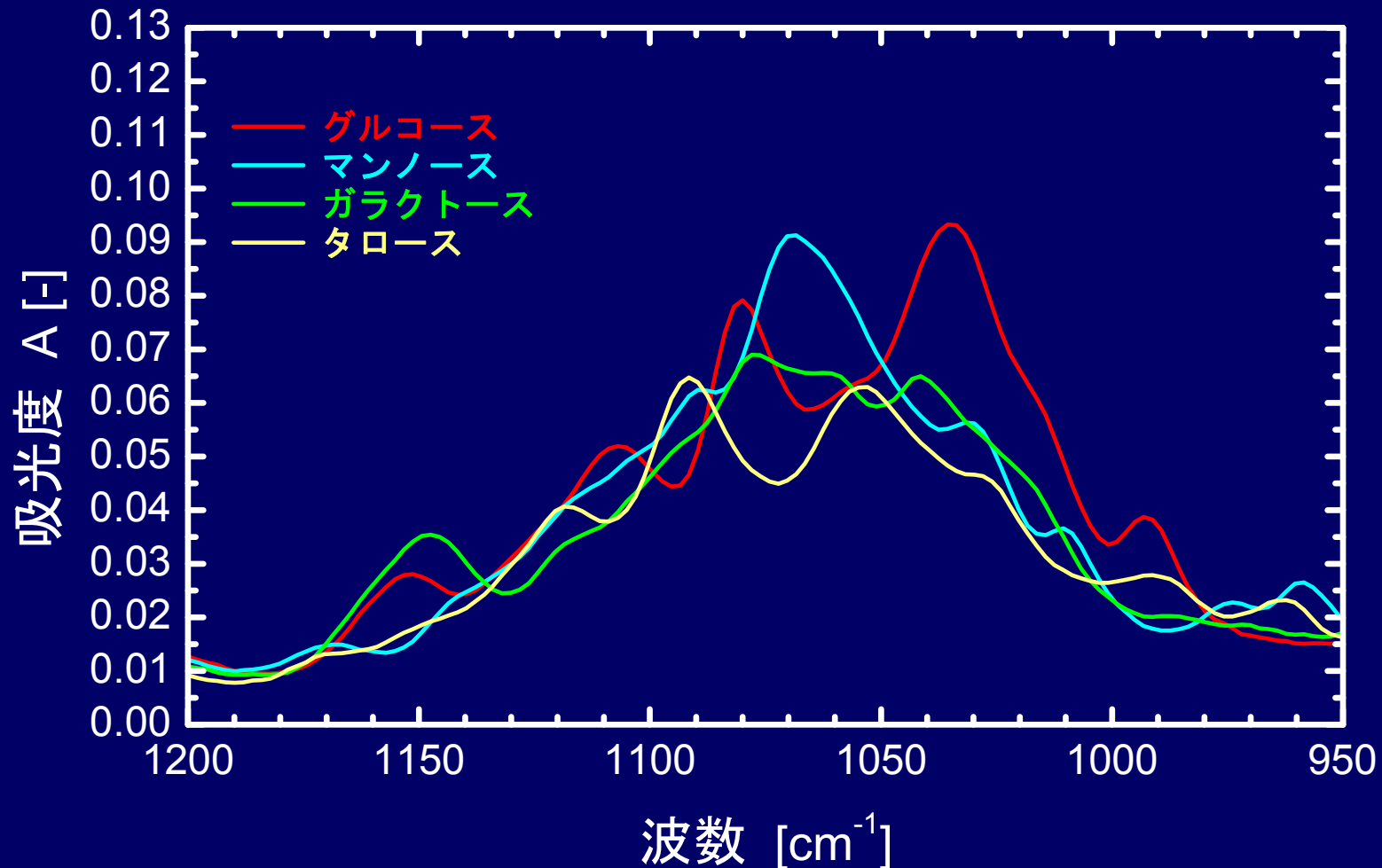
単糖類の赤外分光特性

H₂O溶液中のグルコーススペクトルの抽出



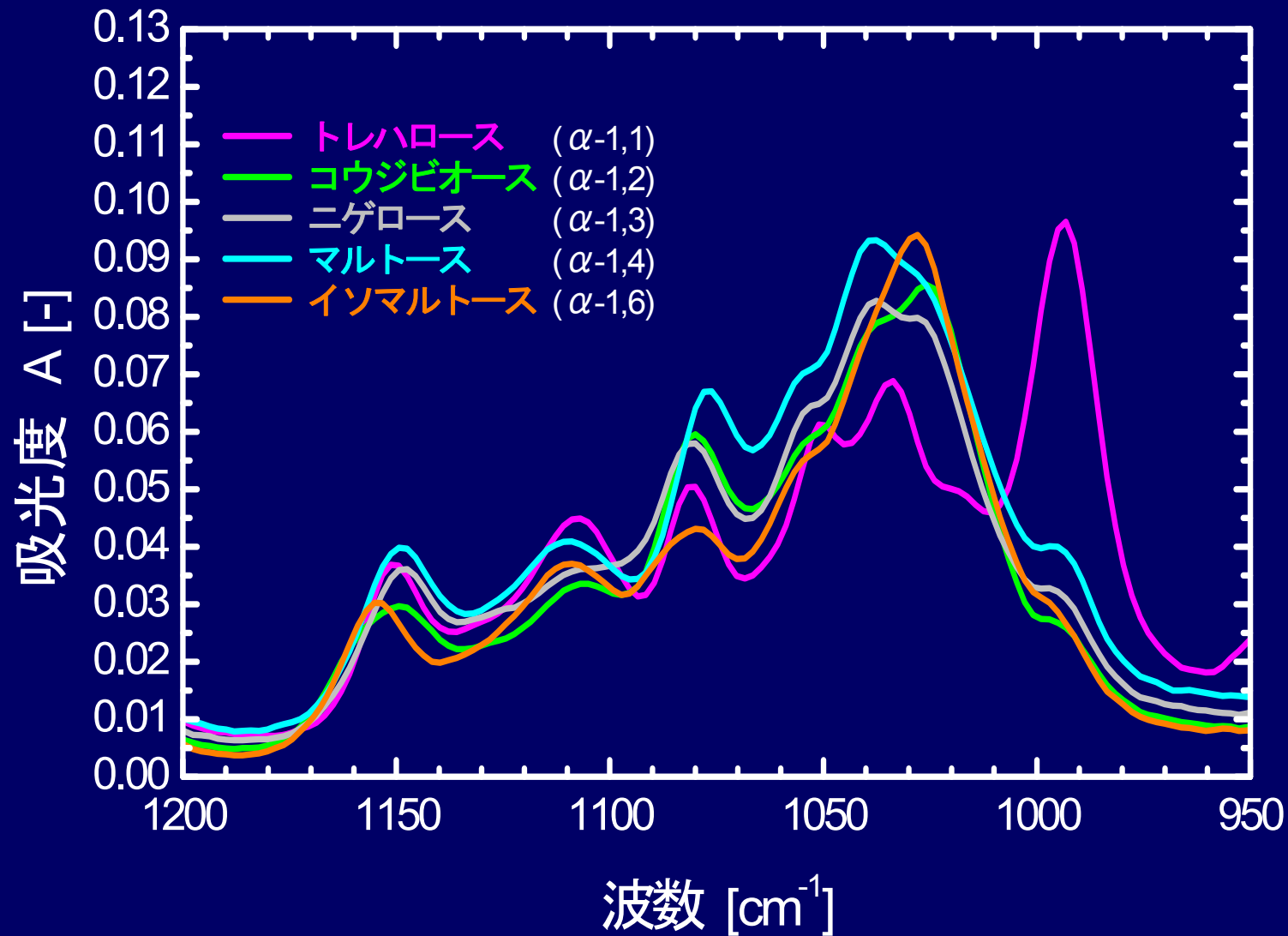
単糖類の赤外分光特性

0.30MのH₂O溶液中の単糖類スペクトル

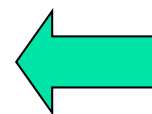
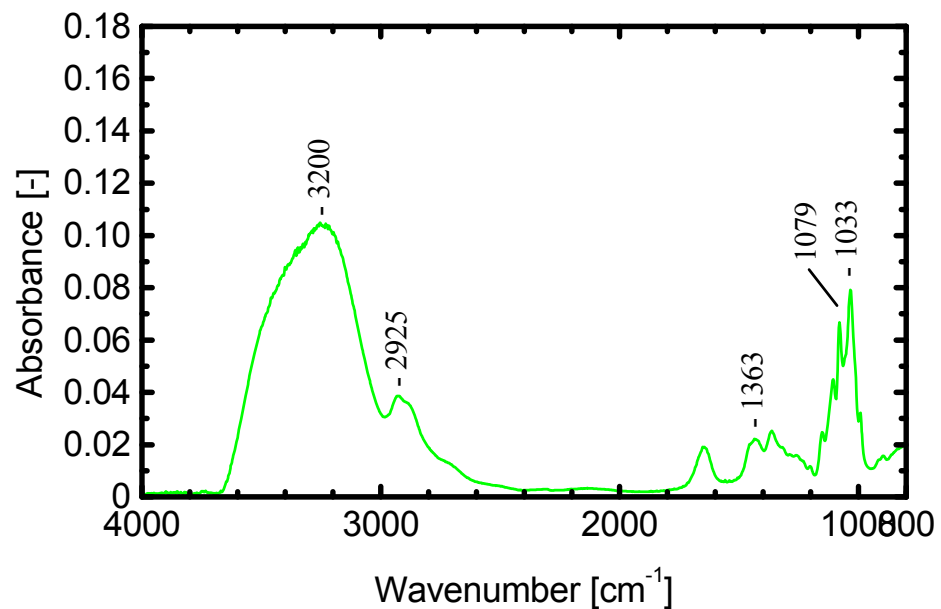


二糖類の赤外分光特性

(D-グルコース 2分子が結合)

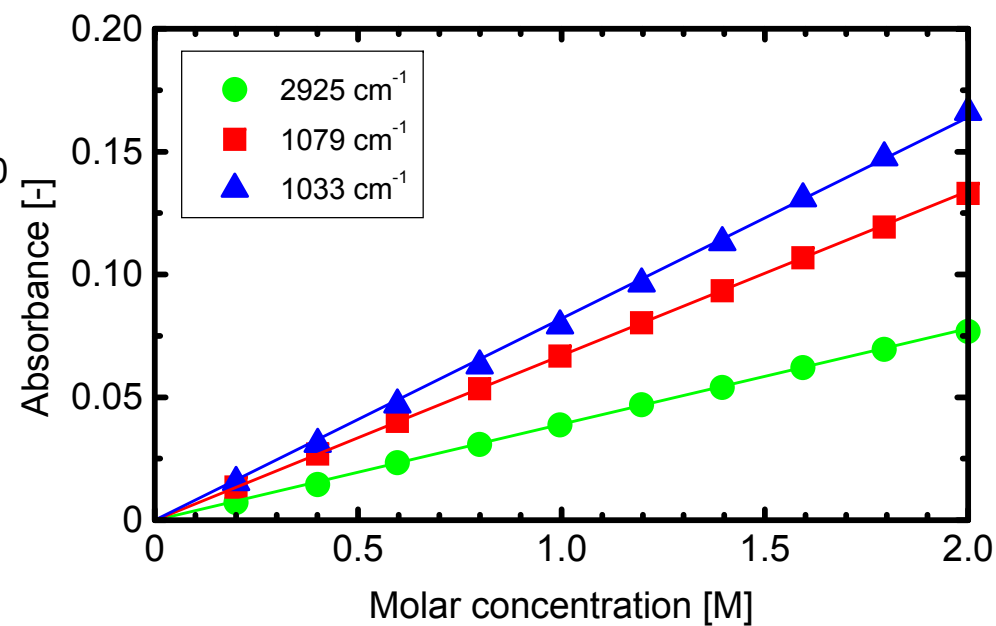
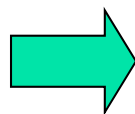


グルコース水溶液の赤外分光特性

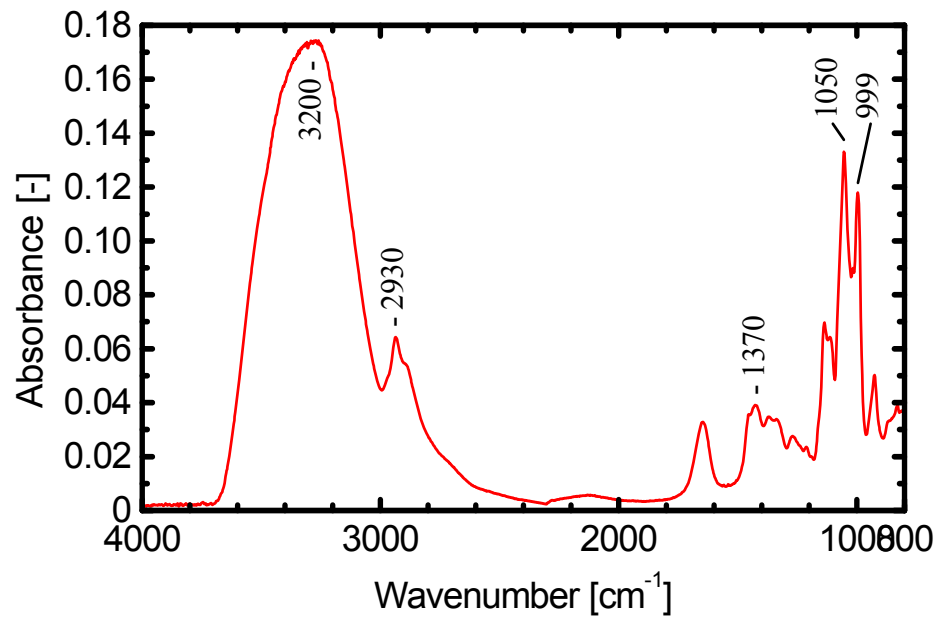


吸光度スペクトル

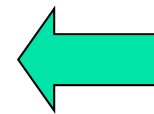
検量線



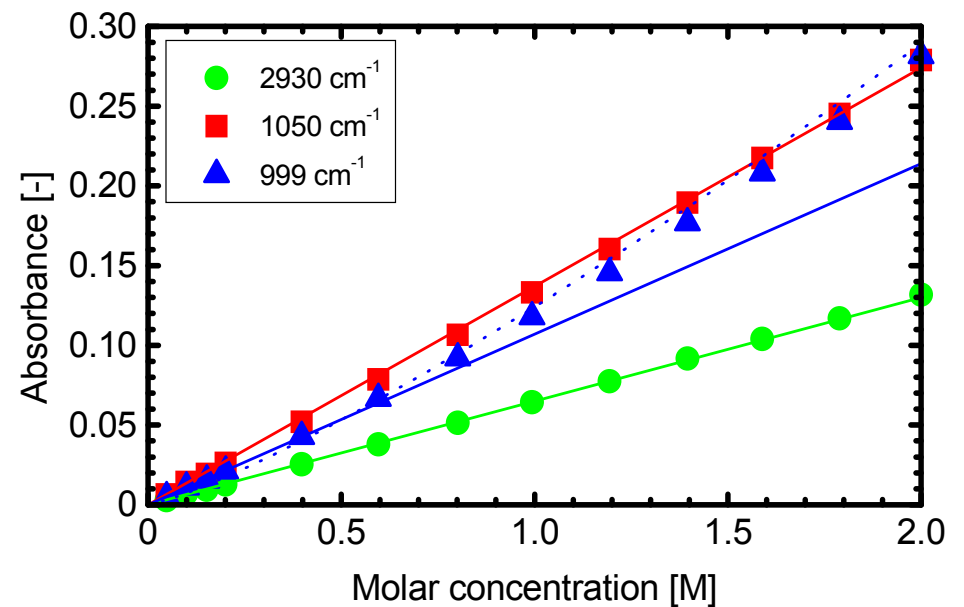
スクロース水溶液の赤外分光特性



検量線



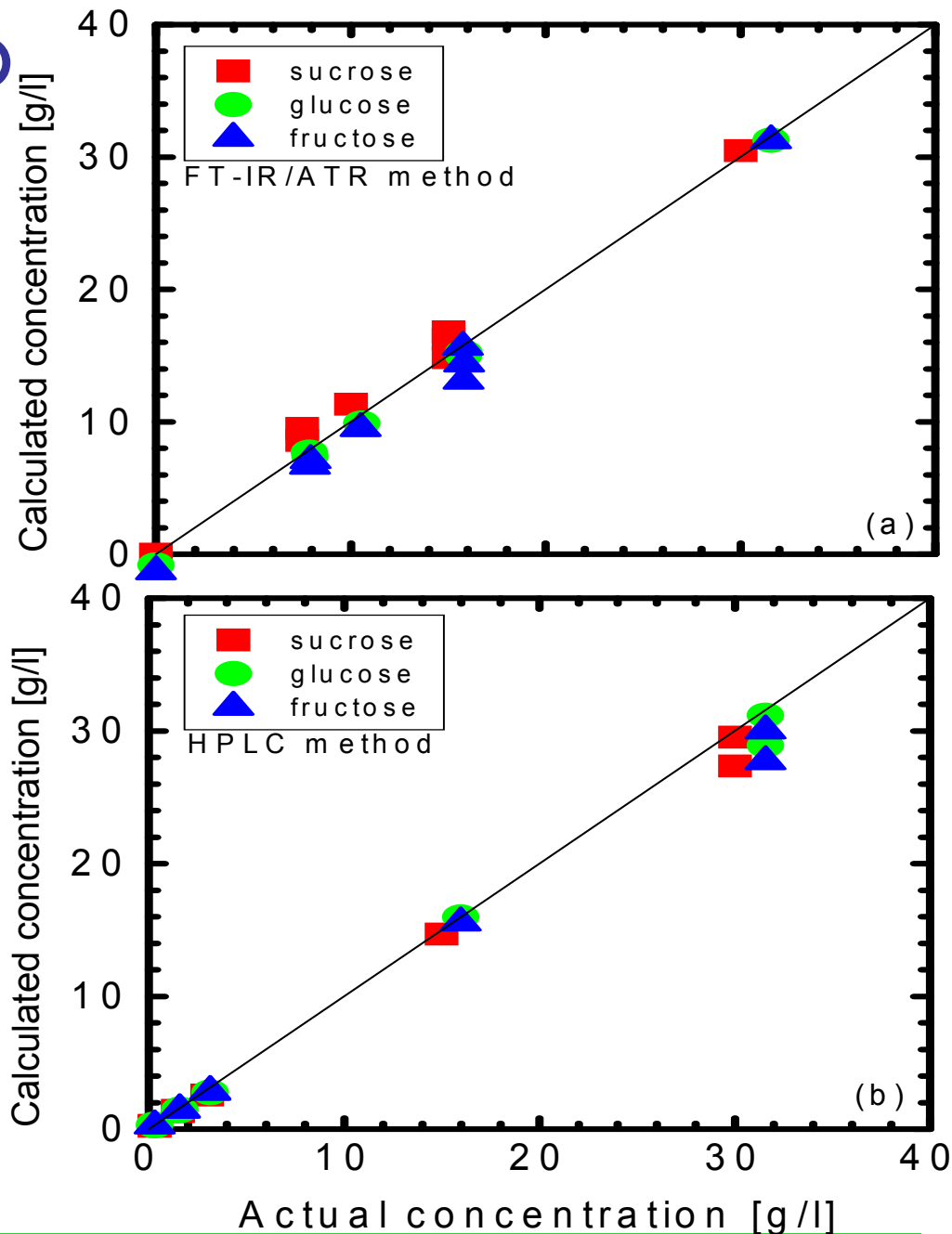
吸光度スペクトル



赤外分光法とHPLC法の 定量結果の比較

赤外分光法
(分光分析)

HPLC(液クロ)法
(分離分析)



FT-IR/ATR法とHPLC法の比較

(植物細胞溶培養用培地の例)

0 day

3 days

5 days

7 days

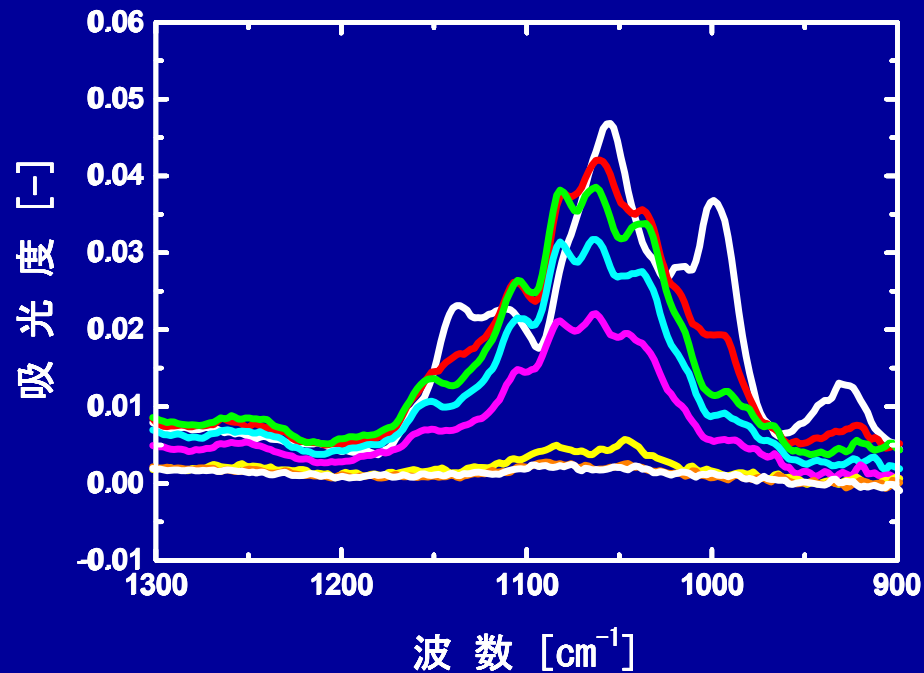
9 days

14 days

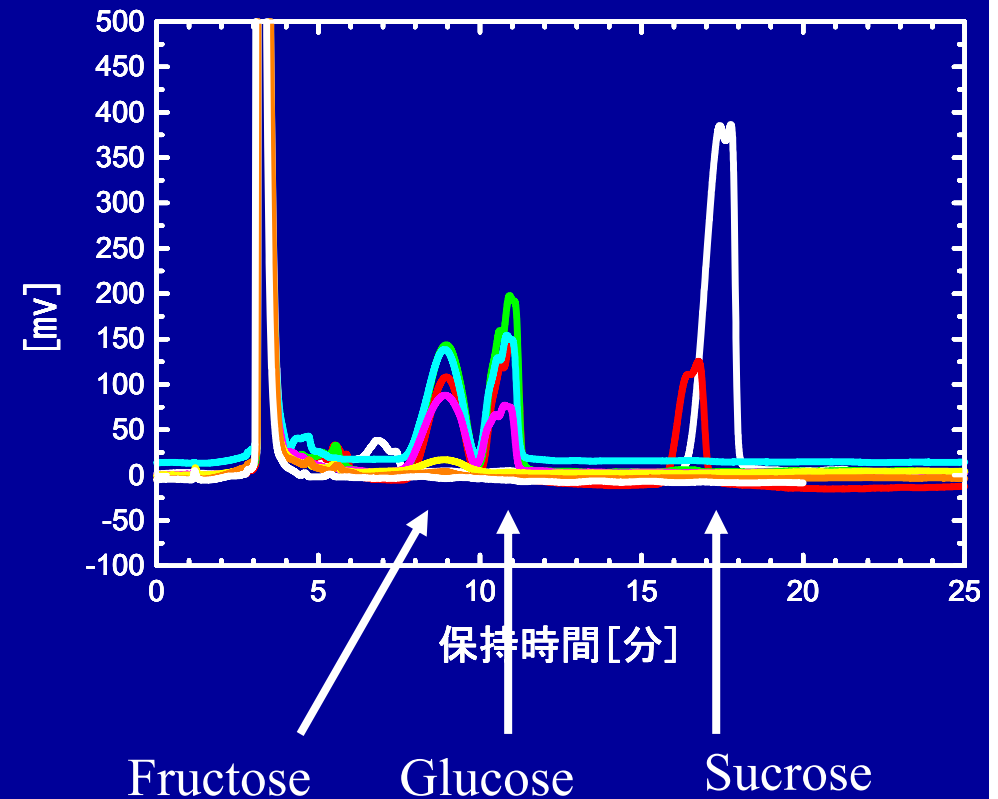
16 days

21 days

Spectral change

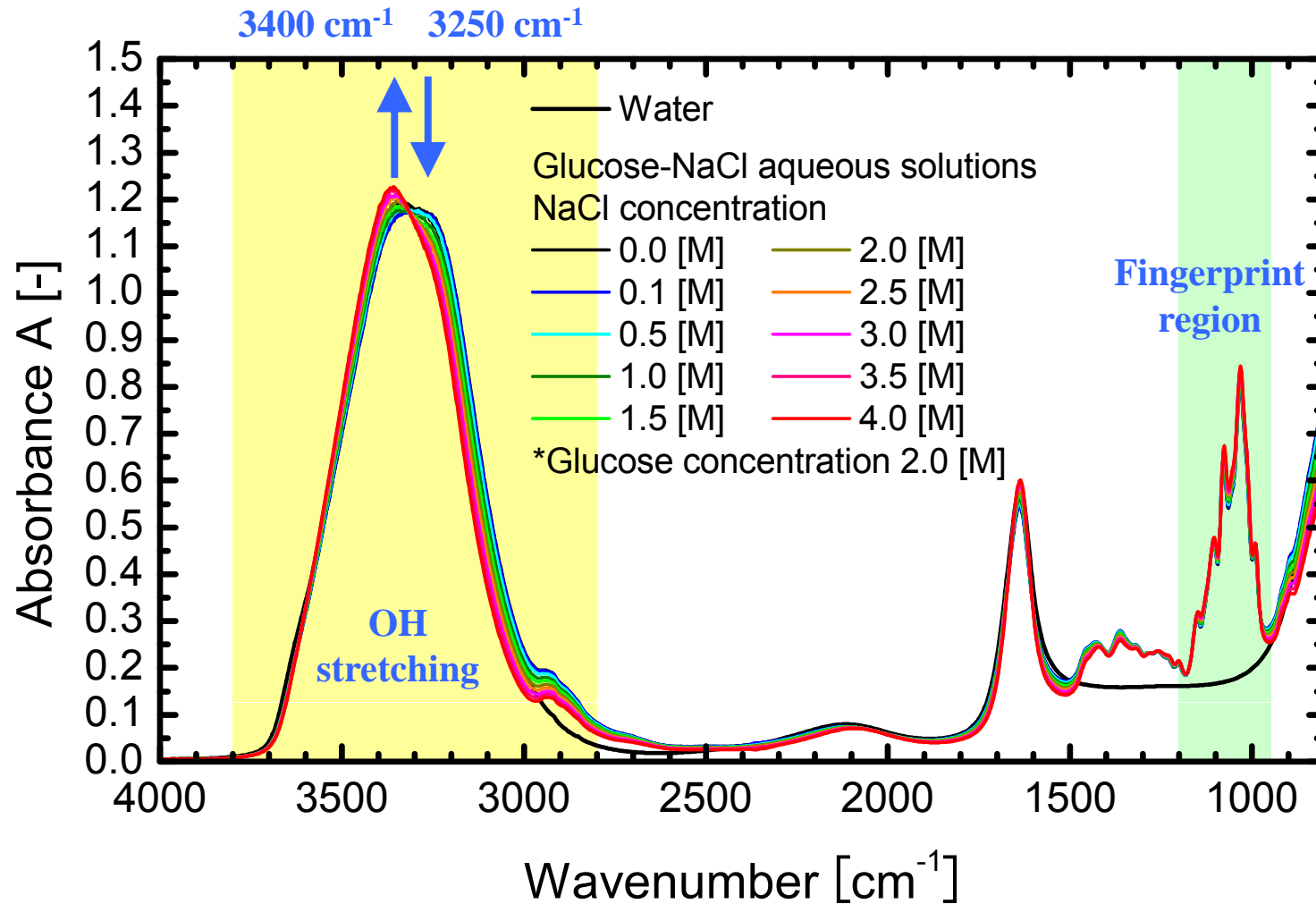


Chromatogram change



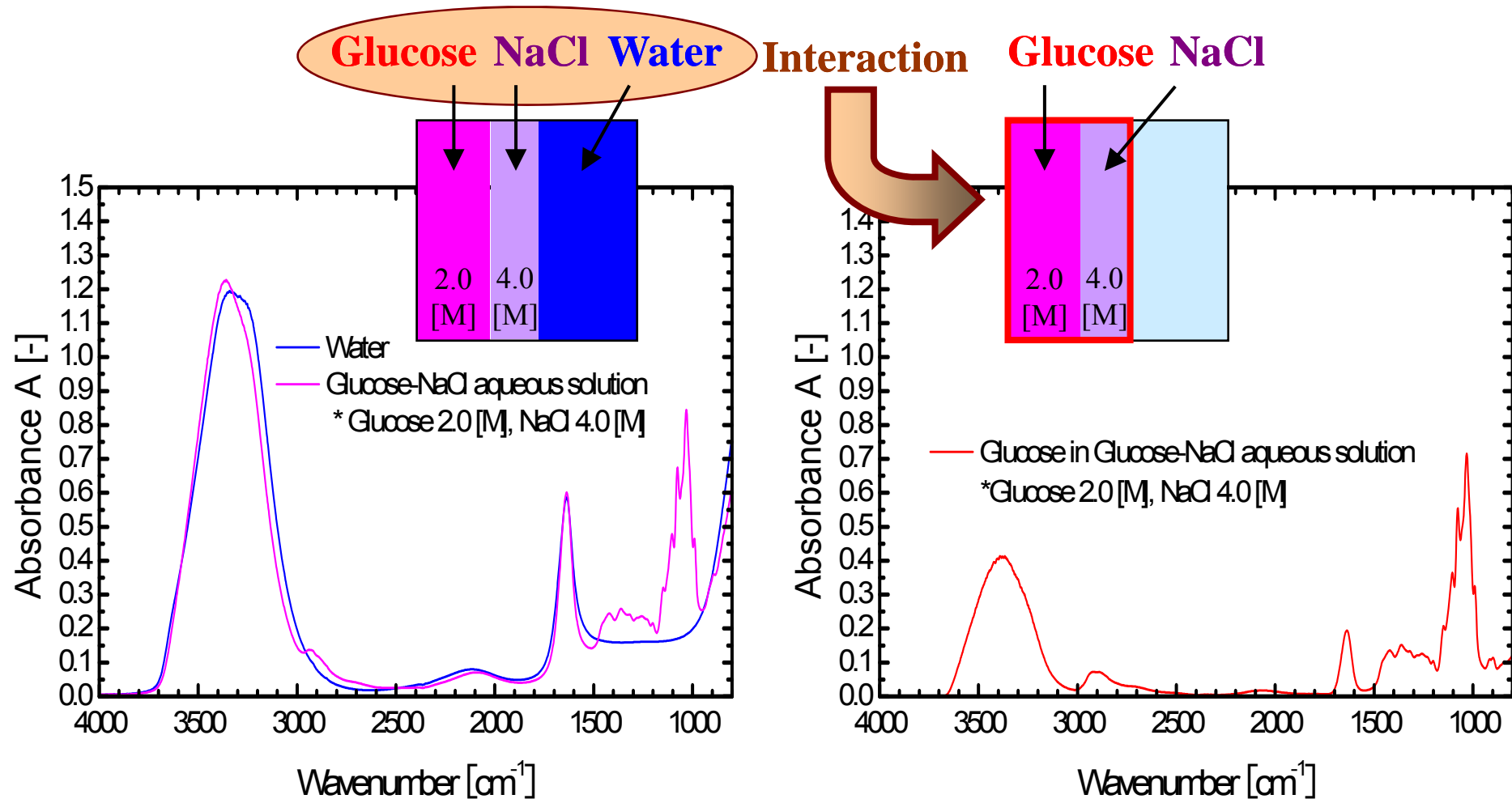
Spectra of water and aqueous solutions

 Influence of **NaCl** concentration on **Glucose-NaCl** aqueous solutions



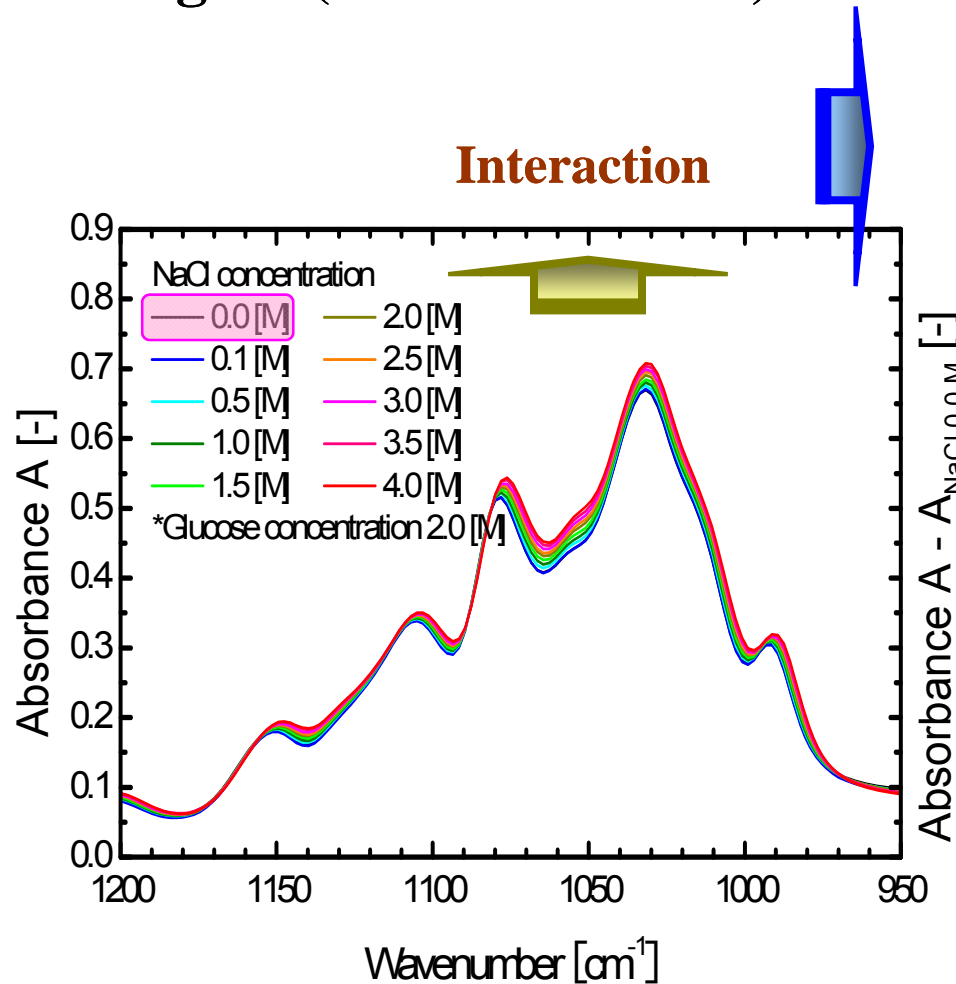
Extracted spectrum of glucose in aqueous solution


 Subtracted spectrum of water multiplied by a factor calculated using the density of water and the molar concentration of solution



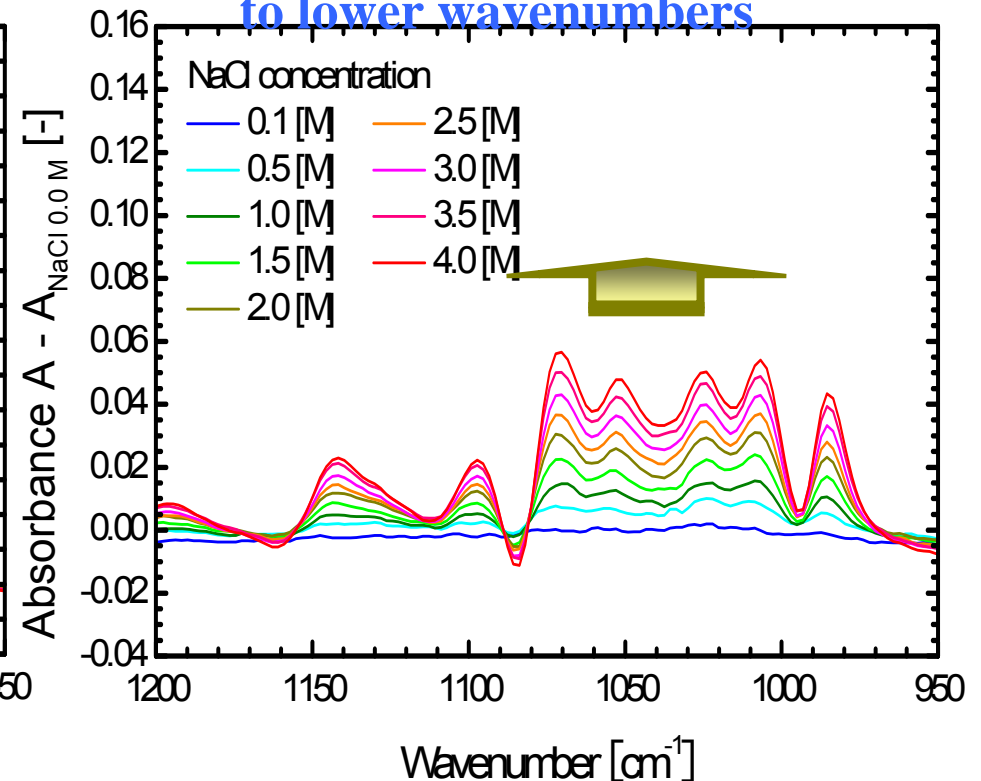
Spectra of glucose in aqueous solutions with NaCl

 Spectra in fingerprint region (1200 – 950 cm^{-1})



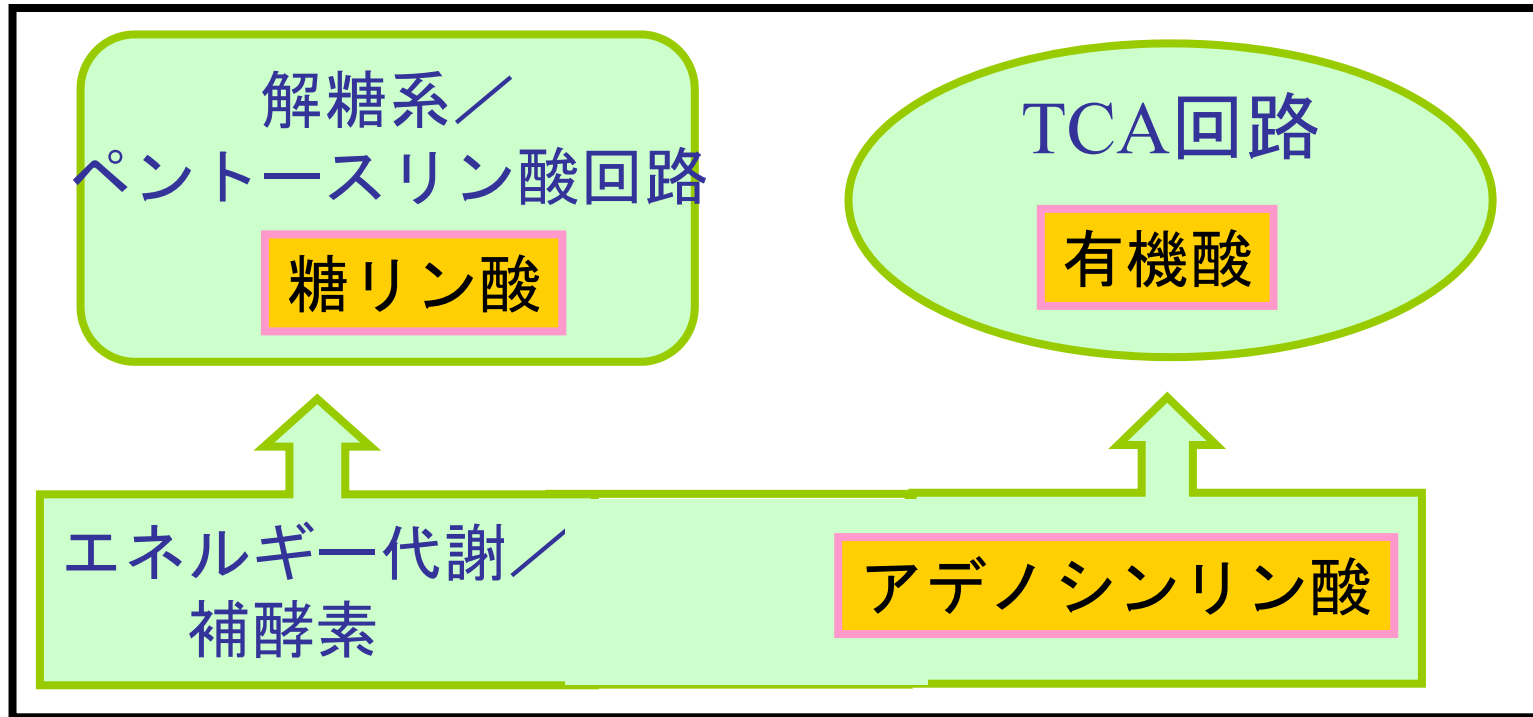
 Influences of NaCl concentration on functional groups of glucose

Absorption bands shifted to lower wavenumbers



代謝系におけるイオン解離性物質

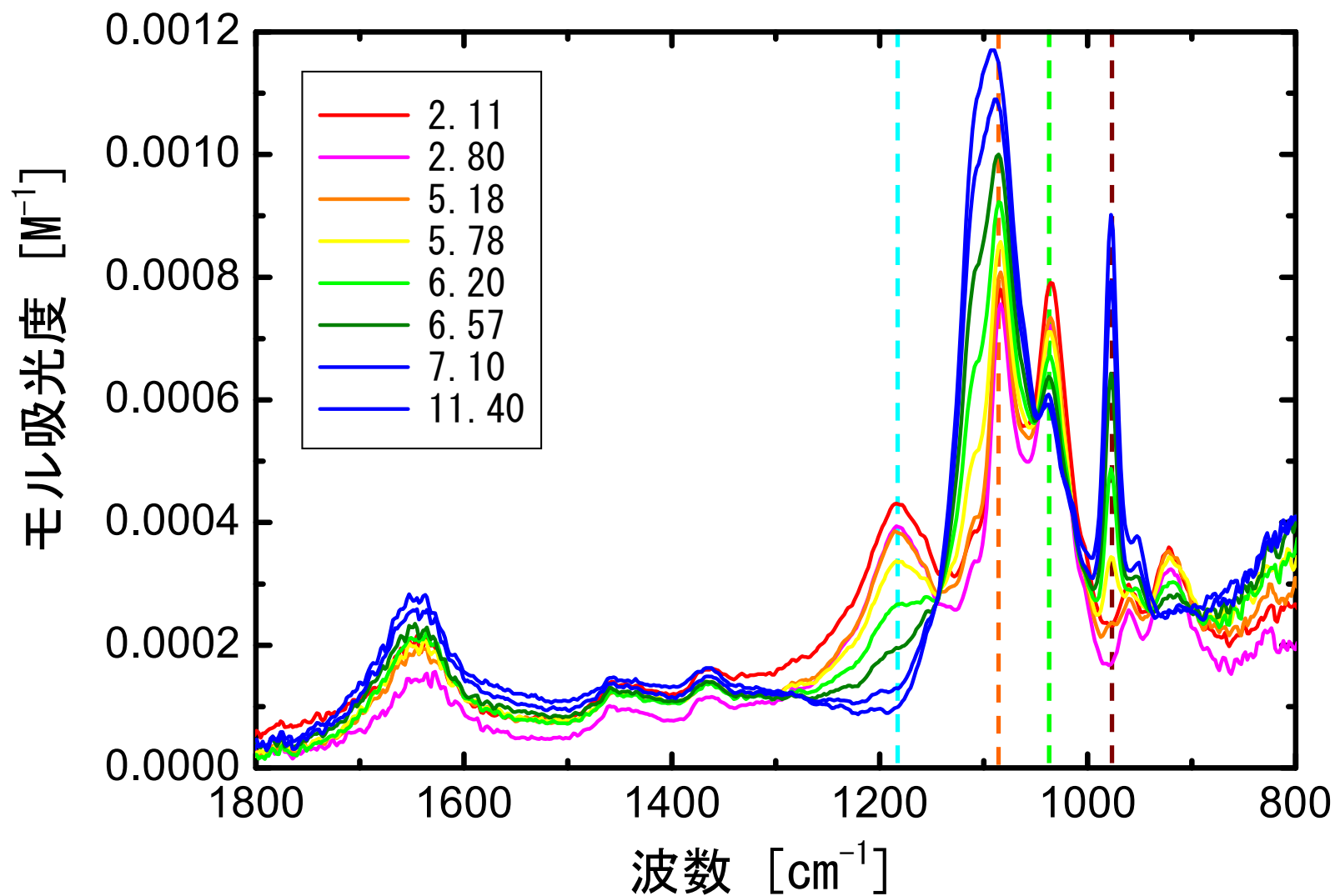
イオン解離性代謝関連物質



中赤外分光計測

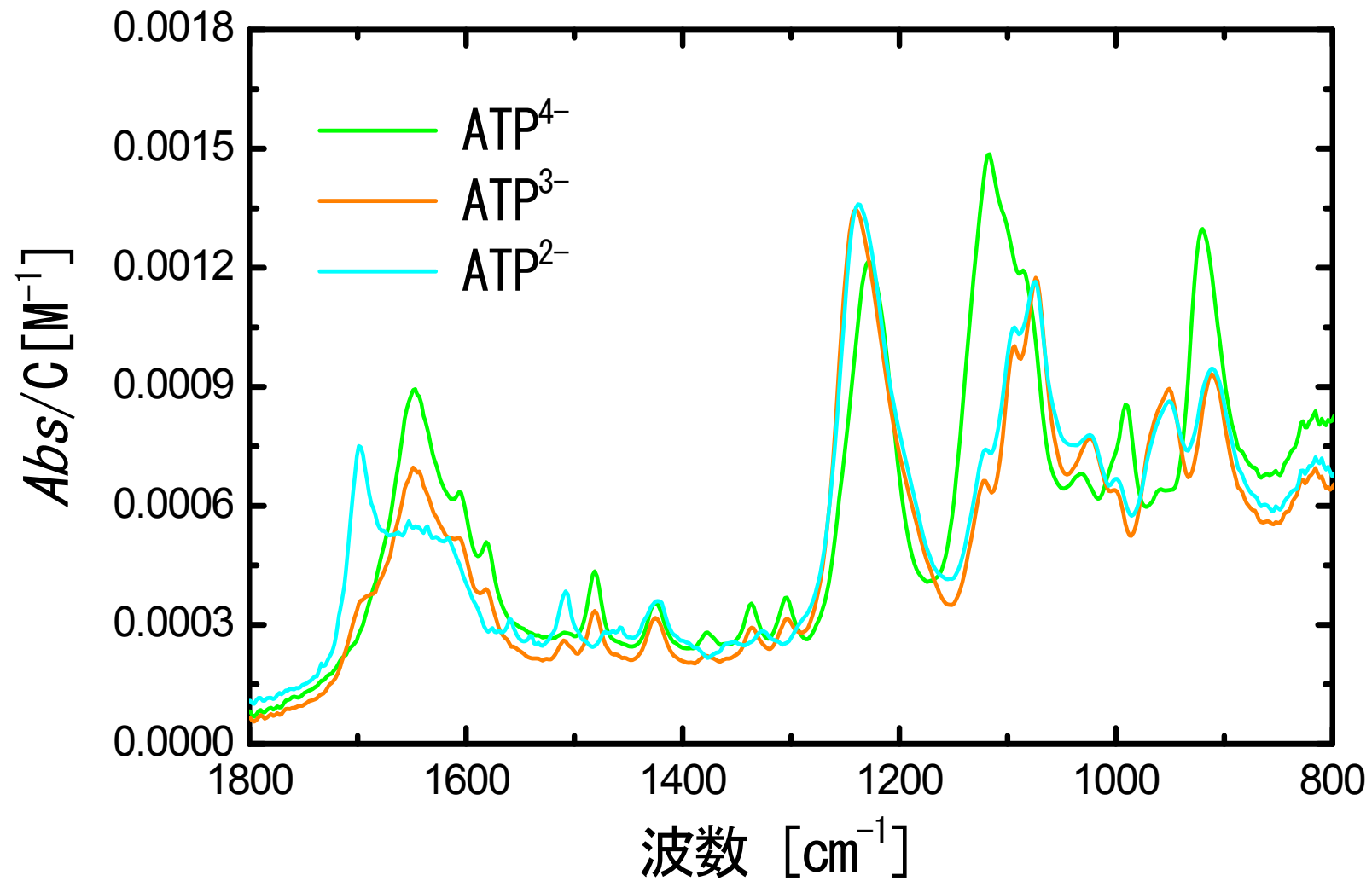
pHの変化に伴ない分光
スペクトルが顕著に変化する

G6Pの吸光度スペクトルのpHによる変化

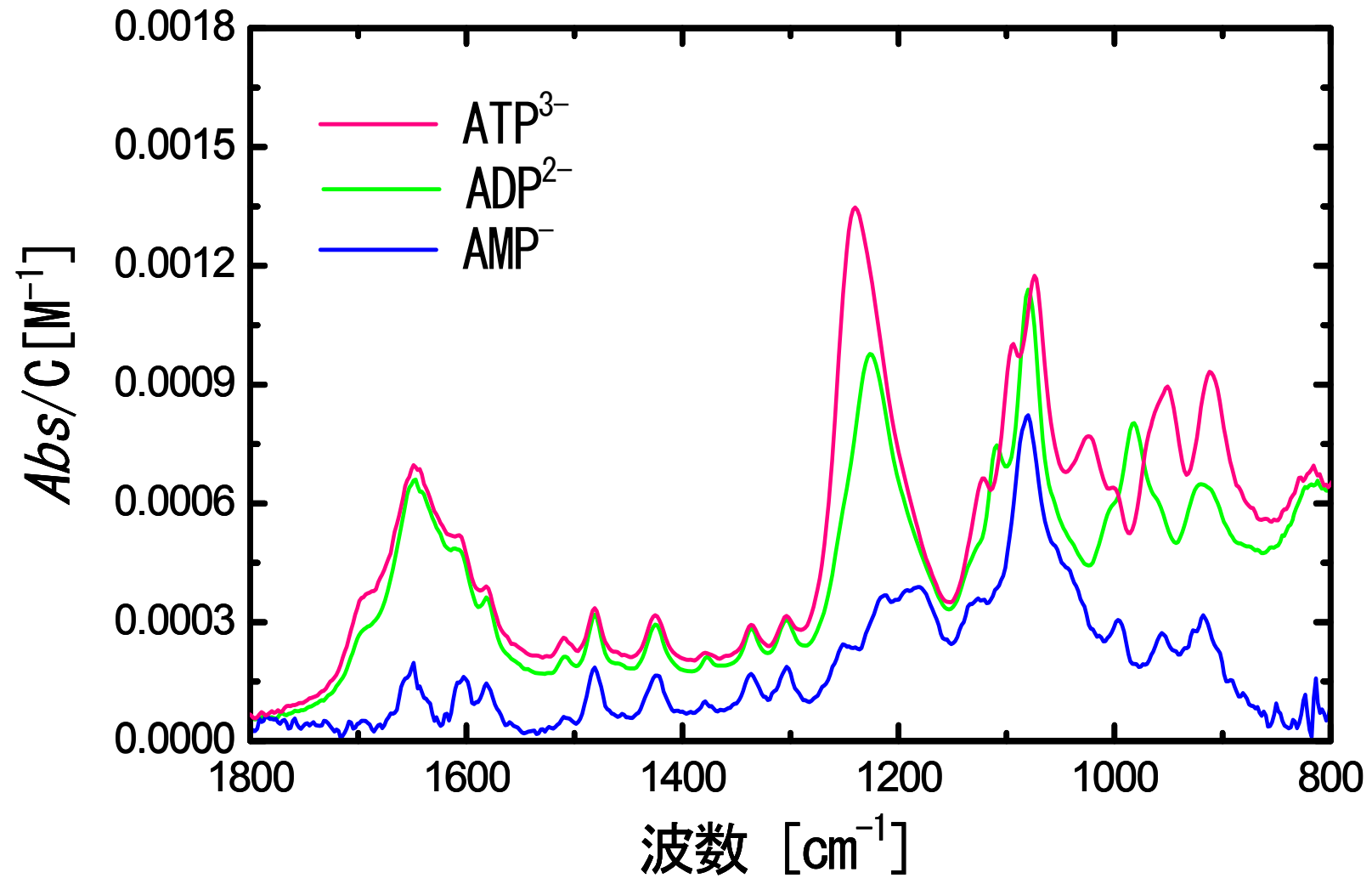


$$Abs(v, \text{pH}) = Abs_0(v)C_0(\text{pH}) + Abs_1(v)C_1(\text{pH}) + Abs_2(v)C_2(\text{pH})$$

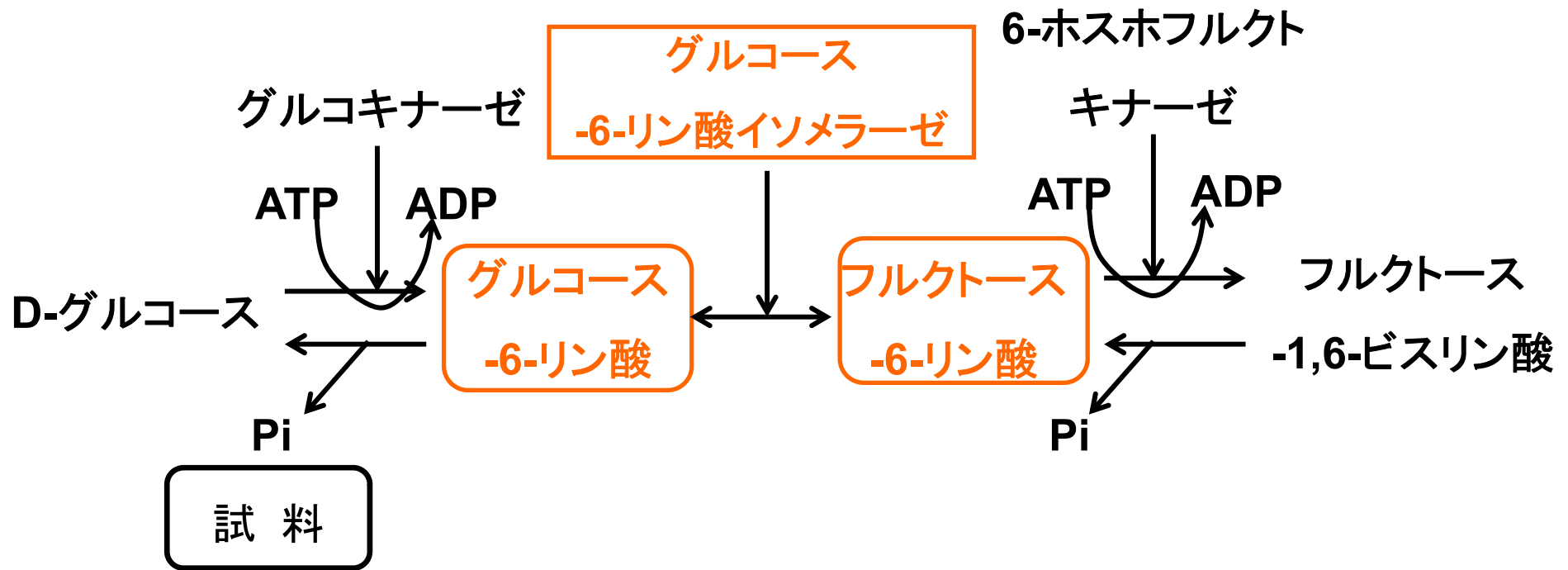
ATPの解離成分スペクトル



ATP, ADP, AMPの離成分スペクトルの比較

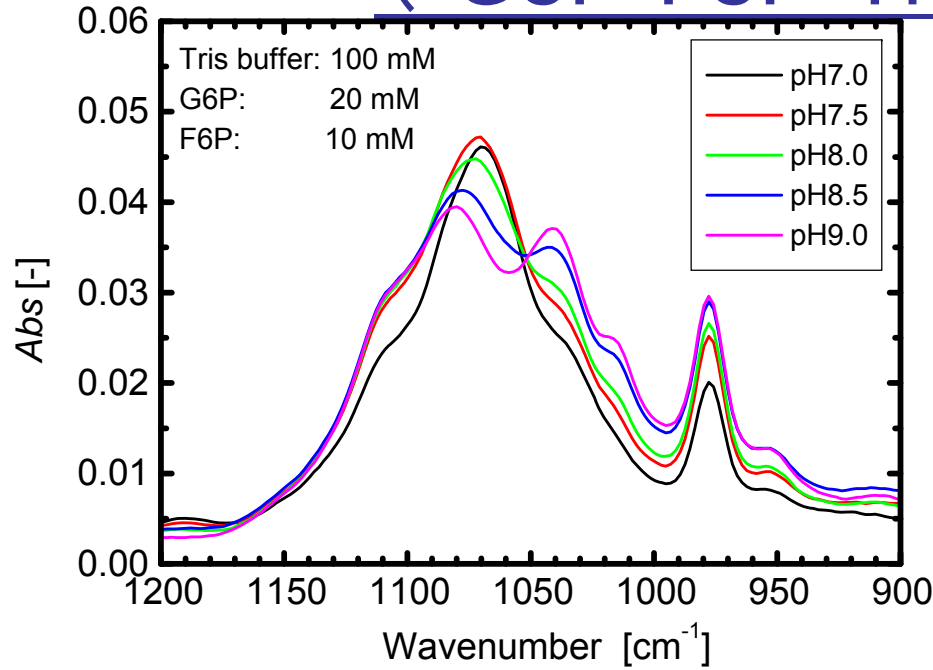


反応系および試料



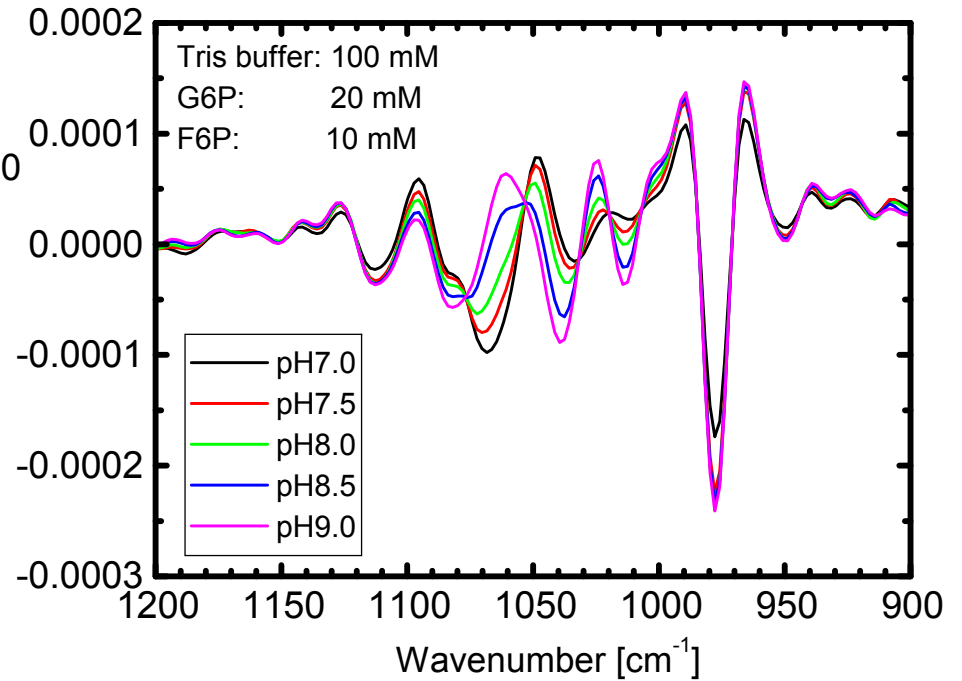
- ◆β-D-グルコース-6-リン酸-ナトリウム (G6P)
- ◆D-フルクトース-6-リン酸-二ナトリウム (F6P)
- ◆グルコース-6-リン酸イソメラーゼ (PGI)

赤外分光スペクトルに及ぼすpHの影響 (G6P-F6P-Tris水溶液中)



← 吸光度スペクトル

2次微分スペクトル
(Savitzky-Goray法: 11点) → d^2Abs



G6P-F6P-Tris成分の2次微分スペクトル

$$\begin{aligned}
 d^2 Abs_{mix}(v, pH, C_{G6P}, C_{F6P}, C_{Tris}) &= C_{G6P,1} \cdot d^2 Abs_{G6P,1}(v) + C_{G6P,2} \cdot d^2 Abs_{G6P,2}(v) \\
 &+ C_{F6P,1} \cdot d^2 Abs_{F6P,1}(v) + C_{F6P,2} \cdot d^2 Abs_{F6P,2}(v) \\
 &+ C_{Tris,1} \cdot d^2 Abs_{Tris,1}(v) + C_{Tris,0} \cdot d^2 Abs_{Tris,0}(v) \\
 \\
 &= C_{G6P} \cdot (\alpha_{G6P,1}(pH) \cdot d^2 Abs_{G6P,1}(v) + \alpha_{G6P,2}(pH) \cdot d^2 Abs_{G6P,2}(v)) \\
 &+ C_{F6P} \cdot (\alpha_{F6P,1}(pH) \cdot d^2 Abs_{F6P,1}(v) + \alpha_{F6P,2}(pH) \cdot d^2 Abs_{F6P,2}(v)) \\
 &+ C_{Tris} \cdot (\alpha_{Tris,1}(pH) \cdot d^2 Abs_{Tris,1}(v) + \alpha_{Tris,0}(pH) \cdot d^2 Abs_{Tris,0}(v))
 \end{aligned}$$

G6P

$$\alpha_{G6P,1} = \frac{[H^+]K_{G6P,1}}{[H^+]^2 + [H^+]K_{G6P,1} + K_{G6P,1}K_{G6P,2}}, \quad \alpha_{G6P,2} = \frac{K_{G6P,1}K_{G6P,2}}{[H^+]^2 + [H^+]K_{G6P,1} + K_{G6P,1}K_{G6P,2}}$$

F6P

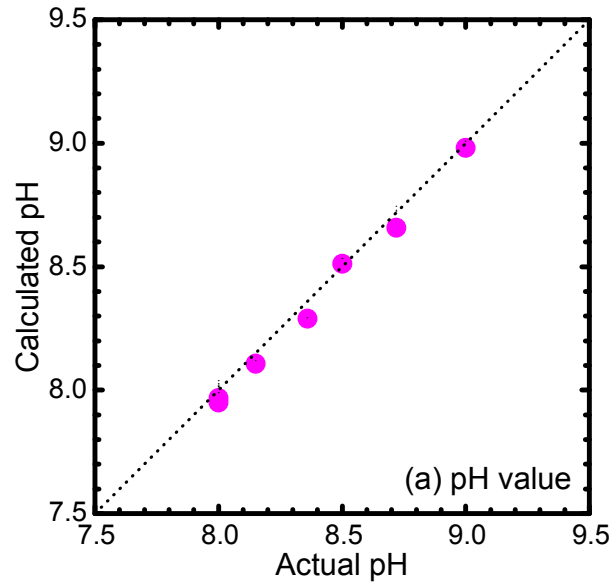
$$\alpha_{F6P,1} = \frac{[H^+]K_{F6P,1}}{[H^+]^2 + [H^+]K_{F6P,1} + K_{F6P,1}K_{F6P,2}}, \quad \alpha_{F6P,2} = \frac{K_{F6P,1}K_{F6P,2}}{[H^+]^2 + [H^+]K_{F6P,1} + K_{F6P,1}K_{F6P,2}}$$

Tris

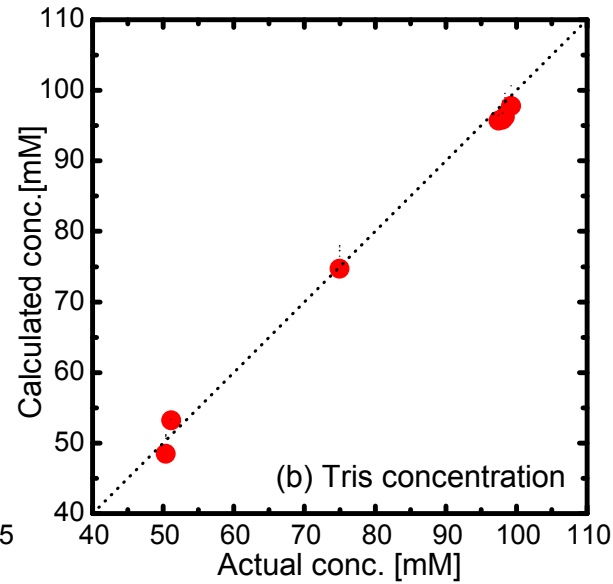
$$\alpha_{Tris,1} = \frac{[H^+]}{[H^+] + K_{Tris}}, \quad \alpha_{Tris,0} = \frac{K_{Tris}}{[H^+] + K_{Tris}}$$

Comparison of Calculated Values with Actual Ones

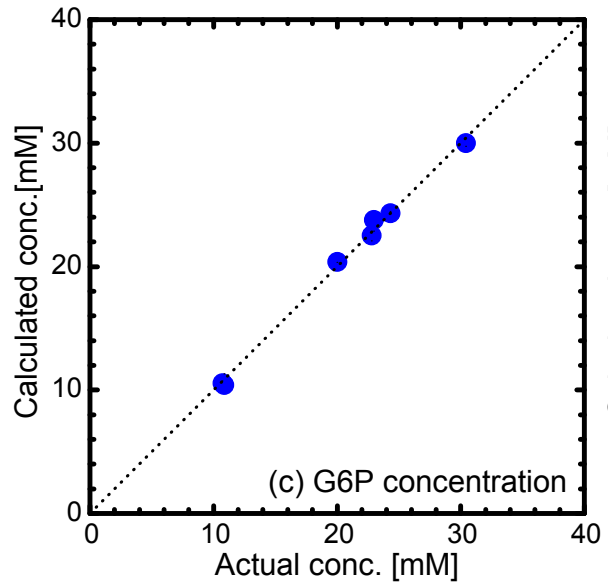
pH



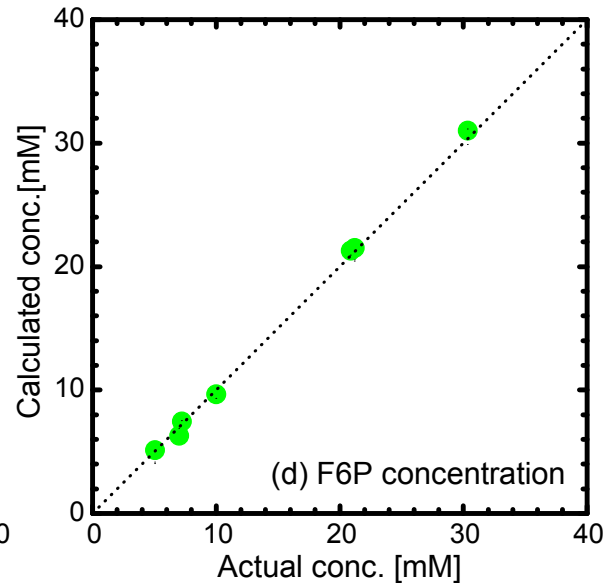
Tris
Conc



G6P
Conc

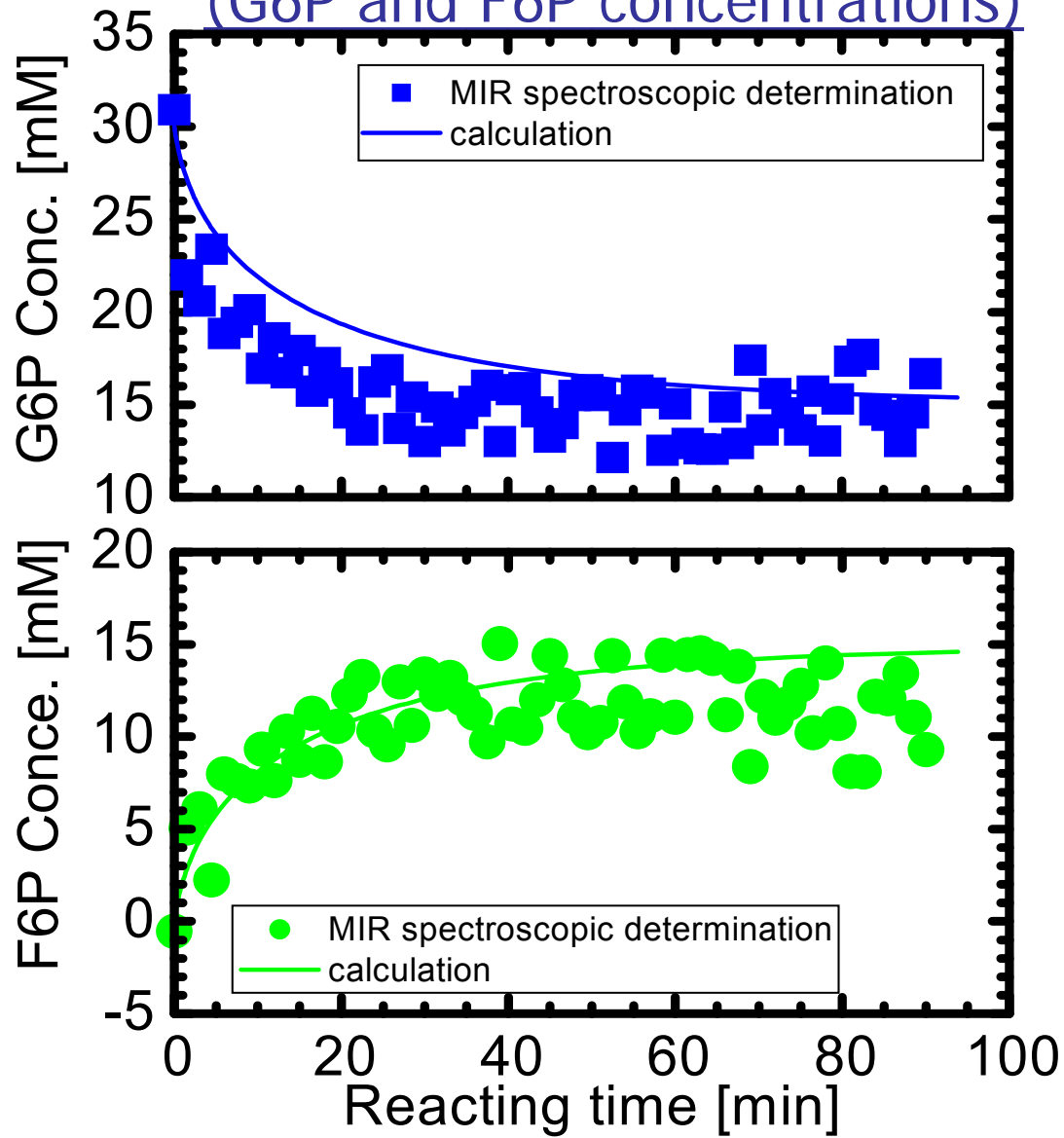


F6P
Conc

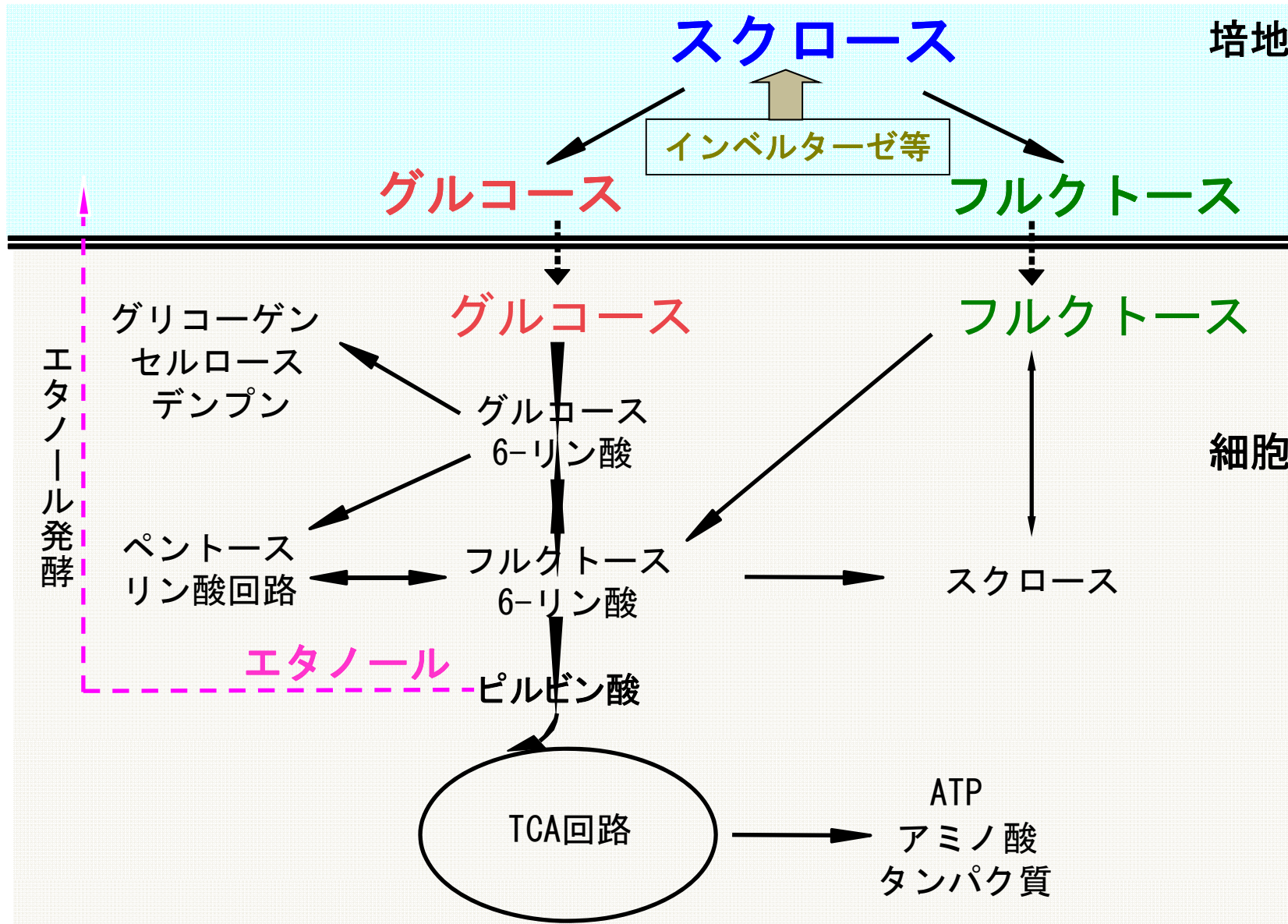


MIR Spectroscopic Monitoring Results

(G6P and F6P concentrations)



糖代謝経路



糖代謝経路

スクロース

グルコース + フルクトース

培地

グルコース

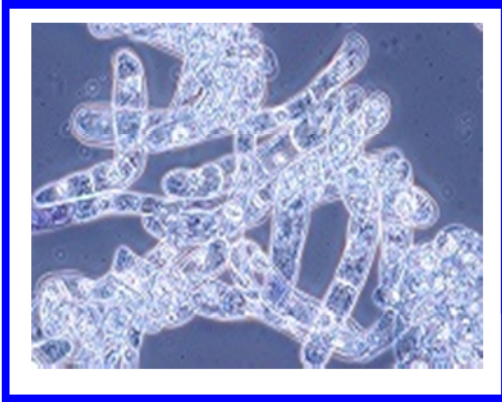
マンノース

ガラクトース

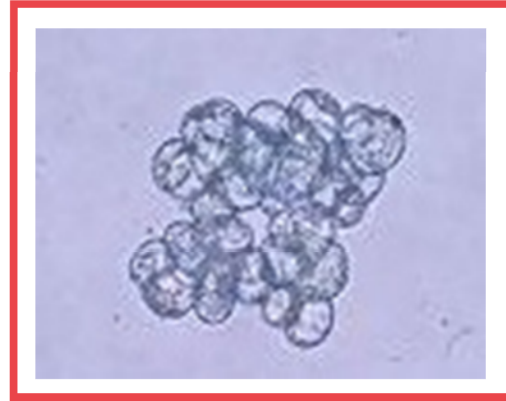
フルクトース

アラビドプシス細胞

タバコBY-2細胞

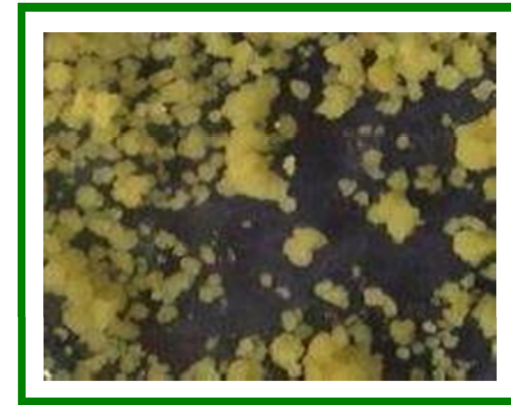


増殖が速く均一に懸濁

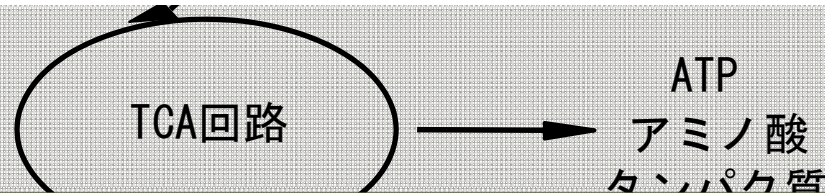


- ・ 代表的なモデル植物
- ・ 遺伝学的な情報が豊富
- ・ 小さな細胞塊を形成

イネ細胞



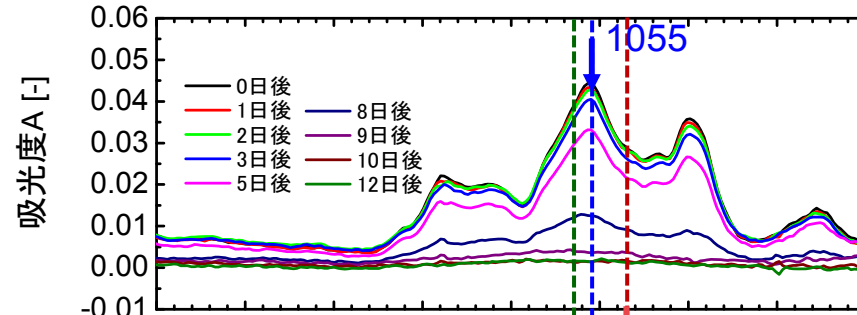
増殖が遅く細胞塊を形成



糖の種類（環境）を変えて代謝制御可能？

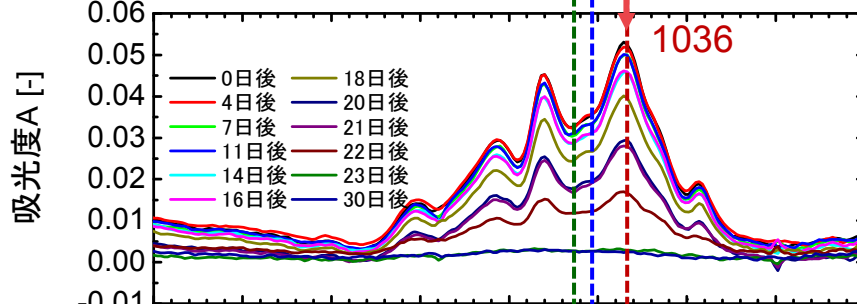
培養液の赤外スペクトル経日変化 (水との差)

スクロース



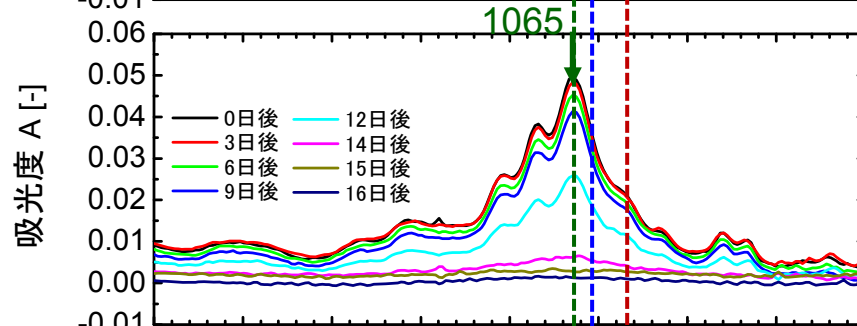
吸光度減少
若干のパターン
変化

グルコース



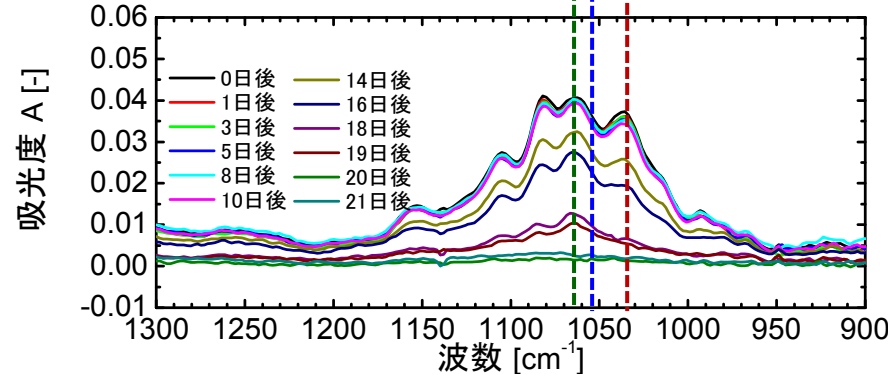
吸光度減少

フルクトース



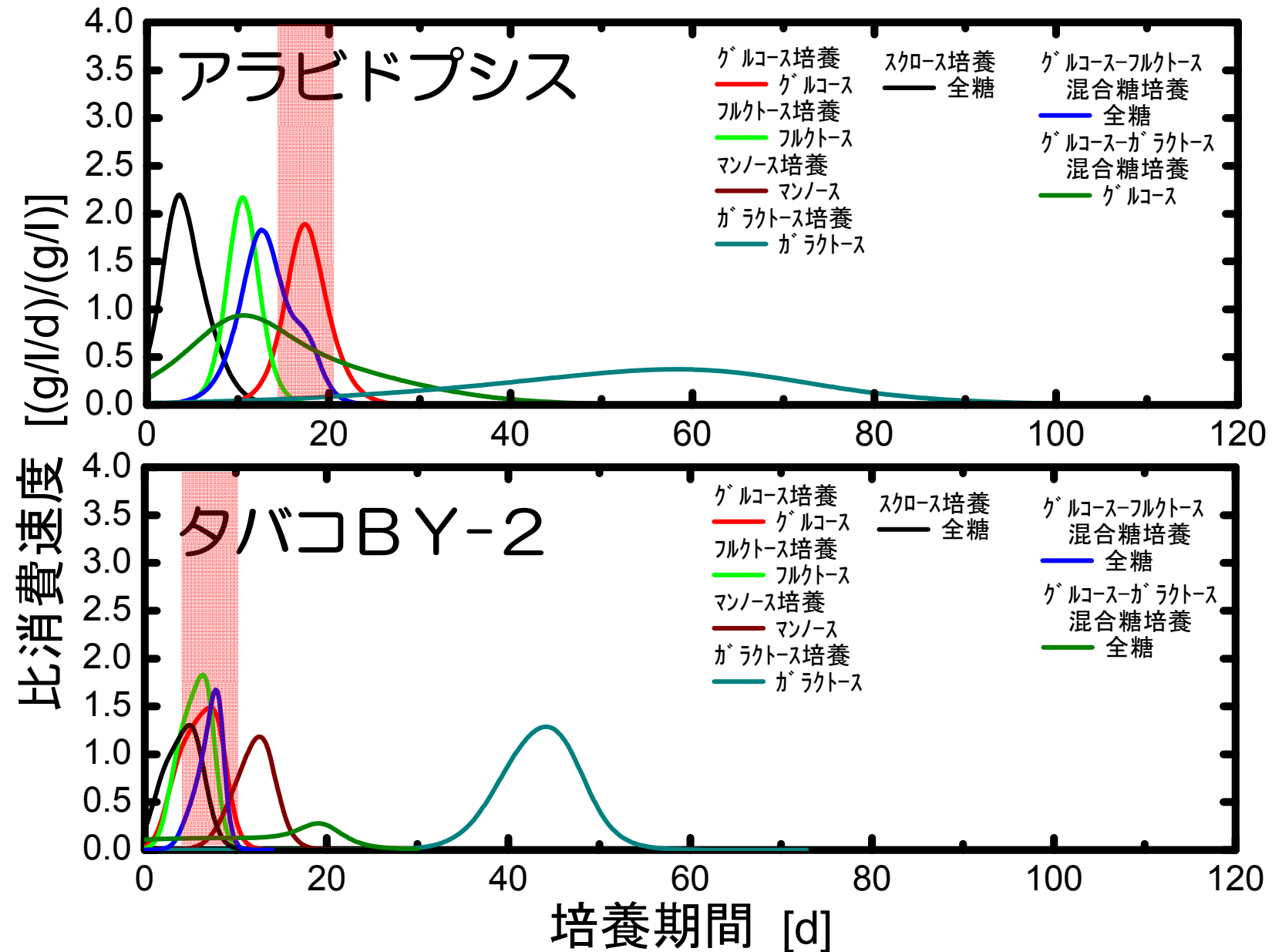
吸光度減少

グルコース
+
フルクトース

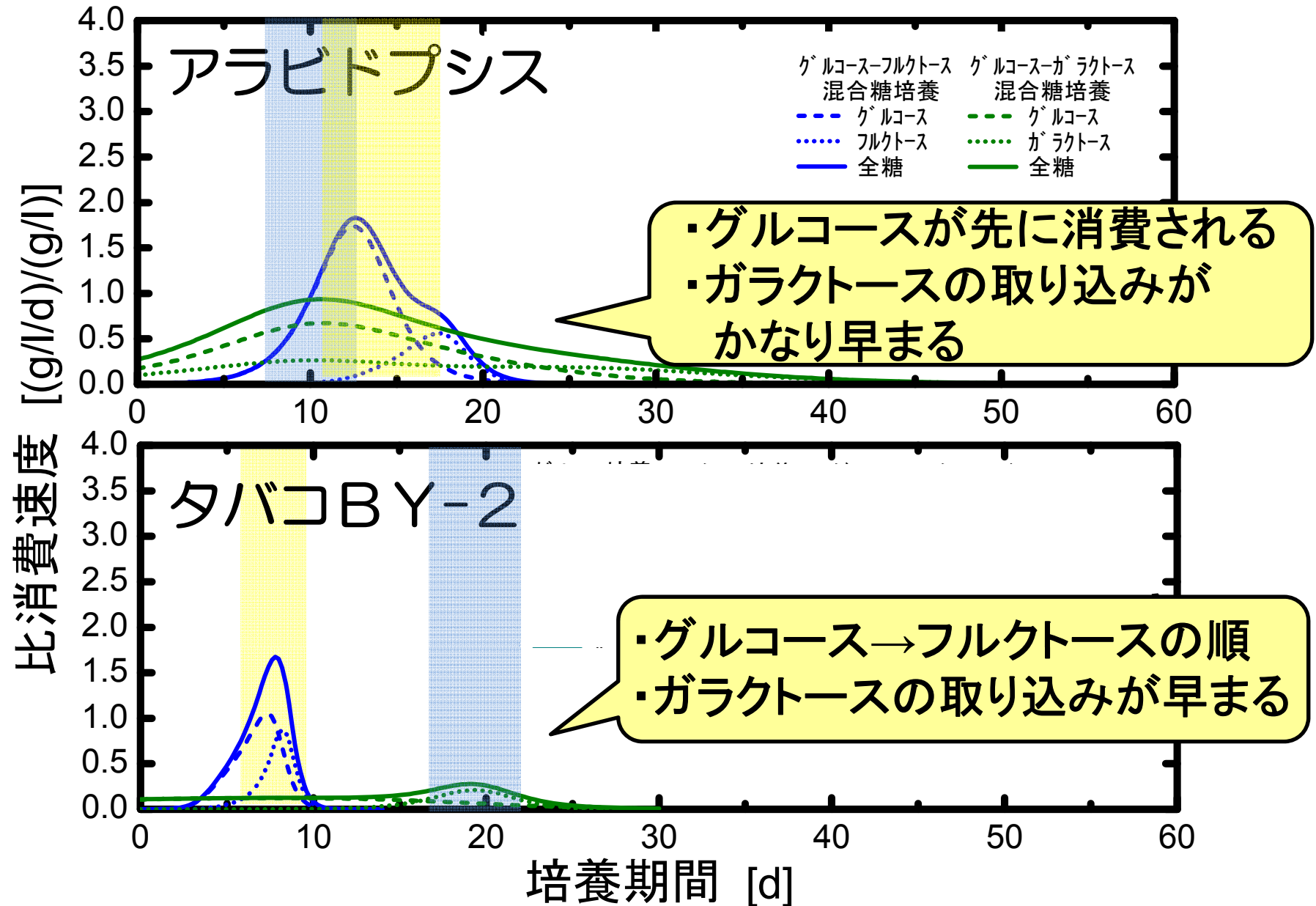


吸光度減少
パターン変化

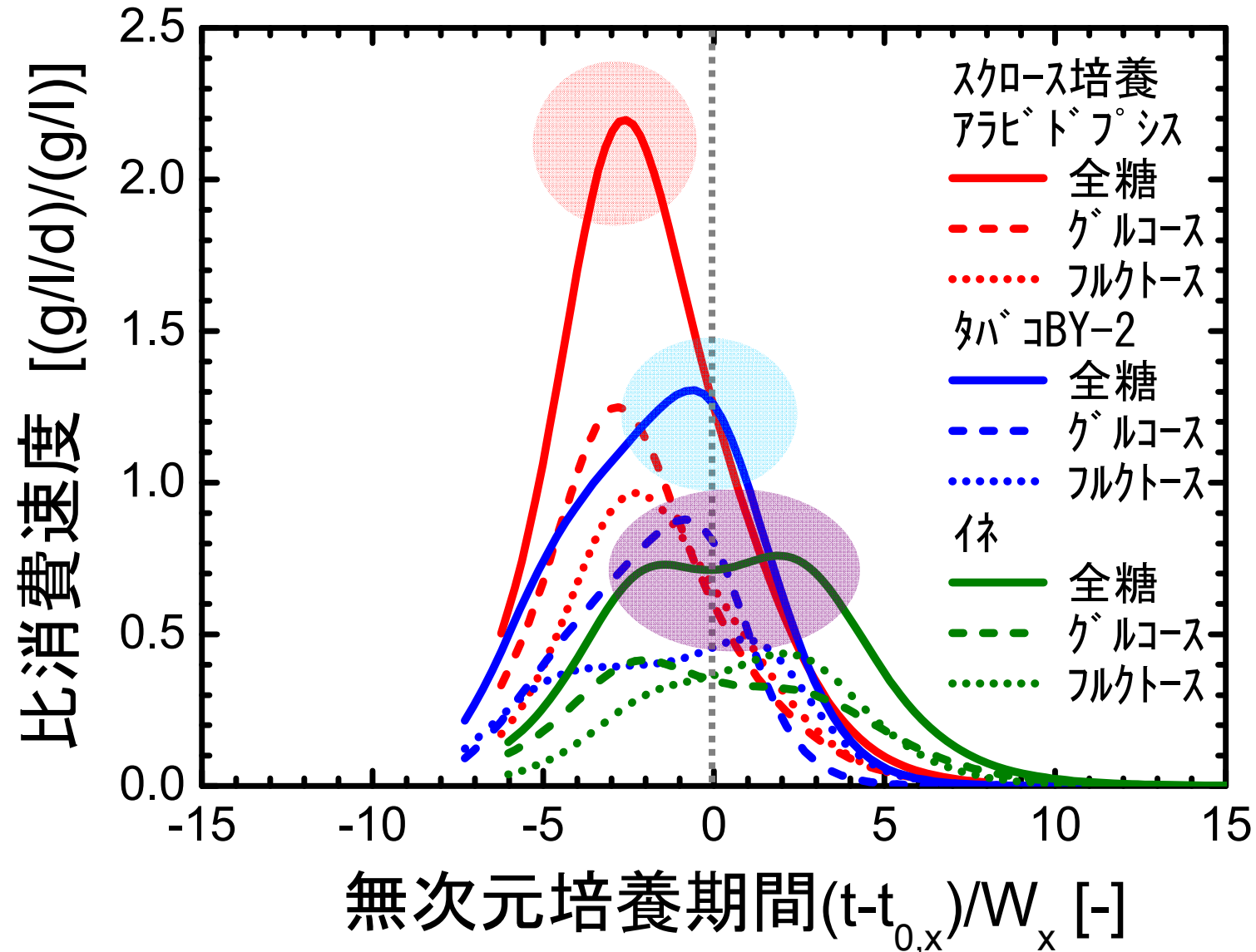
タバコBY-2細胞の糖代謝挙動との比較



タバコBY-2細胞の糖代謝挙動との比較



比消費速度の比較（スクロース培養）



本日の発表

- はじめに
 - センシング対象とするマクロ生物情報
 - マクロ生物情報の光センシング
- 光センシング
 - 光センシングの特徴
 - マルチバンドセンシング例
- 赤外分光センシング
 - 糖類の赤外分光特性
 - 代謝関連情報のセンシング例
 - コメの赤外分光特性
- おわりに

おわりに

- 光センシングは、Phenomics研究において多くの利点を有しているものと考えられる。
- 光センシング情報と生物の特性を多角的な観点から統合的に捉える必要があり、光センシング情報を理解しやすい表現に加工することが重要。
- 光センシング手法の開発にくらべ、センシング情報の統合化とその表示手法の研究が進んでいない。情報可視化工学など複雑な情報を人間に判読しやすい形式で可視化する技術研究が盛んにおこなわれており、光センシング情報との連携・展開が必要。

ありがとう
ございました

