

FMS-300

日本語取扱説明書

Document version: 1.01
Date: 27th February 2024



Hansatech
Instruments

日本総代理店
旭光通商株式会社
www.kyokko.com

目次

1. はじめに	4
1.1 安全性	4
1.2 文書の規則	4
1.3 通知	5
1.4 適合宣言	5
1.5 ユーザー登録	6
1.6 FMS-300 の保証	6
2. FMS-300 のセットアップ	7
2.1 同梱品	7
2.2 ソフトウェアのインストール	7
2.3 制御ユニットへの接続	8
2.4 電源投入と通信	8
2.5 光ファイバーケーブルサポートアームとクランプ	8
3. FMS-300 リーフクリップ	10
3.1 暗順応リーフクリップ	10
3.2 PTL-100 リーフクリップ	11
3.3 リーフクリップの配置	12
3.4 ライトガイド	12
4. FluoroControl ソフトウェア	14
4.1 FluoroControlの機能	14
4.1.1 機器の設定	14
4.1.1.1 Eye Safety	14
4.1.1.2 光学アクセサリーの選択	14
4.1.1.3 測定LED	15
4.1.1.3.1. 重要な考慮事項	15
4.1.1.3.2. 測定LEDの強度の設定	16
4.1.1.4 ゲインの設定	16
4.1.2 ルーチンの開始	17
4.1.2.1 ルーチンタブリスト	17
4.1.3 ルーチンタブ	17
4.1.3.1 データ取得画面	18
4.1.3.1.1. 上部のグラフ領域 – リアルタイムの蛍光信号	18
4.1.3.1.2. 下のグラフ領域 – 高速蛍光信号	18
4.1.3.1.3. データパネルメーター	19
4.1.3.1.4. 最後の測定パラメーター	19
4.1.3.2 パラメーター画面	19
5. 測定ルーチン	21
5.1 ルーチン 1: 最大 QY	21
5.1.1 暗順応サンプル	21
5.1.2 最大QY設定	22
5.1.2.1 推奨光学アクセサリー	22
5.1.2.2 暗遅延	23
5.1.2.3 パルス強度	23
5.1.2.4 パルス幅(秒)	23
5.1.2.5 暗緩和(分)	24
5.2 ルーチン 2: 有効QY	24

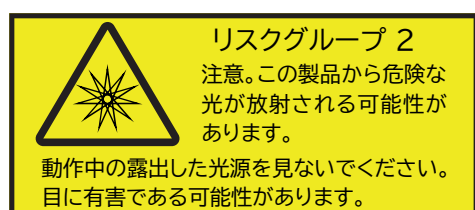
5.2.1 有効な QY 設定	24
5.2.1.1 推奨光学アクセサリ	24
5.2.1.2 プレコンディショニング	25
5.2.1.3 パルス強度	25
5.2.1.4 パルス幅 (秒)	25
5.2.1.5 ETR の PFDa	26
5.2.1.6 ETR の FractionPSII	26
5.3 ルーチン 3: クエンチング	26
5.3.1 クエンチング設定	27
5.3.1.1 推奨光学アクセサリ	27
5.3.1.2 ダークディレイ	27
5.3.1.3 Fv/Fm パルス強度 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	27
5.3.1.4 Fv/Fm パルス幅	28
5.3.1.5 Fv/Fm パルス後のディレイ	28
5.3.1.6 アクチニック強度 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	28
5.3.1.7 アクチニック位相パルス数	29
5.3.1.8 アクチニック位相パルス間隔 (秒)	29
5.3.1.9 アクチニック相パルス強度 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	29
5.3.1.10 アクチニック相パルス幅 (秒)	29
5.3.1.11 ETR の PFDa	30
5.3.1.12 ETR の FractionPSII	30
5.3.1.13 遠赤外線パルス強度 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	30
5.3.1.14 遠赤外線パルス幅	31
5.3.1.15 暗緩和相パルス数	31
5.3.1.16 暗緩和相パルス間隔 (秒)	31
5.3.1.17 暗緩和相パルス強度 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	31
5.3.1.18 暗緩和相パルス幅 (秒)	31
5.4 ルーチン 4: 光応答曲線	31
5.4.1 光合成曲線の設定	32
5.4.1.1 推奨光学アクセサリ	32
5.4.1.2 ETR の PFDa	32
5.4.1.3 ETR の FractionPSII	32
5.4.1.4 暗遅延	33
5.4.1.5 アクチニック ステップの持続時間 (秒)	33
5.4.1.6 アクチニック ステップの数	33
5.4.1.7 パルス強度 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	33
5.4.1.8 パルス幅 (秒)	34
5.4.1.9 暗緩和 (分)	34
5.4.1.10 光合成分析タブ	34
5.5 ルーチン 5: マルチ最大 QY	36
5.5.1 マルチ最大 QY 設定	36
5.6 ルーチン 6: マルチ有効 QY	36
5.6.1 マルチ有効 QY 設定	36
5.7 「マルチ」ルーチン使用時のユーザー インターフェイスの違い	36
5.7.1 「マルチ」セッション コントロール	37
5.7.2 個々の測定の強調表示	38
5.8 FluoroControl からのデータのエクスポート	39
5.8.1 エクスポートされた CSV データ ファイルの形式	39
6. 参考文献	41

1. はじめに

Hansatech社FMS-300クロロフィル蛍光システムをご購入いただきありがとうございます。このマニュアルは、FMS-300クロロフィル蛍光システムの主な機能、セットアップ手順、および一般的なメンテナンスについて説明することを目的としています。クロロフィル蛍光の調査の設計と解釈に関する一般的なガイドが含まれています。これは、すべての人に当てはまるガイドではありません。FMS-300は構成が自由であるため、さまざまな条件下でさまざまなサンプルの反応を実験および調査し、特定の調査に最適な構成を決定するための幅広い範囲が提供されます。

1.1 安全性

FMS-300は、最長1秒間、極めて高輝度の光を放射することができます。このマニュアルに記載されている情報と異なる方法で機器を使用すると、ユーザーに危険を及ぼす可能性があります。



光源(光ファイバーケーブル、機器背面の光ファイバーポート、およびそれらに取り付けられた光学延長部)に直接さらされないように、十分な注意を払ってください。特に、光が目に向けられたり、目に近づいたりしないようにしてください。すべてのユーザーにリスクを認識させる必要があります。

リスクを知らせるラベルは、機器の両側にあります。これらのラベルは取り外さないでください。剥がれた場合は交換してください。FMS-300は、英国規格EN 62471: 2008 - ランプおよびランプシステムの分類の光生物学的安全性(下記参照)に従って、リスクグループ2と評価されています。

- リスクグループ 0 : リスクなし
- リスクグループ 1 : 低リスク。通常の使用条件下では、この製品には露出制限に関連するリスクはありません。
- リスクグループ 2 : 中程度のリスク。ランプから目をそらすことでリスクを軽減できます。
- リスクグループ 3 : 高リスク。この製品は、瞬間的または短時間の露出でもリスクをもたらす可能性があります。

FMS-300には、重要なクロロフィル蛍光信号が検出されていないときにLEDが高強度の光パルスを開始するのを抑制する補助機能が組み込まれています。これは、機器が植物サンプルに向けられていないときに光パルスを抑制するように設計されています。この機能(「Eye Safety」)は、責任ある予防措置および安全手順に代わるものではありません。この機能は機器設定内で無効にできますが、通常、無効にすることはお勧めしません。

この機能の詳細については、「Eye Safety」セクションを参照してください。

1.2 文書の規則

電子的に表示する場合、青色で強調表示されたテキストをクリックすると、この文書の他の部分、または他の文書やインターネットの場所にリンクできます。

1.3 注意事項

故障により負傷や死亡につながる可能性がある状況では、機器を使用しないでください。機器が正しく機能しないと結果的に損害が発生するアプリケーションでは、状況の重大性に応じて定期的に機器が正しく動作しているかどうか確認する必要があります。

このマニュアルは、機器の設置と操作を支援するために提供されています。

Hansatech社は、この情報の使用によって生じた損失または損害について一切の責任を負いません。Hansatech社の機器保証は、欠陥のあるコンポーネントの交換に限定されており、人身または財産への傷害、またはその他の損害は対象としません。

このマニュアルおよびこれに含まれる情報の著作権は、Hansatech社が所有します。マニュアルのいかなる部分も、Hansatech社の事前の書面による同意なしに、コピー、写真撮影、いかなる方法または手段によっても、コピー、保存、送信、または複製することはできません。

1.4 適合性の宣言

FMS-300は、以下の規格の仕様に準拠しています。

- EN61326-1:2013 (エミッション)
測定、制御、実験室用電気機器 - EMC要件 - パート1: 一般要件 グループ1、クラスB機器-(エミッションセクションのみ)。
- EN55011:2016 (+A1/A11) (エミッション)
産業、科学、医療機器 - 無線周波数妨害特性の制限と測定方法 グループ1、クラスB機器
- EN61000-3-2:2014 (エミッション)
電磁両立性(EMC)-パート3-2: 制限-高調波電流エミッションの制限(機器の入力電流が相あたり $\leq 16A$)
- EN61000-3-3:2013 (エミッション)
電磁両立性(EMC)-パート3-3: 制限 - 定格電流が相あたり $< 16A$ で条件付き接続の対象ではない機器の公共低電圧供給システムにおける電圧変化、電圧変動、およびフリッカーの制限
- EN61326-1:2013 (イミュニティ)
測定、制御、および実験室用電気機器 - EMC要件-パート1:一般要件 基本環境-(イミュニティセクションのみ)
- CFR 47 Pt 15 B
連邦規則集: Pt15 サブパート B - 無線周波数デバイス - クラス A 非意図的放射装置

1.5 ユーザー登録

すべての新規ユーザーには、機器を当社に登録することをお勧めします。これは、Hansatech社webサイトのサポートセクションで行うことができます。機器に登録するには、システムのメインコンポーネントのシリアル番号が必要です。たとえば、FMS-300の場合は、コントロールユニットのシリアル番号を使用して登録してください。

1.6 FMS-300の保証

FMS-300および提供されたシステムの構成部品には、部品と作業費を含めて1年間の保証が適用されます。もちろん、この保証は、このマニュアルに記載されている書面による指示に従って機器が適切に設置、操作、保守されることを条件とします。

保証は、不適切な設置、操作、保守、誤用、改造、および/または事故によって生じた機器の欠陥には適用されません。何らかの理由で故障が保証の対象となった場合、欠陥部品の修理または交換のために、商品をHansatech社または旭光通商に返却するのはお客様の責任となります。サービスについては、このマニュアルの裏側にある住所までお問い合わせください。

保証の全条件は、Hansatech社から入手できます。

2. FMS-300のセットアップ

2.1 箱の中には何が入っているのですか？

FMS-300輸送ケースを初めて開ける場合は、システムのすべてのコンポーネントが揃っていることを確認してください。標準システムには、次の構成部品が含まれています。

- FMS-300 コントロール ユニット
- PTL-100 PAR/温度リーフクリップ
- FMS/SFO 1m 光ファイバーケーブル
- FMS/DLC 暗順応リーフクリップ10個入りボックス
- 光ファイバーサポートがあらかじめ取り付けられた Manfrotto 244Mini 可変フリクションアーム
- Manfrotto 386B-1 ナノ クランプ
- FluoroControl ソフトウェアとマニュアル (USBドライブ)
- 12V 主電源
- 主電源ケーブル

ブランドのレトルトスタンドも購入された場合は、FMS-300輸送ケースに同梱されます。輸送用ケースの中身をよくご確認ください、破損や紛失があれば旭光通商までご連絡ください。

2.2 ソフトウェアのインストール



FluoroControlソフトウェアは、Windows 10®以降が動作するPC(またはラップトップ)で動作するように設計されています。

ソフトウェアとマニュアルの電子コピーは、輸送ケースに入っているUSBドライブに含まれています。ソフトウェアはインストールプロセス中にダウンロードされるライブラリに依存しているため、PCにはインターネット接続が必要です。

- Windows 10®以降を実行しているPCの空きUSBポートにUSBドライブを挿入します。
- ドライブの内容を表示し、ファイル HIL.FluoroControl_XXXX_x64.msix をダブルクリックしてインストーラを起動します (XXXX はソフトウェアのバージョン番号を示します)。
- 画面の指示に従ってFluoroControlソフトウェアをインストールします。

2.3 制御ユニットへの接続



図1. FMS-300コントロールユニットの背面パネルの接続

FMS-300コントロールユニットの背面パネルで、次の接続を行います。

- 電源を+12V 4Aソケットに接続します(図1、A)。主電源コンセントに接続します。
- USB接続ケーブルType-Cを接続します(図1、B)。Type-AをPCの空きUSBポートに接続します。
- 必要に応じて、PTL-100をコントロールユニットの対応するソケット(図1、C)に接続します(使用するルーチンでPTL-100が必要な場合)。
- 光ファイバーケーブルの大きい方の端をFMS-300コントロールユニットの背面に接続します(図1、D)。光ファイバーケーブルの側面には小さなタブがあり(図2、A)、コントロールユニットの光ファイバーコネクタのキー溝に差し込みます(図2、B)。



図2. FMS-300制御ユニットの背面パネルの光ファイバー ケーブル接続

2.4 電源投入と通信

コントロールユニットへの必要な接続がすべて完了したら、機器のフロントパネルにある電源ボタンを押してFMS-300の電源を入れます。ボタンが青く点灯し、LCD画面が初期化されます。PCで、インストールされているFluoroControlソフトウェアを見つけてプログラムを実行します。ソフトウェアはFMS-300を見つけて、機器設定画面を表示します。

2.5 光ファイバーケーブルサポートアームとクランプ

FMS-300には、関節式サポートアーム(図3、A)とクランプ(図3、B)が標準装備されています。これらのアイテムは、測定中に光ファイバーを便利かつ効果的かつ安全に配置するのに役立ちます。これらは、FMS-300ブランドのレトルトスタンド(図3、C)(オプションのアクセサリとして入手可能)または標準的な実験室用レトルトスタンドと組み合わせて使用できます。



図3. 光ファイバーケーブル、サポートアームとクランプは、FMS-300システムに標準装備されています。



図4. クランプとサポートアームは、9.5mmのネジ付きコネクタを介して組み立てられます。



図5. 光ファイバーケーブルは、サポートアームの端にあるアダプターによってしっかりと固定されます。

アームの一端には9.5mmの雄ネジがあり、クランプの背面にある9.5mmの雌ネジに接続します(図4)。アームの他端には、測定中にFMS-300光ファイバーケーブルをしっかりと固定できるアダプター(図5)が取り付けられています。光ファイバーケーブルを固定するには、アダプターの上部にあるつまみネジを緩めて、光ファイバーケーブルをアダプターに簡単に挿入できるようにします。つまみネジを締め直して、光ファイバーケーブルを固定します。

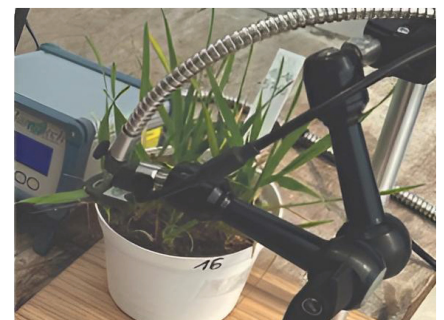
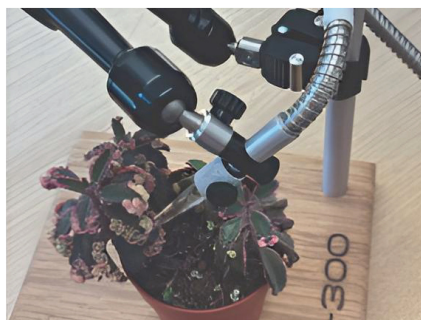
クランプは、側面にあるハンドルを使用して開閉します。直径13～35mmの円筒形のアイテムをしっかりとつかみ、最大4kgの荷重をサポートします。

サポートアームとクランプをレトルトスタンドにしっかりと取り付けると、アームを調整して、必要に応じて光ファイバーケーブルのサンプル端を配置できます。

光ファイバーの位置を調整するには、レバーを反時計回りに回してアームを緩めます(図6、A)。必要に応じて光ファイバーの位置を調整し(図6、B)、レバーを時計回りに回してアームを固定します(図6、C)。



図6. サポートアームは広範囲に可動するため、さまざまな種類のサンプルを測定する際に光ファイバーを便利かつ安全に配置できます。



3. FMS-300リーフクリップ

3.1 暗順応リーフクリップ

FMS-300には、暗順応リーフクリップ10個セットが付属しています。実験前または実験中にサンプルの暗順応（または光のない状態での測定）が必要な場合に使用します。暗順応リーフクリップは、広葉植物（一部の大型シロイヌナズナの葉を含む）、イネ科植物、針葉植物など、さまざまなサンプルに使用できます。スループットを高速化するために、複数のリーフクリップを使用して、測定前に複数のサンプルを同時に順応させることができます。

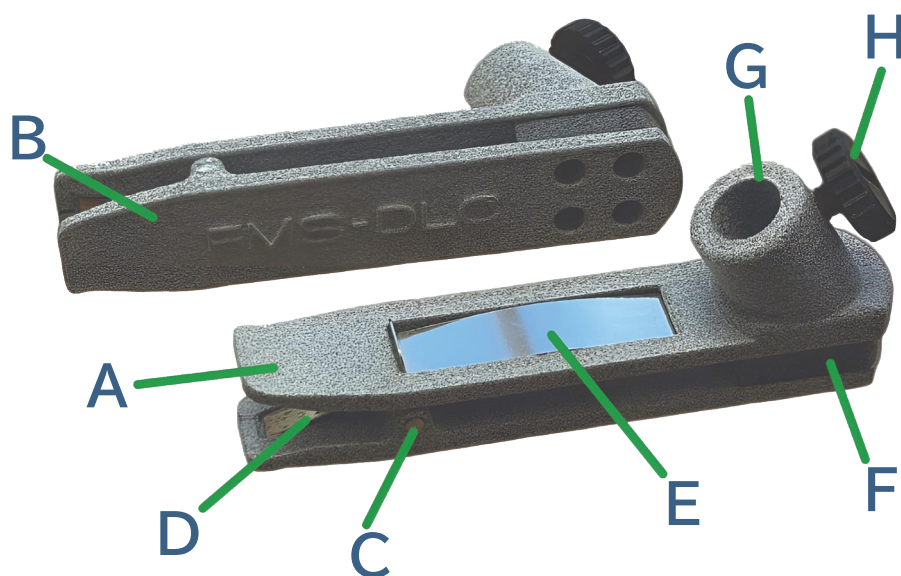


図7. 暗順応リーフクリップ

暗順応リーフクリップは、上部(図7、A)と下部(図7、B)の2つのセクションで構成され、ヒンジ(図7、C)で接続されています。暗順応プロセスを容易にするために、上部と下部の両方の背面に軽く圧力をかけると、スプリング(図7、D)が圧縮され、リーフクリップの前面が簡単に開きます。この動作により、葉の下側がフォームパッドで保護された状態でしっかりと配置できます(図7、F)。

葉に光が当たらない環境を作るために、シャッター(図7、E)を前方にスライドさせて、周囲の光が葉に当たらないようにすることができます。測定中は、光ファイバーケーブルのサンプリング端をファイバーステップ(図7、G)に挿入し、つまみネジ(図7、H)を使用してしっかりと固定します。測定を行う前に、シャッターを開いた位置に引き込み、暗順応したサンプルを光ファイバー光源にさらします。

3.2 PTL-100リーフクリップ



図8. PTL-100 オープンフェイス リーフクリップ

FMS-300には、オープンフェイスのリーフクリップPTL-100(図8)が標準装備されています。周囲光条件下でサンプルを測定する必要があるルーチンに使用できます。PTL-100は、前面にPARセンサーが取り付けられた3Dプリントのナイロン製本体で構成されています。リーフクリップの下側には、葉温度センサーが取り付けられています。光ファイバーは保持カラーに挿入され、つまみねじで固定されます。光ファイバーの端は、サンプルの平面に対して60°の角度で、サンプルに近接して配置されています。これにより、サンプルの照明強度と蛍光信号の検出が最大化されます。



図9. 保持つまみネジを外して光ファイバーアダプターを取り外します。
アダプターをPTL-100に交換し、つまみネジを取り付け直して
PTL-100を所定の位置に固定します。

PTL-100には、リーフクリップの背面に、光ファイバーサポートアーム接続用のアダプターが取り付けられています。PTL-100をサポートアームに取り付けるには、つまみネジを外して光ファイバーアダプターをサポートアームから取り外します(図9、A-1)。光ファイバーアダプターをサポートアームの端からスライドさせて外し(図9、B)、PTL-100と交換します。

つまみネジを取り付け直して、PTL-100をサポートアームに固定します(図9、C)。リーフクリップはFMS-300制御ユニットの背面に電氣的に接続され(セクション2.3の図1、Cを参照)、4つのあらかじめ取り付けられたケーブルクリップを使用して、ケーブルを光ファイバーケーブルにクリップで留めることができます。PTL-100の前面のつまみネジを緩め(図9、C-1)、光ファイバーケーブルの端をクリップにできるだけ奥まで挿入します。つまみネジを締めて光ファイバーケーブルを固定します。

PTL-100を葉のサンプル上に配置するには、まずリーフクリップの下側から磁気パックを取り外します。サポートアーム(セクション2.5を参照)を動かして、PTL-100の下側が必要なサンプルの近くに配置され、サポートアームを所定の位置に固定します。測定開口部全体が覆われるように葉を配置します。葉を所定の位置に保持し、葉の下に磁気パックを取り付けてサンプルを固定します。

3.3 リーフクリップの配置

どちらのタイプのFMS-300リーフクリップでも、葉の上での位置は重要な考慮事項です。壊死/塩素化した部分、壊れた組織、ストレスのある部分(タールスポットなど)は避けるべきです。同様に、中央の中肋や大きな葉脈のある領域は、これらの領域のサイズが大きくなると、暗くなった葉の領域に周囲の光が当たる可能性があります。そのため、暗順応時に問題を引き起こす可能性があります。

可能であれば、複数のサンプルにわたってリーフクリップの位置を一定にしてください。複数の若い植物にわたって単一の葉を測定する場合は、各植物で同じ葉を選択するようにしてください。Zivakら(2014)、Iqbalら(2012)、およびKalajiら(2017)は、植物の上部にある最も若い完全に形成された葉をサンプリングすることを提案しました。より大きな植物から複数の葉を測定する場合は、各葉の同じ場所にクリップを配置するようにしてください。データ収集の一貫性により、最も比較可能な結果が得られます。

3.4 ライトガイド

FMS-300は、オプションとして別売りされているさまざまな光学ライトガイド(図10)と一緒に使用できます。これらにより、さまざまなサンプルタイプの測定が容易になります。ライトガイドはそれぞれ光学グレードの精密ホウケイ酸ガラス(N-BK7)で作られており、光を均一化するため、ライトガイドの先端をサンプルに直接接触させることができます。

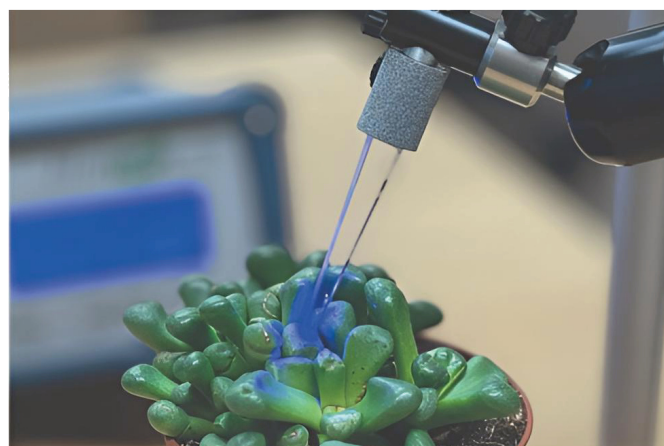


図10. さまざまなサンプルタイプに対応するFMS-300ライトガイド

使用可能なライトガイドは次のとおりです:

- FMS/LG1 - 8 x 100mm 六角形ライトガイド

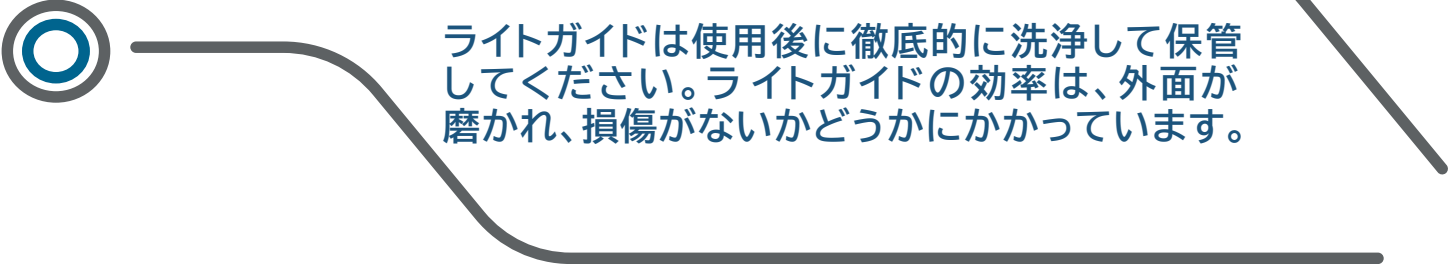
標準ファイバーに適さないサンプルに使用できる FMS-300光ファイバーケーブルの延長を提供します。海草、サンゴ、その他の水生植物などの海水または淡水タンクに保持されたサンプルは、ガイドをサンプル自体に直接配置することで、水面下で直接測定できます。これにより、サンプルへの光とサンプルからの蛍光の両方が最大限に透過されます。

- FMS/LG2 - テーパー型ライトガイド (サンプル端 4 x 4mm)

アラビドプシスや針葉樹などの小さなサンプルを測定するときに便利なソリューションを提供します。このライトガイドは、藻類や葉緑体懸濁液などの小さなキュベットやバイアルに入れられた液体サンプルからの蛍光信号を測定するためにも使用できます。ライトガイドのテーパー形状により、FMS-300によって照射される光の最大2倍の増幅が可能になり、最大 $60,000 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ の飽和光強度が得られます。

- FMS/LG3 - テーパー型ライトガイド (サンプル端 2.5 x 2.5mm)

4 x 4mmテーパードライトガイドに似ていますが、最大 $90,000 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ の飽和パルスで、最大3倍の光強度を増幅します。ライトガイドを使用するには、FMS-300光ファイバーケーブルの端をライトガイドの保持カラーにできるだけ奥まで挿入するだけです。つまみネジを使用してライトガイドを固定します。



ライトガイドは使用後に徹底的に洗浄して保管してください。ライトガイドの効率は、外面が磨かれ、損傷がないかどうかにかかっています。

4. FluoroControlソフトウェア

FMS-300には、機器操作のあらゆる側面を制御する包括的で使いやすいソフトウェアパッケージ FluoroControl が付属しています。FluoroControlは、使いやすさを重視して開発されており、データ取得のための使いやすく効率的なプラットフォームを提供します。主要な機能の配置が慎重に考慮された、わかりやすいタブベースのインターフェイスにより、ユーザーはすぐに測定を開始できます。従来の蛍光プロトコルをすべてカバーする6つの設定可能な測定ルーチンを使用して、データを取得します。各測定ルーチンが完了すると、飽和パルスイベントごとに包括的なクロロフィル蛍光パラメーターセットが表示されます。

4.1 FluoroControlの機能

4.1.1 機器設定

すべてのハードウェア機能の設定は、ソフトウェアを開いたときにデフォルトで開く機器設定画面内にあります。プログラムインターフェイスの上部にある Settings > Instrument メニューオプションからアクセスすることもできます。

4.1.1.1. Eye Safety

このマニュアルの冒頭にある[安全に関する注意事項](#)を参照してください。FMS-300には、飽和パルスを開始する前にクロロフィル蛍光信号が検出されない場合にLEDを無効にする補助安全機能が組み込まれています。この安全機能は、ソフトウェアを開くたびにデフォルトで有効になります。

クロロフィル蛍光信号が非常に低いサンプルを測定する場合、状況によっては、予防措置として、Eye Safety機能により飽和LEDが無効になることがあります。このような状況では、コントロールユニットのLEDに、LCD画面のActinic light(AL)インジケーターの横に「EYE」というメッセージが表示されます。Eye Safety機能により、低信号サンプルの測定が正常に行われない場合は、機器設定画面の右上隅にあるトグルスイッチで無効にすることができます。ただし、Hansatechでは、安全を確保するために、一連の測定の直後に再度有効にすることを推奨しています。Eye Safety機能は、ソフトウェアを次回起動したときにデフォルトで再度有効になります。



重要: 低信号サンプル測定時のみ、HANSATECHは Eye Safety機能を無効にすることを提案します。

4.1.1.2. 光学アクセサリーの選択

各設定セッションの最初のステップは、実行する実験に必要な光学アクセサリーを定義することです。光学アクセサリーには、さまざまなリーフクリップ(FMS-300に付属)、ライトガイド、およびオプションのアクセサリーとして利用できるその他のコンポーネントが含まれます。各アクセサリーは、次の1つ以上の方法でFMS-300の測定プロセスに影響します。

- パス長（FMS-300 LED/検出器とサンプル間の距離）の変更
- サンプルへの入射角の変更
- 光学アクセサリの端とサンプルの距離の変更
- 光路の形状の変化により、FMS-300からの光強度が増幅または減少します

各光学アクセサリには、システムにハードコードされた増幅スケール係数があるため、使用するアクセサリに関係なく、正確で調整された光強度設定を定義できます。したがって、各実験の前に、関連する光学アクセサリを選択し、関連する設定を構成することが重要です。現在選択されている光学アクセサリは、機器設定画面の左上隅に表示されます(図11、A)。別のアクセサリを選択するには、Optical Accessoryボタンをクリックします(図11、B)。使用可能な各アクセサリを表す画像のマトリックスが表示されます(図11、C)。

必要なアクセサリ画像をクリックし、OKボタンをクリックします。選択したアクセサリが画面の左上隅に表示されます(図11、D)。アクセサリ画像の上の括弧内の数字は、アクセサリに関連付けられた増幅係数です。

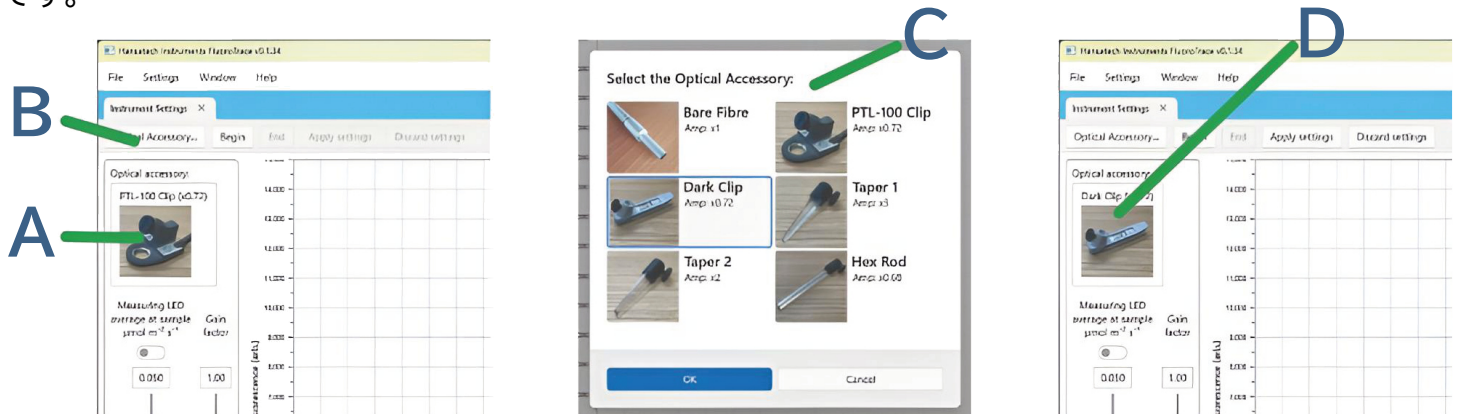


図11. 関連する光学アクセサリを選択する手順

光学アクセサリを選択したら、測定LEDの強度の設定に進むことができます。

4.1.1.3. 測定LED

4.1.1.3.1. 重要な考慮事項

FMS-300測定LEDは、蛍光信号の増加を引き起こすことなく、サンプルから強いパルス蛍光信号を誘発するのに十分な明るさに調整する必要があります。強度レベルによって、各ルーチンの信号のベースラインレベル(暗順応サンプルの場合は F_0 、明順応サンプルの場合は F')が決まります。強度が高いほど、信号が強くなり、S/N比が向上しますが、サンプルに化学線効果が生じるリスクがあります。

サンプルが暗順応しており、最大量子収率(F_v/F_m)の初期測定が必要な実験では、測定LEDが光化学反応を起こすほどの強度ではないこと、つまり光化学系II(PSII)で電荷分離を誘発しないことが重要です。電荷分離が起こると、サンプルの暗順応が損なわれます。 F_v/F_m の測定には、測定LEDパルスのみが存在下ですべてのPSII反応中心が完全に酸化(オープン)されたときに、初期蛍光値(F_0)を記録する必要があります。したがって、測定LEDが光化学反応性である場合、真の F_0 は記録されず、真の F_0 値を必要とする他の蛍光パラメータの前方計算にも影響します。

通常、文献では、測定LED照明のみで蛍光信号が上昇しない測定LED強度設定を選択するように推奨されています。測定LEDのみで蛍光信号が時間の経過とともに増加すると、化学線効果を示します。暗順応測定を行うすべての場合において、測定LED強度設定は暗順応サンプルで構成する必要があります。

測定LEDがFoまたはF' 値が12,500unitを超えないレベルに設定されていることを確認することが重要です。これは、オーバースケールすることなく、最大蛍光値(FmまたはFm')を記録できるようにするためです。

蛍光信号は、最大値が65,535unitの任意の単位で表示されます(FMS-300は16ビット信号機器であるため)。飽和パルスイベント中の最大蛍光値は、通常、FoまたはF' 値の最大5倍です。したがって、ベースライン蛍光信号が12,500unitを超える場合、機器は飽和パルス中にオーバースケールする可能性があります。

4.1.1.3.2. 測定LEDの強度設定

次のセクションでは、暗順応リーフクリップを使用したプロセスについて説明します。他の光学アクセサリの場合、サンプルに対する配置と使用可能な値は異なりますが、プロセスは基本的に同じです。

- 実験に使用するサンプルの代表的な葉を、暗順応リーフクリップを使用して15～20分間暗順応させます。
- 光ファイバーケーブルをサポートアームにしっかりと固定した状態で、ファイバーを暗順応リーフクリップに挿入し、つまみネジで固定してシャッターを引き込みます。
- Settingタブで、Beginボタンをクリックします。この段階では、測定LEDが有効になっていないため、蛍光は記録されません。
- 画面の左側には、測定LEDの強度とゲインの制御スライダーがあり、ソフトウェアのデフォルトはそれぞれ $0.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ と1.0です。測定LEDの強度制御の上には、測定LEDを有効/無効にするトグルスイッチがあります。
- 測定LEDを有効にします。画面の下部に赤いトレースが追跡され始めます。これは、サンプルからのクロロフィル蛍光信号です。
- 蛍光信号が推奨値の12,500unitを下回っていることを確認します。蛍光値はグラフ上部のパネルメーターに表示されます。
- 測定LEDに光化学作用がないことを確認します。 ΔF パネルメーターには、測定LEDが有効になった時点からの蛍光信号の変化が表示されます。 ΔF 値が継続的に高いか増加している場合は、サンプルに光化学作用があるため、強度を下げる必要があります。
- ΔF 値が0付近で安定している場合は、測定LEDの強度を徐々に上げ、蛍光信号の変化を観察します。最高の信号品質を得るには、光化学作用が観察される前に使用できる最高の強度を使用します。
- 測定LEDの強度を調整するときは、まずトグルスイッチを使用してLEDを無効にし、スライダーコントロールを調整してから、LEDを再度有効にします。これにより、 ΔF パネルメーターがリセットされます。
- 設定が最適化されたら、Apply Settingsボタンをクリックし、Endボタンをクリックします。
- これらの設定は、今後のすべての実験ルーチンに適用されます。サンプルの種類が変更された場合や、別の光学アクセサリが使用される場合は、測定LEDの設定を確認し、必要に応じて最適化することが重要です。

4.1.1.4. ゲインの設定

ゲイン設定スライダーコントロールは、非常に低い蛍光信号を増幅するために使用されます。ほとんどの場合、機器の解像度はクロロフィル含有量の少ないサンプルからの低い信号を処理するのに十分であるため、このツールは不要です。ただし、ゲインコントロールを使用する場合は、蛍光信号を電子的に増幅するときに、信号上のノイズも増幅されるため、設定値が高くなると信号品質が低下することを考慮することが重要です。

4.1.2 ルーチンの開始

実験を開始するには、組み込みの実験ルーチンの1つを選択します。プログラムインターフェイスの上部にあるFileメニューから、Newを選択し、必要なルーチンを選択します。選択したルーチンに関連する一連のオプションとサブタブレイアウトを含む新しいタブが開きます。

4.1.2.1. ルーチンタブリスト

機器設定は、新しいルーチンや以前に保存したファイルとともに、メニューバーの下、画面上部にある水平タブリスト(図12)の一部として、独自のタブで開きます。

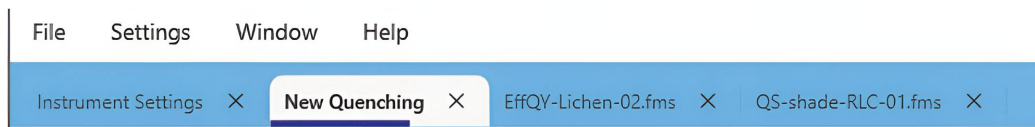


図12. 水平ルーチンのタブ付きリスト

新しいルーチンタブには、New<routine type>というラベルが付けられます。保存されたファイルのタブには、保存されたファイル名に対応するラベルが付けられます。一度にFMS-300機器をアクティブに制御できるタブは1つだけです。アクティブなタブは、関連するタブの下部にある青い水平スクロールラインで示されます。別のタブがFMS-300を制御しているときに他のタブを表示できますが、測定を実行できるのはアクティブなタブのみです。

ルーチンタブは、データファイルの比較を容易にするために、新しいビューまたは新しいウィンドウにコピーできます。ルーチンタブを右クリックすると、2つのオプションを含むサブメニューが表示されます。

Add New Viewを選択すると、ルーチンのコピーがリストの最後にある新しいタブに追加されます。Move to New Windowを選択すると、既存のルーチンが新しいウィンドウで開きます。タブ付きメニュー内のルーチンタブの順序は、特定のタブをメニュー内の目的の場所にドラッグアンドドロップすることで変更できます。

4.1.3 ルーチンタブ

すべてのルーチンにおいて、FluoroControlソフトウェア内のタブ付きユーザーインターフェイス、グラフ、およびパラメータデータの表示には共通の機能があります。このタブ付きメニュー(図13)では、データ取得画面(実験のグラフィカルデータ表示)と計算されたパラメータのリスト(実験の完了時に利用可能)にアクセスできます。光合成曲線ルーチンには3番目の分析タブがあり、PARに対して電子伝達速度(ETR)値をプロットするグラフにアクセスできます。詳細については、[光合成曲線のセクション](#)を参照してください。

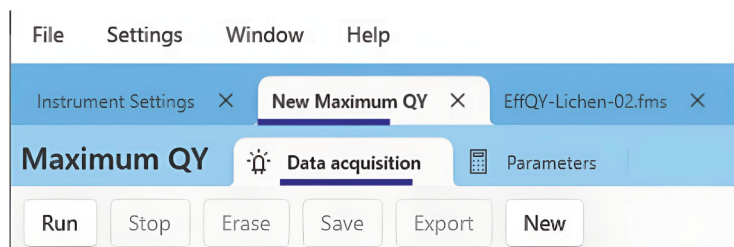


図13. ルーチンコントロールタブ

Data Acquisitionタブは、各ルーチンが構成され、実行される場所であり、実験中に測定されたデータがグラフ化される領域です。ルーチンは、構成が完了すると、Runボタンから実行されます。測定中は、Data Acquisitionタブに、測定が進行中であることを示す追加の青い水平スクロールラインが表示されます。実験を中止する必要がある場合は、測定中ずっとStopボタンがアクティブになります。

測定の終了時(または測定が中止された場合)、取得したデータは消去または保存する必要があります。保存したら、エクスポートボタンをクリックするだけで、データをCSVファイル形式(ExcelやSigmaplotなどの外部データ分析ソフトウェアで開くことができます)にエクスポートできます。いつでも、新規ボタンをクリックすることで、現在のルーチンと構成設定を新しい測定に使用できます。これにより、ルーチンタブリストに、New<Routine type>というラベルの付いた新しいルーチンが開きます。各実験の終了時に、計算および測定されたパラメーターがパラメータータブで表示されます。

4.1.3.1. データ取得画面

この画面には、現在の測定または以前に保存した測定のグラフデータが表示されます(図14)。画面は2つのグラフとパラメーターデータ表示領域に分かれています。

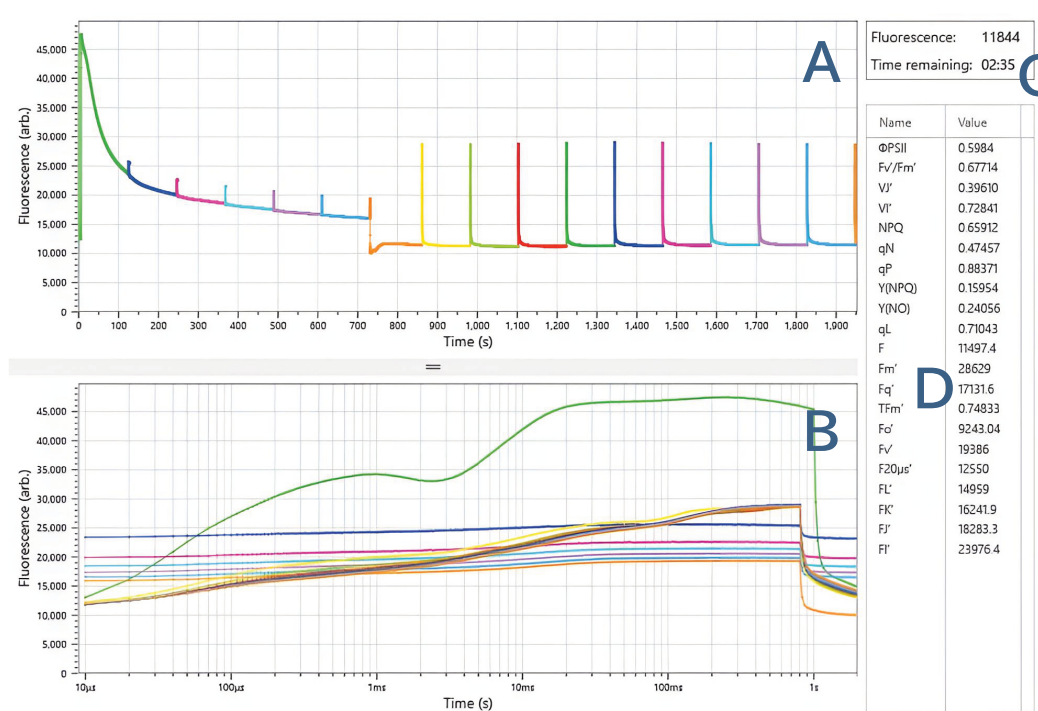


図14. データ取得画面は、低速蛍光成分と高速蛍光成分の2つのグラフ領域と、画面右側のパラメーターデータ表示領域に分かれています。

4.1.3.1.1. 上部のグラフ領域 – リアルタイムの蛍光信号

測定中、上部のグラフ(図14、A)の蛍光信号は、線形時間軸上にリアルタイムで低速蛍光成分を表示します。実験中、水平軸は継続的に再スケールされ、取得されたすべてのデータを表示します。

4.1.3.1.2. 下部のグラフ領域 – 高速蛍光信号

各飽和パルスについて、下部のグラフ(図14、B)には、パルス中に記録された高速蛍光データが対数時間軸上に表示されます。対数軸により、高速蛍光分析(OJIP)に関連する動態を視覚的に解釈できます。複数のパルスの場合、データは同じ軸上に重ねて表示されます。各パルスのトレースは、リアルタイムグラフの対応するデータの色に合わせて異なる色で表示されます。

4.1.3.1.3. データパネルメーター

データ収集画面の右側、最後の測定パラメーター表の上に、現在のライブ測定に固有の情報がデータパネルメーターに表示されます(図14、C)。表示されるデータは実行中のルーチンによって異なりますが、次のものが含まれます。

- 蛍光:現在の蛍光値(0.5秒間隔で更新)
- 有効PAR:ルーチンの設定に応じて、この値はFMS-300によって提供されるPAR設定、またはPTL-100リーフクリップのPARセンサーからの読み取り値(PTL-100がコントロールユニットに接続されている場合)のいずれかを表します。
- 温度:PTL-100リーフクリップの下側にあるセンサーから取得した葉の温度の読み取り値(PTL-100がコントロールユニットに接続されている場合)
- 残り時間:現在実行中のルーチンの残り時間(分と秒)。

選択したルーチンに応じて、パネルメーターには次のデータが表示されます。

- ルーチン 1 - 最大QY:蛍光値と残り時間
- ルーチン 2 - 有効QY:蛍光値、有効 PAR、葉温度、残り時間
- ルーチン 3 - 消光:蛍光値と残り時間
- ルーチン 4 - 光合成曲線:蛍光値、有効 PAR、残り時間
- ルーチン 5 - マルチ最大QY:蛍光値と残り時間
- ルーチン 6 - マルチ有効QY:蛍光値、有効 PAR、葉温度、残り時間

4.1.3.1.4. 最後の測定パラメータ

飽和パルスイベントごとに、蛍光測定から計算されたパラメーターがグラフ領域の右側の表に表示されます(図14、D)。複数の飽和パルスイベントがある実験では、パラメーター値のリストは各飽和パルスの後に更新されます。

4.1.3.2. パラメータ画面

現在の測定ルーチンが終了すると、各飽和パルスイベントに関連付けられたパラメーターがパラメーター画面に表示されます。クエンチングルーチンパラメーターセットの例を図15に示します。

File Settings Window Help										
Instrument Settings X Crataegus x prunifolia Quenching Blue.fms X										
Quenching Data acquisition Parameters										
Parameter	Pulse 1 1s Fv/Fm	Pulse 2 67s Actinic	Pulse 3 128s Actinic	Pulse 4 189s Actinic	Pulse 5 250s Actinic	Pulse 6 311s Actinic	Pulse 7 312s Far Red	Pulse 8 377s Dark	Pulse 9 438s Dark	Pulse 10 499s Dark
Ratiometric (dark-adapted sample) (5 items)										
Fv/Fm	0.834236									
Fv/Fo	5.03266									
Fo/Fm	0.165764									
VJ	0.519623									
VI	0.7808									
Ratiometric (light-adapted sample) (4 items)										
ΦPSII		0.264458	0.385306	0.441939	0.47164	0.490186		0.72348	0.710158	0.708162
Fv'/Fm'		0.678668	0.682086	0.686889	0.688271	0.689826	0.605786	0.77637	0.771058	0.768871
VJ'		0.594205	0.614497	0.601278	0.589113	0.58583		0.65512	0.66707	0.623634
VI'		0.860153	0.88276	0.908886	0.921477	0.931329		0.881183	0.833777	0.795929
Quenching: Puddle Model (3 items)										
NPQ		1.38283	1.34568	1.29408	1.27938	1.26289		0.449639	0.494293	0.512861
qN		0.658591	0.651437	0.641087	0.638045	0.634584		0.358022	0.381467	0.390792
qP		0.389672	0.564894	0.643391	0.685253	0.710594		0.931876	0.921018	0.921041
Quenching: Lake Model (Kramer) (4 items)										
ΦPSII		0.264458	0.385306	0.441939	0.47164	0.490186		0.72348	0.710158	0.708162
Y(NPQ)		0.426858	0.35264	0.3148	0.29656	0.284521		0.0857689	0.095876	0.0989335
Y(NON)		0.308684	0.262054	0.243261	0.2318	0.225203		0.100751	0.103066	0.102005

図15. パラメーター画面に表示されるクエンチングルーチンの結果

パラメーター画面は、飽和パルスイベントごとに明確に識別された列に値が表示される、分類されたパラメーターリストで配置されています。ルーチンごとに、各ルーチンの要件に応じて異なるパラメーターセットが表示されます。FMS-300によって計算されるすべてのパラメーターの包括的なリストは、FMS-300システムに付属のUSBドライブに含まれるパラメーター用語集に記載されています。

5. 測定ルーチン

FluoroControlは、従来の蛍光プロトコルをすべて網羅する6つの測定ルーチンを提供します。ルーチンの側面は、一連の簡単なユーザー入力から構成できます。すべてのルーチンで、FMS-300は、飽和パルスイベントごとに最大100kHzの取得周波数で高速蛍光データを記録し、光順応および暗順応サンプル状態の両方でPSII電子受容体の酸化還元状態を分析できるようにします。各測定ルーチンが完了すると、飽和パルスイベントごとに包括的なパラメーターセットが表示され、パラメータータブで表示できます(図15)。詳細については、[パラメーター画面のセクション](#)を参照してください。

以下のセクションでは、FMS-300で実験ルーチンを選択、設定、実行するための「how-to」ガイドを提供します。各ルーチンの背後にある理論のより詳しい説明は、測定されたパラメーターの包括的な説明とともに、FMS-300パラメーター用語集に記載されています。パラメーター用語集は、FMS-300システムに付属のUSBドライブに含まれています。

5.1 ルーチン1:最大QY

暗順応サンプルからFv/FmおよびOJIP分析関連パラメーターの測定値を提供します。Fv/Fmは、PSII光化学の最大量子収率/効率を特徴付ける基本パラメーターであり、葉の「ストレス」を測定する最も一般的な手法の1つとして広く使用されています(MurchieおよびLawson 2013年)。

Fv/FmはPSIIの全体的な健全性を評価するのに有用で広く使用されているパラメーターですが、OJIP分析は光合成反応に関する時間的および運動学的情報を提供することでさらに一歩進んでいます。植物が環境条件やストレス要因にどのように適応し反応するかをより詳細に把握できるため、研究にとって貴重なツールとなり、光合成のダイナミクスを理解するためのより正確な診断ツールとなります。

5.1.1 暗順応サンプル



サンプルの暗順応時間に関する一般原則は存在し、文献で広く使用されています。ただし、NPQコンポーネントが完全に緩和するのにかかる時間は微妙であり、いくつかの要因に依存します。適切な実験設計のためには、適切な暗順応時間を定義する際に、サンプル、暗緩和に影響を与える要因、および研究の要件を理解することが重要です。

Fv/Fmを測定する際によくある質問は、「サンプルをどのくらい暗順応させるべきか」です。一般的な原則としては、ほとんどのサンプルでは暗闇で15～30分(Xia et al, 2023年)あれば十分です。ただし、実際には、必要な時間はより微妙です。暗順応時間は一般的な原則よりも短くなる場合も長くなる場合もあり、いくつかの異なる変数に依存します。

- サンプルの種類

サンプルの種類によって、暗順応の速度は異なります。

- 光履歴

測定前の数時間に強い光または連続光にさらされたサンプルは、より長い暗順応時間が必要になる場合があります。強い光または連続光条件では、非光化学的消光(NPQ)成分がアクティブになります。NPQの3つの成分のうち、高エネルギーおよび状態遷移に関連するNPQは、暗闇で10～30分以内に元に戻ります。光阻害に関連するNPQは、大幅に長くかかる場合があります(最大60時間、[Lichtenthaler 2004年](#))。逆に、弱い光または暗い条件にさらされたサンプルは、NPQの影響が小さいため、暗順応が速くなります。

- ストレス

サンプルが生物的または非生物的ストレス条件下にある場合、暗順応時間が影響を受ける可能性があります。暗順応に必要な時間は、研究材料のさまざまな代表サンプルで暗順応期間が異なるFv/Fmを測定することで実験的に決定できます。最適な暗順応とは、暗順応が長くなってもFv/Fmが増加しない最短時間です。図16のグラフでは、これは約30～35分になります。

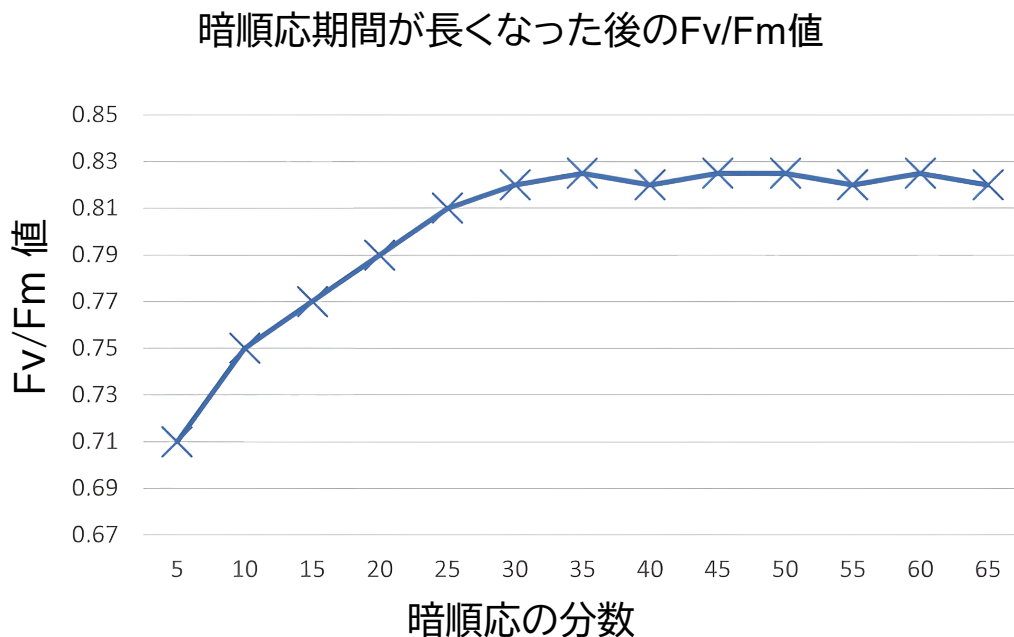


図16. 上記の結果グラフでは、暗順応時間35分後もFv/Fm値はそれ以上増加しません。したがって、この特定のサンプルでは、35分が必要な暗順応時間です。

5.1.2 最大QY設定

5.1.2.1. 推奨光学アクセサリ

Fv/Fmは、完全に暗順応したサンプルから測定する必要があります。したがって、可能な場合は暗順応リーフクリップの使用をお勧めします。暗順応クリップを使用できないサンプル(液体、地衣類、果物、サボテンなど)の場合は、代替の暗順応方法を使用する必要があります。サンプルは暗色の布で覆うか、暗い部屋で測定できます。

5.1.2.2. 暗遅延

この設定により、最初の飽和パルスイベントの前に暗順応期間を定義できます。

測定LEDの強度が高くなっても暗順応が影響を受けないように、これを最小の0.1秒に設定します。測定LEDからの400nsパルス1つが、飽和照明の開始前の F_0 パラメータ値として使用されます。暗順応状態で蛍光信号が減少して安定するのを観察したい場合は、より長い暗遅延期間を定義できます。その場合、測定LEDの強度が化学線でないことが重要です。詳細については、[測定LED設定](#)のセクションを参照してください。

5.1.2.3. パルス強度

サンプル表面での飽和パルスの強度($\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)。強度は、暗順応サンプル(F_m)から最大蛍光の正確な値を得るために、PSII反応中心を完全に還元できるほど十分に高くなければなりません。

高速蛍光速度論を研究する際には、より高い光強度や青色光の影響を考慮することが重要です。ほとんどの暗順応サンプルでは、 $3,500 \sim 5,000 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ の強度の赤色光で、PSII反応中心を完全に還元し、 F_m を正確に測定できます。これは、暗順応によってNPQ成分がシャットダウンされ、吸収された光がすべて光化学活性または蛍光発光によって消光されるためです。

実験が飽和パルスイベント中の高速蛍光反応速度(OJIP)を調べるように設計されている場合、高光強度および/または青色光が高速反応速度の光化学相(O - J)にどのように影響するかを考慮することが重要です。高光強度と青色光はどちらも一次電子受容体QAを一時的により速く減少させ、 M_0 パラメータで表されるPS II閉鎖の正味速度を増加させます(Tsimilli-Michael 2020年)。これにより、より早く、より高い振幅のJstep(1 - 2 ms)が発生します。

青色光子は赤色光子よりもエネルギーが大きく、葉に吸収される。青色光子は葉緑体のクロロフィルa/b比が上昇している葉表面の最初の $150 \mu\text{m}$ で吸収されます。青色光は黄色カロテノイドとクロロフィルaおよびbの両方に吸収されますが、赤色光子はクロロフィルにのみ吸収されます。これは、集光複合体内のアンテナ色素による青色光エネルギーの吸収が大きいことを意味します(Padhi 他、2021年)。

従来のOJIP分析(Strasser et al、2000年およびStrasser et al、2004年に発表)は、 $3,500 - 5,000 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ の強度の赤色光を使用して実施されたため、より高い光強度または青色光を使用する場合は、解釈中にこの点に留意する必要があります。

使用可能な最小および最大の強度設定は、ユーザー入力の下括弧内に表示されます。これらの値は、現在選択されている光学アクセサリによって異なります。

5.1.2.4. パルス幅(秒)

飽和パルスの持続時間(秒)。使用可能な最小および最大のパルス幅設定は、ユーザー入力の下括弧内に表示されます。ここで定義される値は、必要な結果の種類によって大きく異なります。 F_v/F_m (PSIIの最大光化学効率)の場合、0.8 ~ 1秒のパルス幅が推奨されます。飽和パルスが0.8秒より短い場合、一部のサンプルではこの時間内に F_m に到達できず、多くの関連パラメータで計算エラーが発生するリスクがあります。実験の目的がJstep(FJ)でのQAの減少率を調べることである場合、FJは1 ~ 2ミリ秒で発生するため、0.1秒のパルス幅で十分です。

5.1.2.5. 暗緩和(分)

暗緩和を有効にすると、ユーザー入力で選択した分数に応じて、特定の時間にさらに飽和パルスが提供されます。これらのパルスにより、最初の飽和パルスによってトリガーされたNPQプロセスの緩和速度を観察できます。さまざまな設定により、次のパルスが提供されます。

- 0：暗緩和パルスなし。ルーチンは最大QY測定 of 完了時に終了します。
- 1：最大QY測定後、30秒および1分間の暗闇の後にパルスを発します。
- 2：最大QY測定後、30秒、1分、2分間の暗闇の後にパルスを発します。
- 5：最大QY測定後、30秒、1分、2分、5分間の暗闇の後にパルスを発します。
- 10：最大QY測定後、30秒、1分、2分、5分、10分間の暗闇の後にパルスを発します。

暗緩和パルス中には高速蛍光データも取得されます。これにより、サンプルが完全に光順応した状態から再び暗順応した状態に移行する際の、電子伝達チェーン内のさまざまな電子受容体の酸化還元状態を示す興味深いデータが得られます。

5.2 ルーチン2:有効QY

ΦPSII パラメーター(別名 $Y[\text{II}]$ 、 F_q'/F_m' 、 $\Delta F/F_m'$)の測定値を提供します。これは、安定した周囲光条件下での光合成の定常状態におけるPSII光化学の有効量子収率を示します。これは、光の中でのPSIIの動作効率の正確な指標であることが示されており(Murchie & Lawson, 2013年)、光化学で使用されるPSII 関連クロロフィル分子によって吸収される光の割合を示します。 ΦPSII はPSII光化学の量子収率であるため、PSIIを介した線形電子伝達を計算するために使用でき、したがって全体的な光合成能力の指標となります(Maxwell & Johnson 2000年)。

ΦPSII は、 F_v/F_m 値が類似するサンプルの比較パラメーターとしてのみ適用する必要があります。さらに、サンプルが同等の周囲光条件下にあることが重要です。光合成速度は、周囲光条件の変化に応じて変化し、3つの競合プロセス(光化学、NPQ、蛍光)はそれぞれ、周囲光条件の安定性に応じて流動状態にあります。

周囲の光環境の変化に続いて、典型的な植物は約15~20分以内に定常光合成速度に達しますが、これは植物種によって大きく異なります(Johnson et al, 1990年)。定常状態とは、3つの競合するプロセスのそれぞれが特定のレベルで安定することを意味します。クロロフィル蛍光実験では、定常状態は、一定の化学光の下で蛍光信号がプラトーまたは「平坦な線」に達したときに観察されます。 ΦPSII の測定に関する詳細は、FMS-300パラメータ用語集に記載されています。

5.2.1 有効なQY設定

5.2.1.1. 推奨される光学アクセサリー

ΦPSII は、定常光合成状態のサンプルから測定する必要があり、光学アクセサリーの選択は実験の要件によって異なります。たとえば、実験室または温室環境で外部LEDパネルから提供される光がある状態でサンプルを測定したい場合は、PTL-100オープンリーフクリップを選択して、測定中にサンプルが外部光にさらされるようにする必要があります。定常光合成を実現するためにFMS-300から直接光を使用する場合は、PTL-100または暗順応リーフクリップのいずれかを使用できます。この場合、暗順応リーフクリップを使用すると、サンプルがルーチンで定義された量の光を受け、外部または周囲の照明の累積的な影響を受けないようにすることができます。

5.2.1.2. 事前調整

この設定により、サンプルは、特定の周囲光/化学光条件下で定常光合成を達成できます。このオプションは、実験の要件に応じて3つの異なるシナリオに設定できます。

- 無効

サンプルがすでに光合成の定常状態にあり、測定前にそれ以上の介入が必要ない場合は、このオプションを使用します。

- 周囲光

外部の周囲光または化学線光を使用して定常光合成を達成する場合は、このオプションを選択する必要があります。たとえば、実験室または温室環境で自然光または照明パネルによって提供される光の下で測定します。このオプションを選択すると、飽和パルスイベントの前に外部光への露出時間を定義できます。この事前調整期間中に蛍光信号が記録され、プロットされ、定常光合成（信号プラトーまたは「フラットライン」で示される）に到達したことが確認されます。定常状態を達成するために必要な時間は、サンプルの種類と光の履歴によって異なりますが、一般的な原則として、外部照明の開始から15～20分で十分です(Johnson et al, 1990年)。

- アクチニック

このオプションを選択すると、FMS-300をアクチニック光源として使用して定常光合成を実現できます。このオプションでは、ユーザーは FMS-300によって照射される光の持続時間と強度($\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)を設定できます。アンビエント設定オプションと同様に、定常光合成に到達したことを確認するために、この事前調整期間中に蛍光信号が記録され、プロットされます。

5.2.1.3. パルス強度

飽和パルスの強度($\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)。ΦPSII測定に十分な飽和光強度を選択するための一般的な原則は、暗順応サンプルからのFv/Fm測定の場合と同じです。飽和パルスは、最大蛍光値(光順応サンプルではFm' と表記)を達成するために一時的にQAを低下させるのに十分な明るさでなければなりません。

光合成が光に順応した定常状態にある場合、QAの完全な減少を達成するために必要な光強度は、光に順応したサンプル状態で活性なNPQ成分の寄与により、暗順応したサンプルの場合よりも大幅に高くなります。

ほとんどのサンプルでは、利用可能な最高の光強度を使用することが推奨されますが、要件はサンプルの種類によって異なります。

2013年にLoriauxらによって最初に発表された研究で、高飽和光強度下でもQAの完全な還元が達成されない可能性があることがわかったことは注目に値します。PSIIプラストキノン(PQ)アクセプタープールの急速なターンオーバーにより、蛍光の一部が消光され、QAの完全な還元が妨げられると考えられています。これにより、真のFm' が過小評価される可能性が生じます。

5.2.1.4. パルス幅(秒)

飽和パルスの持続時間(秒)。使用可能な最小および最大のパルス幅設定は、ユーザー入力の下括弧内に表示されます。パルス幅は0.8～1秒が推奨されます。飽和パルスが0.8秒より短い場合、一部のサンプルではこの時間内にFm' に到達できず、多くの関連パラメーターで計算エラーが発生するリスクがあります。

5.2.1.5. ETRのPFDa

原則として、PSII動作効率(Φ PSII)と線形電子フラックスの間には線形関係があるため、 Φ PSIIを使用してPSIIを介した非循環電子輸送速度(ETR)を推定できます(Baker 2008年)。ETRという命名法で示されるパラメーターは、次のように計算されます。

$$ETR = \Phi\text{PSII} \times \text{PAR} \times \text{PFDa} \times \text{fractionPSII}$$

PFDaは、葉の表面で受けた入射光の量を指し、その光はアンテナ色素によって吸収されます。この値は、多くの場合、0.84、つまり入射光の84%であると想定されます。

この仮定は、多くの成熟した緑の葉には妥当かもしれませんが(Baker 2008年)、常に当てはまるわけではなく、この値から大きく逸脱することが頻繁に起こります(Ehleringer 1991年、Hodanova 1985年、Jones 1992年)。

ETRを最も正確に推定するには、光合成を駆動するために使用される光源と同様の光源と分光放射計または量子センサーを備えた積分球を使用してPFDaを測定する必要があります(Baker 2008年)。得られた値は、FluoroControlソフトウェアのETRユーザー入力用のPFDaに入力できます。

5.2.1.6. ETRのFraction_{PSII}

上記のPFDaと同様に、fraction_{PSII}の値は多くの場合仮定値であり、ここでは0.5です(Baker 2008年)。この値は、PSIアンテナに対するPSIIアンテナによって遮断された吸收入射光の割合を表します(Murchie and Lawson 2013年)。fractionPSIIの0.5の値は葉に対して推定されていますが、多くの場合正確ではない可能性があります(Baker 2008年)。手順は単純ではなく、多くの仮定が関係します(Laisk et al 1996年、Laisk et al 2006年、Miyake et al 2004年)。

もう1つの問題は、多くの種の葉がアントシアニンなどの非光合成色素を蓄積し、PFDaだけでなく分画PSIIも著しく変化させることです。これは、葉が成長中に環境ストレスを受ける場合によく発生します(Baker 2008年)。

すべてを考慮すると、各光合成系による光の実際の使用割合を正確に定量化することは非常に困難であり、そのため、既知の値がない場合には0.5という仮定値の使用が頻繁に使用されます(Murchie および Lawson 2013年)。

5.3 ルーチン3:消光

このルーチンは、Baker 2004年で定義されたプロトコルに基づいて完全な消光分析を実行するために使用されます。消光ルーチンでは、3つの個別のコンポーネントを分析できます：

- 暗順応サンプルからの最大光化学効率
- 非光化学消光コンポーネント
- 非光化学消光のサブコンポーネントの寄与

非光化学的消光(NPQ)という用語は、光合成膜内部で発生する、光化学的起源ではないプロセスを指します(Ruban 2016年)。つまり、プロセスは光のみに依存したり、光のみによって駆動されるものではありません。NPQは動的で迅速に反応するプロセスであり、光合成生物が変化する光条件に適応するのに役立ちます。NPQは、光合成機構を過度の光による損傷から保護しながら、光合成を最適化するのに役立ちます。光合成のために光を捕らえることと、NPQを通じて余分なエネルギーを安全に消散させることの間のこのバランスは、光合成生物の全体的な健康と生存にとって非常に重要です。



NPQに関連するパラメータは、暗順応状態に対する熱放散の変化の測定値であることに注意することが重要です。暗順応Fmがより高い値である状況では、同じ熱放散の増加は消光の増加が少なくなるという特徴があります。異なる光履歴を持つ葉や異なる種の葉を直接比較すると、あいまいになることがあります。一般的に、異なるFv/Fmを持つサンプルのNPQを直接比較することは避けるべきです(Maxwell and Johnson 2000)

5.3.1 消光設定

5.3.1.1. 推奨される光学アクセサリ

消光ルーチンでは、非光化学活性を計算するための基準点としてFv/Fmの初期測定が必要です。Fv/Fmは完全に暗順応したサンプルから測定する必要があるため、可能な場合は暗順応リーフクリップの使用をお勧めします。暗順応クリップを使用できないサンプル(液体、地衣類、果物、サボテンなど)の場合は、代替の暗順応方法を使用する必要があります。サンプルは暗色の布で覆うか、暗室で測定できます。

5.3.1.2. 暗期遅延

この設定により、最初の飽和パルスイベントの前に暗期順応期間を定義できます。測定LEDの強度が高くなっても暗期順応が影響を受けないように、この値を最小の0.1秒に設定します。飽和照明の開始前に、測定LEDからの400nsパルスが1つFoパラメータ値として使用されます。蛍光信号が暗期順応状態で減少して安定するのを観察したい場合は、暗期遅延期間を長く定義できます。その場合、測定LEDの強度が化学線でないことが重要です。詳細については、測定LED設定のセクションを参照してください。

5.3.1.3. Fv/Fmパルス強度($\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)

暗順応Fv/Fm値を捕捉するために必要なサンプル表面での飽和パルスの強度。Baker 2008年によると、このパルス(および実験の化学緩和段階と暗緩和段階におけるその後のすべての飽和パルス)は $6,000 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ を超える必要があります。暗順応サンプル(Fm)からの最大蛍光の正確な値を得るには、強度がPSII反応中心を完全に還元できるほど高くなければなりません。

高速蛍光速度論を研究する際には、より高い光強度や青色光の影響を考慮することが重要です。ほとんどの暗順応サンプルでは、 $3,500 \sim 5,000 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ の強度の赤色光で、PSII反応中心を完全に還元し、Fmを正確に測定できます。これは、暗順応によってNPQ成分がシャットダウンされ、吸収された光がすべて光化学活性または蛍光発光によって消光されるためです。

実験が飽和パルスイベント中の高速蛍光反応速度(OJIP)を調べるように設計されている場合、高光強度および/または青色光が高速反応速度の光化学相(O - J)にどのように影響するかを考慮することが重要です。高光強度と青色光はどちらも一次電子受容体QAを一時的により速く減少させ、Moパラメーターで表されるPS II閉鎖の正味速度を増加させます(Tsimilli-Michael 2020年)。これにより、より早く、より高い振幅のJstep(1 - 2ミリ秒)が発生します。

青色光子は赤色光子よりもエネルギーが大きく、葉に吸収されます。青色光子は葉緑体のクロロフィルa/b比が上昇している葉表面の最初の150 μm で吸収されます。青色光は黄色カロテノイドとクロロフィルaおよびbの両方に吸収されますが、赤色光子はクロロフィルにのみ吸収されます。これは、集光複合体内のアンテナ色素による青色光エネルギーの吸収が大きいことを意味します(Padhi 他、2021年)。

従来のOJIP分析(Strasser et al, 2000年およびStrasser et al, 2004年)は、3,500~5,000 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ の強度の赤色光を用いて実施されたため、より高い光強度または青色光を用いる場合は、解釈の際にこの点に留意すべきです。

3つの位相における飽和パルスの強度は、すべて独立して定義することができます。従って、最初のFv/Fm測定の場合は、必要であれば放射相および暗緩和相よりも低く設定することができます。この場合、Fv/FmパルスがPSII反応中心を完全に還元するのに十分な高さであることを確認することが重要です。

利用可能な最小および最大強度設定は、ユーザー入力の下括弧内に示されています。これらの値は、現在選択されている光学アクセサリによって異なります。

5.3.1.4. Fv/Fmパルス幅

Fv/Fm飽和パルスの持続時間(秒)。設定可能な最小パルス幅と最大パルス幅は、ユーザー入力の下括弧内に示されています。パルス幅は0.8~1秒を推奨します。飽和パルスが0.8秒より短いと、サンプルによってはこの時間内にFmに到達せず、多くの関連パラメーターの計算エラーにつながる危険性があります。

5.3.1.5. Fv/Fmパルス後の遅延

パルス後の遅延設定は、最初の暗順応飽和パルスの終了から光照射開始までの時間を秒単位で定義します。この設定は、ルーチンの光照射および暗弛緩段階全体の設定とともに、慎重な検討が必要です。設定が異なると、報告されたパラメーターに大きなばらつきが生じます。

暗順応パルスの終了から光照射開始までの時間が長いと、試料が再暗順応を始めるため、初期のNPQ測定値は低くなります。2つの光イベント間の時間が短いほど、実験の光照射フェーズにおける最初のパルスのNPQ値は高くなります。NPQパラメーターと、これらの設定が値にどのような影響を与えるかについての知識がなければ、NPQ誘導動態の厳密なモデル解釈は困難です(Nies et al 2021年)。

5.3.1.6. 光強度 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$

この設定は、実験の光照射段階においてFMS-300が試料表面に照射する光強度を決定します。活性相の目的は、定常状態の蛍光発光を得るのに十分な時間、適度な速度で光化学を促進することです。この段階は、NPQの誘導動力学を導き出すことができる、いくつかの等間隔飽和パルスで挟まれます。

強度は、光化学反応を促し、NPQ成分を誘発するのに十分な明るさでなければなりません。サンプルが光飽和するほど明るすぎるとはいけません。したがって、使用する強度は、サンプルとその光学特性に大きく依存します。Baker 2004年では、消光モデルは、 $685 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ の化学線強度を示唆しました。この設定は、一部のサンプルではNPQの明確な速度論を導き出すのに十分かもしれませんが、他の種では、この設定が飽和するか、逆に不十分である可能性があります。したがって、実験設計段階で設定を実験し、実験結果を適切に分析できるようにすることが重要です。

5.3.1.7. アクチニック相パルスカウント

クエンチング実験のアクチニック相内の飽和パルスイベントの数を定義します。NPQ、 ΦPSII 、ETRに関連するパラメーターを含むパラメーターが各飽和パルスに対して計算されます。

高速蛍光データも、各飽和パルス中に取得され、さまざまなパラメーターが計算されます。これにより、一定の化学線照射下で葉が暗順応状態から完全に明順応状態に移行する際の、電子伝達チェーン内のさまざまな電子受容体の酸化還元状態に関する興味深い詳細が得られます。

光に順応した定常光合成状態を完全に達成するには、適切なパルス間隔(以下を参照) 組み合わせた十分な数のパルスを定義する必要があります。

5.3.1.8. アクチニック位相パルス間隔(秒)

サンプルが定義されたアクチニック光条件下にある間の飽和パルス間の時間間隔を定義します。一般的な原則として、多くの研究グループでは、この設定に30秒、60秒、または120秒の間隔を使用しています(Nies et al 2021年)。

5.3.1.9. アクチニック相パルス強度($\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)

実験のアクチニック相における飽和パルスのサンプル表面での強度($\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)。飽和パルスは、QAを一時的に低下させて最大蛍光値(光順応サンプルでは F_m' と表記)を達成できるほど十分に明るい必要があります。

光合成が光に順応した定常状態にある場合、 Q_A の完全な減少を達成するために必要な光強度は、光に順応したサンプル状態で活性なNPQ成分の寄与により、暗順応したサンプルの場合よりも大幅に高くなります。ほとんどのサンプルでは、利用可能な最高の光強度を使用することが推奨されますが、要件はサンプルの種類によって異なります。

2013年にLoriauxらが最初に発表した研究では、高飽和光強度下でもQAの完全な還元が達成されない可能性があることがわかったことは注目に値します。PSIIプラストキノン(PQ)アクセプタープールの急速なターンオーバーにより蛍光の一部が消光され、QAの完全な還元が妨げられると考えられています。これにより、真の F_m' が過小評価される可能性が生じます。

5.3.1.10. アクチニック相パルス幅(秒)

飽和パルスの持続時間(秒)。使用可能な最小および最大パルス幅設定は、ユーザー入力の下括弧内に表示されます。パルス幅は0.8~1秒が推奨されます。飽和パルスが0.8秒より短い場合、一部のサンプルではこの時間内に F_m' に到達できず、多くの関連パラメーターで計算エラーが発生するリスクがあります。

5.3.1.11. ETRのPFDa

原則として、PSII動作効率(Φ PSII)と線形電子フラックスの間には線形関係があるため、 Φ PSIIを使用してPSIIを介した非循環電子伝達速度(ETR)を推定できます(Baker 2008年)。ETRという命名法で示されるパラメーターは、次のように計算されます。

$$\text{ETR} = \Phi\text{PSII} \times \text{PAR} \times \text{PFDa} \times \text{fraction}_{\text{PSII}}$$

PFDaは、葉の表面で受け取られ、アンテナ色素によって吸収される入射光の量を指します。この値は、多くの場合、0.84、つまり入射光の84%であると想定されます。この想定は、多くの成熟した緑の葉には妥当かもしれませんが(Baker 2008年)、常にそうであるとは限らず、この値から大きく逸脱することがよくあります(Ehleringer 1991年、Hodanova 1985年、Jones 1992年)。ETRを最も正確に推定するには、光合成を駆動するために使用される光源と同様の光源と分光放射計または量子センサーを備えた積分球を使用してPFDaを測定する必要があります(Baker 2008年)。結果の値は、FluoroControlソフトウェアのETRユーザー入力用のPFDaに入力できます。

5.3.1.12. ETRのFraction_{PSII}

上記のPFDaと同様に、fraction_{PSII}の値は多くの場合仮定値であり、ここでは0.5です(Baker 2008年)。この値は、PSIアンテナに対するPSIIアンテナで遮断された吸收入射光の割合を表します(Murchie and Lawson 2013年)。fractionPSIIの0.5の値は葉に対して推定されていますが、多くの場合正確ではない可能性があります(Baker 2008年)。手順は単純ではなく、多くの仮定が関係しています(Laisk et al 1996年、Laisk et al 2006年、Miyake et al 2004年)。もう1つの問題は、多くの種の葉がアントシアニンなどの非光合成色素を蓄積し、PFDaだけでなくFraction_{PSII}も著しく変更する可能性があることです。これは、葉が成長中に環境ストレスを受ける場合によく起こります(Baker 2008年)。すべてを考慮すると、各光合成系による光の使用の実際の割合を正確に定量化することは非常に困難であり、そのため、既知の値がない場合には、0.5という仮定値の使用が頻繁に使用されます(Murchie および Lawson 2013年)。

5.3.1.13. 遠赤色光パルス強度($\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)

サンプル表面での遠赤色光パルスの強度。実験の化学反応段階の終了時に、化学反応光はオフになります。遠赤色光のパルスはFMS-300によって照射され、Fo' パラメーターで示される最小蛍光レベルを測定できます。光に順応した葉でこれを正確に得るには、PSII反応中心を完全に酸化する必要があります。これは遠赤色光のパルスを使用して実現されます(Murchie および Lawson 2013年)。

状況によっては、遠赤外線パルスではPSII反応中心を完全に再酸化するのに十分でない場合があります。さらに、NPQは部分的に緩和する可能性があるため、Fo' の過大評価が発生する可能性があります(Baker 2008年)。FMS-300ではFo' を計算する追加の方法が使用されるため、測定されたFo' または計算されたFo' のいずれかをパラメーターの前方計算に使用できます。OxboroughとBaker(1997年)が提案した式は次のとおりです。

$$\text{Fo}' = \text{Fo} / [(\text{Fv}/\text{Fm}) + (\text{Fo}/\text{Fm}')]]$$

遠赤色パルスとそれに続く遠赤色光下でのFo' の測定の前に、上記のBakerおよびOxborough(1997年)の式に従って計算されたFo' を使用して、Fo' 値を必要とする関連パラメーターが提示されます。計算されたFo' を使用するパラメーターには、接尾辞(c)が付きます。遠赤色光下でのFo' が取得されると、測定されたFo' を使用して計算された別のパラメーターセットが提示されます。これらのパラメーターは、接尾辞(m)で示されます。このように、FMS-300では、測定されたFo' 値と計算されたFo' 値の両方を使用するパラメーターを比較できます。

5.3.1.14. 遠赤外パルス幅

Fo' 値を測定するときの遠赤外パルスの持続時間を設定します。

5.3.1.15. 暗緩和フェーズパルス数

消光実験の暗緩和フェーズ内の飽和パルスイベントの数を定義します。NPQ、ΦPSII、ETRに関連するパラメーターを含むパラメーターは、各飽和パルスに対して計算されます。暗緩和パルス中に高速蛍光データも取得されます。これにより、サンプルが完全に光順応状態から再暗順応状態に移行するときに、電子伝達チェーン内のさまざまな電子受容体の酸化還元状態を示す興味深いデータが得られます。暗緩和速度論を分析するために、適切なパルス間隔(以下を参照)と組み合わせた十分な数のパルスを定義する必要があります。

5.3.1.16. 暗緩和フェーズパルス間隔 (秒)

これは、実験の暗緩和フェーズ中の飽和パルス間の時間間隔を秒単位で定義します。一般的な原則として、多くの研究グループでは、この設定に30秒、60秒、または120秒の間隔を使用しています(Nies et al 2021年)。

5.3.1.17. 暗緩和相パルス強度($\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)

実験の暗緩和相におけるサンプル表面の飽和パルスの強度($\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)。飽和パルスは、 Q_A を一時的に低下させて最大蛍光値(光順応サンプルでは F_m' と表記)を達成できるほど十分に明るい必要があります。葉が高光条件にさらされると、 Q_A の完全な減少を達成するために必要な光強度は、化学線照明がオフになっている間も一定期間活性状態を維持するNPQ成分の寄与により、暗順応サンプルの場合よりも大幅に高くなります。ほとんどのサンプルでは、利用可能な最高の光強度を使用することが推奨されますが、要件はサンプルの種類によって異なります。

2013年にLoriauxらによって最初に発表された研究で、高飽和光強度下でも Q_A の完全な還元が達成されない可能性があることがわかったことは注目に値します。PSIIプラストキノン(PQ)アクセプタープールの急速なターンオーバーにより、蛍光の一部が消光され、 Q_A の完全な還元が妨げられると考えられています。これにより、真の F_m' が過小評価される可能性が生じます。

5.3.1.18. 暗緩和相パルス幅(秒)

飽和パルスの持続時間(秒)。使用可能な最小および最大パルス幅設定は、ユーザー入力の下括弧内に表示されます。パルス幅は0.8~1秒が推奨されます。飽和パルスが0.8秒より短い場合、一部のサンプルではこの時間内に F_m' に到達できず、多くの関連パラメーターで計算エラーが発生するリスクがあります。

5.4 ルーチン4:光合成曲線

光合成曲線ルーチンを使用すると、強度が増す一連の化学線照射期間の電子伝達速度(ETR)パラメーターを分析できます。実験の最後に、FluoroControlはETRとPPFDをプロットし、最大ETR(ETRmax)や最小飽和放射照度(Ek)などのパラメーターを計算します。ユーザーは暗緩和分析を有効にすることができます。暗緩和分析では、化学線照射をオフにすると最大5つの追加の飽和パルスが実行されます。これにより、非光化学的消光の暗緩和誘導速度を分析できます。

飽和パルスイベントごとに高速蛍光データも取得されるため、実験中に光強度が増加するにつれて、電子伝達チェーン内のさまざまな電子受容体の酸化還元状態を調べることができます。

FMS-300は、ユーザーが定義した光ステップの期間に応じて、高速光曲線(RLC)手法またはより伝統的な定常光曲線(SSLC)手法のいずれかを使用して光合成実験を実行できます。

5.4.1 光合成曲線の設定

5.4.1.1. 推奨光学アクセサリ

迅速な光曲線に基づくルーチンは、通常、10秒以内の初期準暗期から始まります(下記参照)。したがって、これらの実験には暗順応リーフクリップを使用することをお勧めします。

SSLCの場合、オープンフェイスのPTL-100を使用すると、暗順応期間を必要とせずに、以前の光履歴に基づいて光応答を測定できます。ただし、SSLC実験中にNPQ動態も対象とする場合は、暗順応したサンプルを使用してFv/Fmの初期測定を行う必要があるため、暗順応リーフクリップを使用する必要があります。

5.4.1.2. ETRのPFDa

原理的には、PSII動作効率(Φ_{PSII})と線形電子フラックスの間には線形関係があるため、 Φ_{PSII} を使用してPSIIを介した非循環電子伝達速度(ETR)を推定できます(Baker 2008年)。ETRという命名法で示されるパラメーターは、次のように計算されます：

$$ETR = \Phi_{PSII} \times PAR \times PFDa \times fraction_{PSII}$$

PFDaは、葉の表面で受けた入射光の量を指し、その光はアンテナ色素によって吸収されます。この値は、多くの場合、0.84、つまり入射光の84%であると想定されます。この想定は、多くの成熟した緑の葉には妥当かもしれませんが(Baker 2008年)、常に当てはまるとは限らず、この値から大きく逸脱することがよくあります(Ehleringer 1991年、Hodanova 1985年、Jones 1992年)。

ETRを最も正確に推定するには、光合成の駆動に使用される光源と同様の光源と分光放射計または量子センサーを備えた積分球を使用してPFDaを測定する必要があります(Baker 2008年)。結果の値は、FluoroControlソフトウェアのETRユーザー入力用のPFDaに入力できます。

5.4.1.3. ETR の Fraction_{PSII}

上記のPFDaと同様に、fraction_{PSII}の値は多くの場合仮定値であり、ここでは0.5です(Baker 2008年)。この値は、PSIアンテナに対するPSIIアンテナで遮断された吸收入射光の割合を表します(Murchie and Lawson 2013年)。fraction_{PSII}の0.5の値は葉に対して推定されていますが、多くの場合正確ではない可能性があります(Baker 2008年)。手順は単純ではなく、多くの仮定が関係しています(Laisk et al 1996年、Laisk et al 2006年、Miyake et al 2004年)。もう1つの問題は、多くの種の葉がアントシアニンなどの非光合成色素を蓄積し、PFDaだけでなくFraction_{PSII}も著しく変更する可能性があることです。これは、葉が成長中に環境ストレスを受ける場合によく起こります(Baker 2008年)。すべてを考慮すると、各光合成系による光の使用の実際の割合を正確に定量化することは非常に困難であり、そのため、既知の値がない場合には、0.5という仮定値の使用が頻繁に使用されます(Murchie および Lawson 2013年)。

5.4.1.4. 暗期遅延

この設定により、最初の飽和パルスイベントの前に暗順応期間を定義できます。高速光曲線実験は通常、10秒以内の初期準暗期間で開始されます。これにより、非光化学消光係数を大幅に緩和することなく、一次電子受容体(Q_A)の急速な再酸化が可能になります(Schreiber, 2004年)。これは、たとえば高速クロロフィル蛍光誘導の測定で使用される、数分以上の延長された完全な暗順応期間とは対照的です。完全な暗順応では、明暗反応が不活性になり、光合成系の完全な再酸化につながります(Rascher et al, 2000年)。PSIとPSIIの完全な再酸化が発生した場合、RLCプロトコルの照明は誘導効果を持ち、データの解釈がより複雑になります。

5.4.1.5. アクチニック ステップの持続時間(秒)

光合成曲線中のアクチニック照明の各期間の持続時間を秒単位で設定します。設定する値は、必要な光曲線実験の種類によって異なります。SSLC実験の場合、持続時間は、各アクチニックステップで定常蛍光が達成されるのに十分な長さでなければなりません。

RLCベースの実験では、その逆が必要です。蛍光は定常状態に達してはなりません。RLC実験で推奨される持続時間は、各アクチニックステップで10秒です(White and Critchley 1999年)。10秒を超える持続時間も使用できますが、30秒未満にする必要があります(Houliez et al 2017年)。

5.4.1.6. 光ステップ数

光ステップ数と各ステップで使用する強度を定義します。光ステップ数は、ドロップダウンユーザーインターフェイスから選択します。選択できる値は8~12ステップです。このユーザーインターフェイスの下には、選択した光ステップ数を反映した行数でライトテーブルが表示されます(図17)。

各アクチニックステップの強度は、最初はデフォルト値で事前入力されています。これらの値は、実験に合わせてカスタムのアクチニック強度設定で手動で上書きできます。強度設定ボックスをゆっくりダブルクリックすると、値を編集できるようになります。強度の理想的な設定では、以下のセクション5.4.1.9で説明されている光制限領域、光飽和領域、光抑制/ダウンレギュレーション領域のそれぞれに複数のデータポイントが生成されます。

低光条件下でより効率的に光合成するサンプルの場合、光制限領域でより多くのデータポイントを測定する(つまり、より低い光強度でより多くのステップを測定する)と、 α パラメーターのより正確な推定値が得られます。サンプルが高光耐性の場合、光飽和領域および光阻害領域でより多くのデータポイントを測定する(つまり、より高い光強度でより多くのステップを測定する)と、より興味深い結果が得られます。

Number of actinic steps:

8 ▾

Step	Intensity
1	10
2	25
3	50
4	100
5	175
6	250
7	350
8	500

図17. 各アクチニックステップの数と強度の設定

5.4.1.7. パルス強度($\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)

実験の暗緩和段階におけるサンプル表面での飽和パルスの強度($\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)。飽和パルスは、一時的に Q_A を減少させて最大蛍光値(光順応サンプルでは F_m' と表記)を達成できるほど十分に明るくなくてはなりません。葉が高光条件にさらされた場合、 Q_A の完全な減少を達成するために必要な光強度は、化学線照明がオフになっている間も一定期間活性状態を維持するNPQ成分の寄与により、暗順応サンプルの場合よりも大幅に高くなります。

ほとんどのサンプルでは、利用可能な最高の光強度を使用することをお勧めしますが、要件はサンプルの種類によって異なります。

2013年にLoriauxらによって最初に発表された研究で、高飽和光強度下でも Q_A の完全な還元が達成されない可能性があることがわかったことは注目に値します。PSIIプラストキノン(PQ)アクセプタープールの急速なターンオーバーにより、蛍光の一部が消光され、 Q_A の完全な還元が妨げられると考えられています。これにより、真の F_m' が過小評価される可能性が生じます。

5.4.1.8. パルス幅(秒)

飽和パルスの持続時間(秒)。使用可能な最小および最大のパルス幅設定は、ユーザー入力の下括弧内に表示されます。パルス幅は0.8~1秒が推奨されます。飽和パルスが0.8秒より短い場合、一部のサンプルではこの時間内に F_m' に到達できず、多くの関連パラメーターで計算エラーが発生するリスクがあります。

5.4.1.9. 暗緩和(分)

暗緩和を有効にすると、ユーザー入力で選択した分数に応じて、特定の時間にさらに飽和パルスが提供されます。これらのパルスにより、光合成実験内で増加する光強度によって引き起こされる非光化学プロセスの緩和速度を研究できます。さまざまな設定により、次のパルスが提供されます。

- 0 : 暗緩和パルスなし。ルーチンは光合成曲線の完了時に終了します。
- 1 : 光合成曲線に続いて30秒および1分間の暗闇の後にパルスを発します。
- 2 : 光合成曲線に続いて30秒、1分、2分間の暗闇の後にパルスを発します。
- 5 : 光合成曲線に続いて30秒、1分、2分、5分間の暗闇の後にパルスを発します。
- 10 : 光合成曲線に続いて30秒、1分、2分、5分、10分間の暗闇の後にパルスを発します。

高速蛍光データも暗緩和パルス中に取得されます。これにより、サンプルが完全に光に順応した状態から再び暗に順応した状態に移行する際の、電子伝達チェーン内のさまざまな電子受容体の酸化還元状態を示す興味深いデータが得られます。

5.4.1.10. 光応答分析タブ

光応答ルーチンが完了すると、計算されたパラメーターが「Parameter」タブで表示できるようになるほか、さらに「Analysis」タブも表示できるようになります(図19)。タブには、光合成ルーチンで定義された各化学ステップについて、PARに対する計算された電子伝達速度のグラフプロットが含まれています。この分析方法の目的は、サンプルの光応答の3つの異なる領域を表示することです。これらの領域は次のとおりです。

- 光制限領域(図18、A)
光制限領域では、光応答速度は低光レベルによって制限されます。パラメーター α は、ETR対PPFDの上昇の傾きを示し、光捕捉の効率(有効量子収率または Φ PSII)に比例します(Schreiber, 2004年)。
- 光飽和領域(図18、B)
この段階では、電子伝達チェーンの容量によって電子輸送速度が制限されます。ETR対PPFD曲線は、最大ETR(パラメーターETRmaxで示される)が発生するプラトーに達します(Schreiber, 2004年)。パラメーター E_k で示される最小飽和放射照度(I_k と呼ばれることもあります)は、 α とETRmaxの切片を見つけることによって決定され(Sakshaug et al, 1997年)、消光と関連付けることができます。 E_k 未満では光化学的消光が主な経路ですが、 E_k を超えると非光化学的消光が主な経路になります(Henley, 1993年)。

● 光阻害/ダウンレギュレーション領域 (図18、C)

植物が飽和以上の光強度にさらされるこの領域では、ETR対PPFD曲線は低下する傾向があり、これは光阻害と関連している可能性があります(Henley, 1993年)。この効果は、定常光合成速度が達成される従来のP – EまたはSSLCで発生する可能性が高くなります。ただし、RLCプロトコルでは定常状態が達成されないため、通常は光損傷が発生するのに十分な時間がありません。飽和以上の光強度でのETRの低下は、PSIIの動的ダウンレギュレーションに関連している可能性があることと示唆されています(WhiteおよびCritchley, 1999年)。

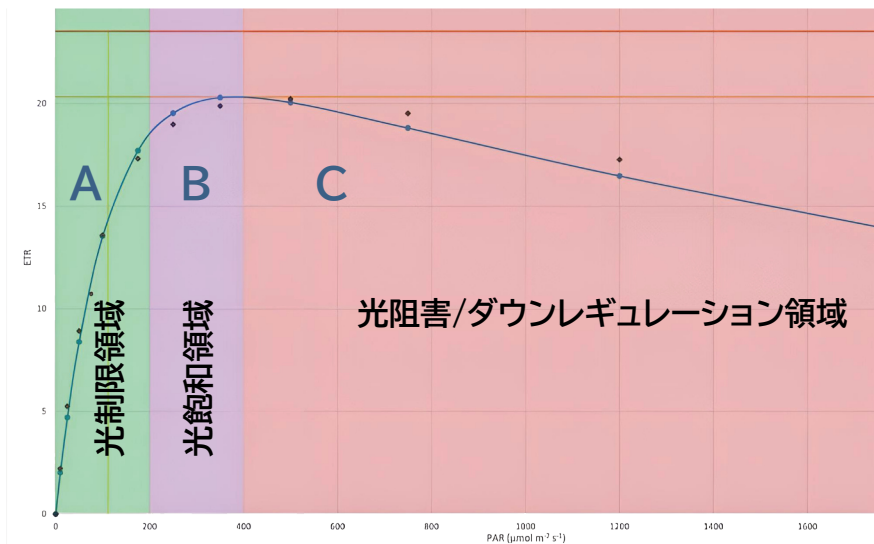


図18. ETRをPPFDに対してプロットすると、グラフには3つの異なる領域(A)光制限領域、(B)光飽和領域、(C)光阻害/ダウンレギュレーション領域が表示されます。

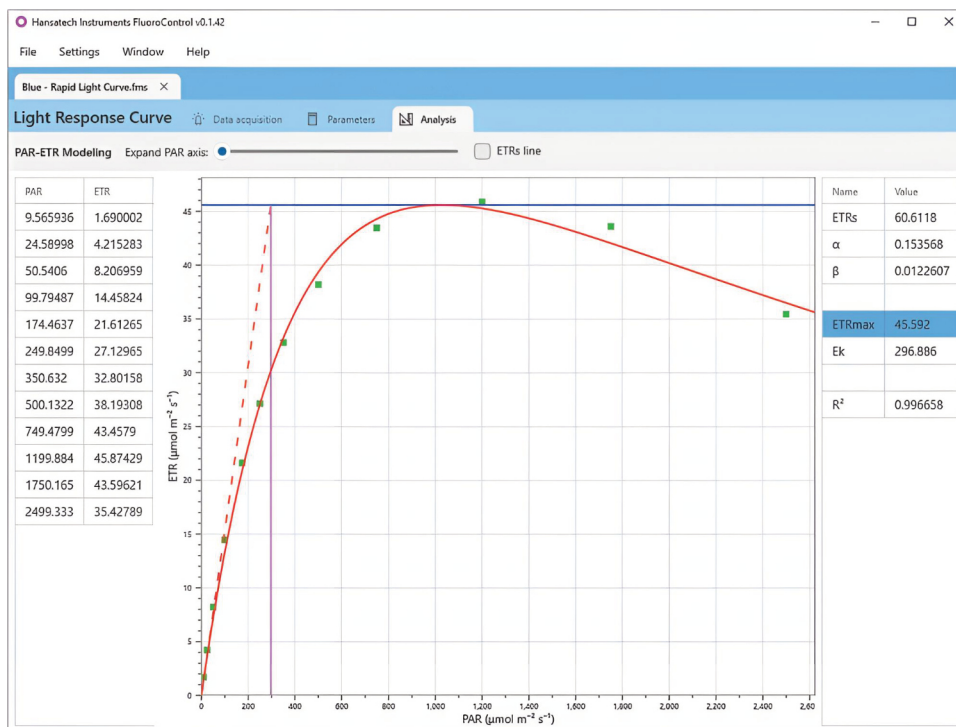


図19. 光合成曲線ルーチンが完了すると、「Analysis」タブが表示されます。

分析タブには、実験中に計算されたETRの値と、対応する各光ステップで使用されたPAR値が画面左側の表に表示されます(図19)。このデータから、PARとETRの関係をモデル化する曲線を計算できます。プロットされた曲線は、非線形最小二乗問題を解決するために開発されたLevenberg-Marquardt アルゴリズム(Levenberg, 1944年およびMarquardt, 1963年)を使用してモデル化された測定データに最もよく適合する線です。

アルゴリズムは、測定データに最もよく適合する曲線のパラメーター α 、 β 、ETRの値を見つけます。次に、計算を繰り返し、誤差が最小の方程式の安定した解に到達するまでパラメーターの値を微調整します。これらのパラメーター値は、曲線をプロットし、 ETR_{max} と E_k の値を計算する方程式で使用できます。

α として計算された値は、曲線の直線部分の傾き、つまりPAR値が低い場合の光制限領域の傾きです。 β は曲線の終端(PAR値が高い場合)の傾きです。 ETR_s は、PARレベルが高い場合にETRが減少しない場合の最大可能なETRです。 ETR_{max} は、曲線の最大ETR値です。 E_k は最小飽和放射照度、つまりPAR値で、曲線の外挿された直線部分(α が決定される)が ETR_{max} に達する点に対応します。

5.5 ルーチン 5: マルチマキシマム QY

マルチマキシマムQYルーチンは、複数のFv/Fm測定を実行し、結果のトレースをグラフ軸に重ねて表示するツールを提供します。このアプローチは、単一の植物で複数の測定を行う場合、またはすべての測定を1つのファイルにまとめることが有利な複数のサンプルから単一の測定を行う場合に特に便利です。

5.5.1 マルチ最大 QY 設定

このルーチンの設定は、暗緩和速度の測定がこのルーチンでは提供されないことを除いて、ルーチン 1: 最大QY(セクション5.2を参照)と同じです。

5.6 ルーチン 6: マルチ有効 QY

マルチ有効QYルーチンは、複数の $\Phi PSII$ 測定を実行し、結果のトレースをグラフ軸に重ね合わせるツールを提供します。このアプローチは、単一の植物に対して複数の測定を行うとき、またはすべての測定を1つのファイルにまとめることが有利な複数のサンプルから単一の測定を行うときに特に役立ちます。

5.6.1 マルチ有効 QY 設定

このルーチンの設定は、ルーチン2: 有効QY(セクション5.3を参照)と同じです。

5.7 「マルチ」ルーチン使用時のユーザー インターフェイスの違い

いずれかの「マルチ」ルーチンを選択すると、ユーザーインターフェイスとデータ取得画面が他のルーチンと若干異なります。これらの違いは、単一のデータファイルで複数の測定を行うときに必要な他のツールと機能を反映しています。

「マルチ」ルーチンは、セッションの一部として、個々の測定または実行を保存します。セッションが開始されるとユーザーは同じサンプルまたは複数のサンプルで必要な回数だけ実行できます。これらの個々の実行からのトレースは、データ取得画面の上部と下部の両方のグラフに重ねて表示されます。セッションの終了時に、すべての実行が保存され、1つのファイルとしてCSVにエクスポートできます。

5.7.1 「マルチ」セッションコントロール

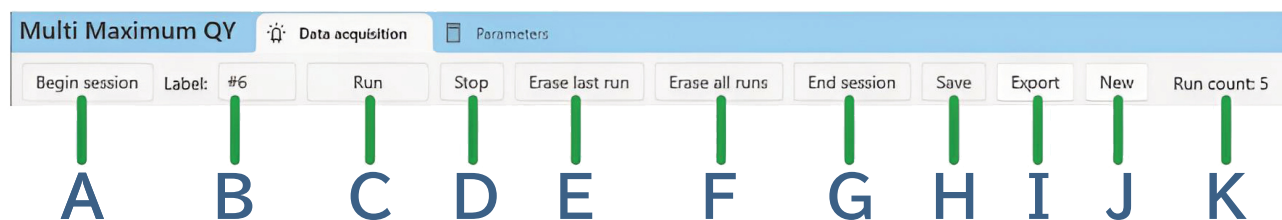


図20. マルチ最大QYおよびマルチ有効QYルーチンを使用して測定を行う際のデータ取得画面のコントロール

セッションを開始する前に、測定構成オプションを選択する必要があります。マルチ最大QYルーチンで使用可能なオプションの詳細については、[セクション5.2](#)を参照してください。マルチ有効QY構成設定については、[セクション5.3](#)を参照してください。設定が構成されると、セッション内のすべての測定で同じ設定が使用されます。つまり、セッションは異なる光強度の測定で構成することはできません。

- セッションを開始するには、「Begin session」ボタンをクリックします(図20、A)。これにより、ルーチン構成設定パネルが無効になります。
- ラベル入力フィールドに英数字を入力して、セッションの最初の実行に識別ラベルを割り当てます(図20、B)。ラベルを入力しない場合は、デフォルトのラベル構造 #xx が自動的に割り当てられます(xx は現在のセッション内の実行番号に対応します)。
- FMS-300光ファイバー(ルーチンの適切なリーフクリップ付き)をサンプルに配置し、「Run」ボタン(図20、C)をクリックして測定を実行します。蛍光信号はデータ取得画面の上部と下部のグラフにプロットされ、測定に関連するパラメーターがLast Measurement Parameters barに表示されます。
- 測定の実行前に割り当てられた識別ラベルは、グラフ領域の右側の実行リストに表示されます(図21、A)。
- 必要に応じてセッション内で測定を続けます。後続の実行は上部と下部のグラフ領域に重ねてプロットされ、対応するIDラベルが実行リストの下部に追加されます(図21、A)。
- 「Erase last run」ボタン(図20、E)を使用すると、最新の実行を削除できます。「Erase all runs」ボタン(図20、F)を使用すると、セッション内のすべての実行を削除できます。
- 実行回数(図20、K) は、現在のセッション内で実行された個々の実行の数を示します。
- 必要なすべての測定が完了したら、「End session」ボタン(図20、G)をクリックして測定セッションを終了します。「Save」ボタン(図20、H)がアクティブになり、すべての測定データを含む1つのファイルとしてセッションを保存できます。保存したら、「Export」ボタン(図20、I)を使用してデータをCSVファイル形式でエクスポートできます。

データ取得画面のその他のコントロールは次のとおりです:

- 停止。現在の実行を中止します(図20、D)。
- 新規。新しいルーチンタブにルーチンの新しいインスタンスを作成します(図20、J)。

5.7.2 個々の測定値の強調表示

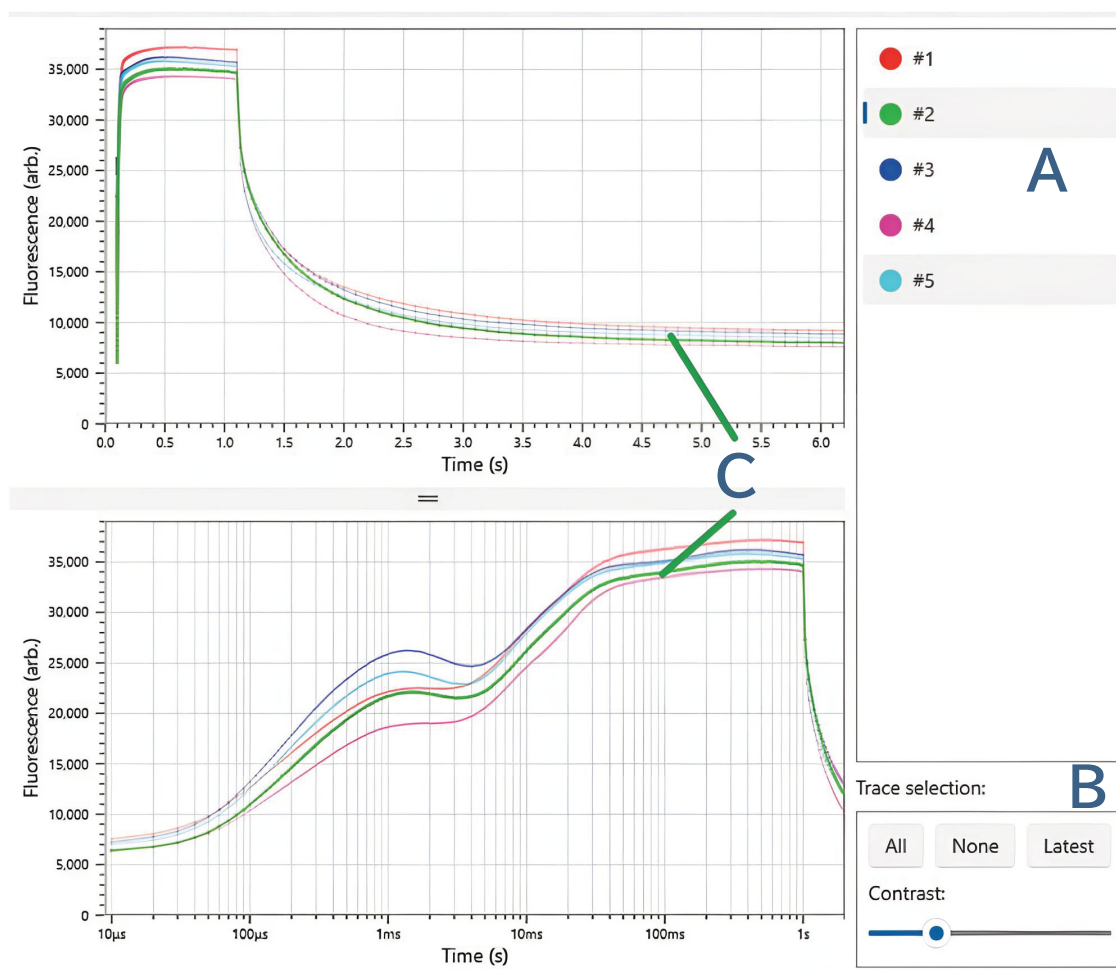


図21.「マルチ」ルーチンでは、セッション内の個々の測定/実行を強調表示して、測定値間の視覚化と比較を向上させることができます。

「マルチ」ルーチンのデータ収集画面には、グラフ領域と最後の測定パラメーターパネルの間に追加のパネルがあります。セッション内では、各実行は古いものから最新のものまで時系列でリストされ、ユーザー定義の英数字IDラベル(図21、A)または現在のセッション内の実行番号に対応するデフォルトIDで示されます。各実行の両側には、各蛍光グラフ内のトレースの色に対応する色付きディスクもあります。

セッションで複数の実行が行われると、グラフ領域が「混雑」することがあります。実行リストパネルを使用すると、ユーザーは個々の実行または個々の実行のグループを選択して強調表示し、より詳しく視覚的に検査できます。

デフォルトでは、すべてのトレースがグラフ領域内で均等に強調表示されます。これらの実行は、IDラベルの背後に灰色の背景が付いた実行リストパネルでも強調表示されます。

リストパネル内の1つの実行をクリックすると、選択されていないすべての実行の表示が減り、グラフ領域内の特定の測定が優先されます(図21、C)。さらに、リストパネル内の選択された実行のみが灰色の背景で強調表示されます(図21、A)。

個々の実行のグループを選択できます:

- 連続した実行のグループの場合:
強調表示する最初の実行をクリックし、Shiftキーを押したまま、必要な最後の実行をクリックします。
- 連続していない実行のグループの場合:
強調表示する最初の実行をクリックし、Ctrlキーを押したまま、必要な他のすべての実行をクリックします。

トレース選択パネル(図21、B)から、すべての実行、実行なし、または最新の(最後の)実行のいずれかの強調を切り替えることができます。

選択した測定の見視的な検査を支援するために、トレース選択パネルの下部にあるコントラストスライダーを使用すると、選択した測定と選択していない測定のコントラストを調整できます。スライダーを右に動かすと選択していない測定の可視性が低下し、スライダーを左に動かすと可視性が高まります。

5.8 FluoroControl からのデータのエクスポート

各実験の完了後、測定されたデータは、コンマ区切り値(CSV)ファイル形式にエクスポートする前に最初に保存する必要があります。CSVファイルは、Microsoft Excel™、Google Sheets™、Sigmaplotなど、市販または無料で入手できるさまざまなデータ処理ソフトウェアプログラムで開くことができます。

どのルーチンでも、データ取得画面からCSVへの「Export」ボタンは、実験が*.FMS形式で保存されると使用可能になります。「Export」ボタンをクリックすると、Windowsの「File save as...」ダイアログが表示され、CSVファイルを任意の場所に保存できます。

5.8.1 エクスポートされた CSV データ ファイルの形式

エクスポートされたCSVデータファイルには、保存された実験のすべての情報が含まれます。データは個別のセクションにグループ化されているため、実験のさまざまな要素をさらに分析する際に最大限の柔軟性が得られます。各セクションは、CSVファイルの「START SECTION:XX」行で明確に定義されています(「XX」は、以下のリストで説明されているセクションの名前です)。さまざまなデータグループは次のとおりです。

- セクション1:ソフトウェア
このセクションには、エクスポートされた測定が最初に行われたときに使用されていたソフトウェアのバージョンに関する情報が含まれています。この情報は、技術サポートのリクエスト時にHansatechに伝える必要があります。
- セクション2:計測器
エクスポートされた測定を行うために使用されたFMS-300制御ユニットに関連します。モデルとシリアル番号、ファームウェアバージョン、計測器のキャリブレーションの日時がすべて表示されます。上記のソフトウェア情報と同様に、この情報は、技術サポートをリクエストするときにHansatechに伝えるために重要です。
- セクション3:ルーチン構成
実験用に定義された特定のルーチンとすべての構成設定。実験に使用される機器設定情報も含まれます。設定された光学アクセサリ、測定LED強度、機器設定画面からのゲイン設定などのデータは、エクスポートされたファイルデータとともに保存されます。
- セクション4:実行
このセクションは、実験でマルチ最大値または有効QYルーチンが使用されている場合にのみ表示されます。実験内で記録された実行の数と、実行が開始された日時が表示されます。

- セクション5:パラメーター

ルーチン中の各飽和パルスイベントの測定および計算されたすべてのパラメーターが含まれます。このセクションは、CSVファイル内で少なくとも3つの列で構成されます。最初の列には、パラメーターのカテゴリが表示されます。このカテゴリは、特定のパラメーターが見つかるFluoroControlパラメータータブのグループに関連しています。2番目の列には、パラメーターの名前が表示されます。3番目の列には、実験の最初の飽和パルスイベントの各パラメーターの値が表示されます。実験中に複数の飽和パルスイベントが発生した場合、後続の列に値が入力されます。

- セクション6:速度論

各飽和パルスイベントからの個別のタイムスタンプ付きデータポイントを示します。これにより、高速蛍光速度論(OJIP曲線)を再プロットして、さらに分析することができます。最初の列には、各蛍光データポイントのキャプチャの相対時間が含まれます。後続の列には、測定されたデータポイントが含まれます。実験内の飽和パルスイベントごとに1つの列です。

- セクション7:線形

このセクションには、実験全体から取得した個々のタイムスタンプ付きデータポイントが連続形式で含まれています。このセクションは、次のとおり、少なくとも7つの列で構成されます。

- ブロック開始時間(秒)

FMS-300は100ミリ秒のブロックでデータを取得します。標準取得(つまり、飽和パルスイベント中ではない)では、データポイントは10Hzの周波数でキャプチャされるか、100ミリ秒ごとに1つのデータポイント(つまり、ブロックごとに1つのデータポイント)がキャプチャされます。0.1秒ブロックのそれぞれの開始時間は、ブロック開始時間列に表示されます。

- アクチニック

この列は、蛍光データポイントがキャプチャされた時点でFMS-300によって提供されたアクチニックまたは飽和光の強度を示します。値は $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ で表示されます。

- PAR

この列は、蛍光データポイントがキャプチャされた時点でPTL-100のPARセンサーから収集されたデータを示します。この値は、PTL-100がFMS-300に接続され、機器設定画面で光学アクセサリとして構成されている場合にのみ表示されます。値は $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ で表示されます。

- 温度

この列には、蛍光データポイントがキャプチャされた時点でPTL-100の葉温度センサーから収集されたデータが表示されます。この値は、PTL-100がFMS-300に接続され、機器設定画面で光学アクセサリとして設定されている場合にのみ表示されます。値は $^{\circ}\text{C}$ で表示されます。

- サンプル時間

サンプル時間列には、蛍光データポイントがキャプチャされた実験中の相対時間が表示されます。標準取得速度では、後続の行の値は0.1秒単位になります。ただし、飽和パルスイベント中は、高速蛍光速度をキャプチャできるようにデータ取得周波数を変更されます。この列の行間の増分変化は、この周波数の変化を反映しています。

- Fluor

この列には、各データポイントで取得した蛍光値が表示されます。実験内に飽和パルスイベントが複数ある場合は、Fluor列が複数表示されます。

6. 参考文献

- Baker NR. クロロフィル蛍光:生体内での光合成のプロープ。Annu Rev Plant Biol. 2008;59:89-113. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759>. PMID: 18444897
- Neil R. Baker, Eva Rosenqvist, 「クロロフィル蛍光の応用は作物生産戦略を改善できる:将来の可能性の検討」, Journal of Experimental Botany, 第55巻、第403号、2004年8月、1607~1621ページ、<https://doi.org/10.1093/jxb/erh196>
- Ehleringer JR. 1991年。温度とエネルギー予算。植物生理生態学、編集。RW Pearcy、J Ehleringer、HA Mooney、PW Rundel、pp. 97~135。ロンドン:Chapman and Hall
- Henley WJ(1993年)。光阻害と日周変化を考慮した藻類の光合成光応答曲線の測定と解釈。JPhycol 29:729-738
- Hodanova D. 1985年。葉の光学特性。葉の発達中の光合成、Z Sestak編、pp. 107-127。プラハ:アカデミア
- Houliez, E., Lefebvre, S., Lizon, F., Schmitt, F.G., (2017年)。急速光曲線(RLC)または非連続定常光曲線(N-SSLC):どちらの蛍光ベースの光合成曲線法が植物プランクトンの光合成活性と順応状態を堅牢に特徴付けるか? Mar Biol(2017年)164:175
- Iqbal, M.J., Goodwin, P.H., Leonardos, E.D., Grodzinski, B. (2012年)、Pseudomonas syringae pv. tabaci 接種後のNicotiana benthamiana葉のクロロフィル蛍光画像の空間的および時間的变化。Plant Pathology, 61: 1052-1062。
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2012.02592.x>
- Johnson, G., Horton, P., Scholes, J., Grime, P. (1990年)。異なる光環境の植物による放射照度の段階的变化に対する蛍光反応。Baltscheffsky, M.(eds)Current Research in Photosynthesis. Springer、Dordrecht. <https://doi.org/10.1007/978-94-009-0511-5711>
- ジョーンズHG. 1992年。植物と微気候(第2版)ケンブリッジ:ケンブリッジ大学出版局。428ページ。
- Kalaji, M.H., Goltsev, V.N., Żuk-Gołaszewska, K., Zivcak, M., & Brestic, M. (2017年)。クロロフィル蛍光:作物の生育を理解する—基礎と応用(第1版)。CRCプレス。
<https://doi.org/10.1201/9781315153605>
- Laik A, Loreto F. 1996年。葉のCO₂交換とクロロフィル蛍光から光合成パラメータを決定する。リブローズ-1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ特異性因子、光中の暗呼吸、光合成系間の励起分布、代替電子伝達速度、および葉肉拡散抵抗。植物生理学。110:903-12
- Laik A, Eichelmann H, Oja V, Rasulov B, Ramma H. 2006年。葉における光化学系IIサイクルと代替電子流。植物細胞生理学。47:972-83
- レベンバーグ、ケネス(1944年)。「最小二乗法による特定の非線形問題の解法」応用数学季刊誌2(2): 164-168. <https://doi.org/10.1090/qam/10666>.
- Lichtenthaler, H.K., Babani, F. (2004年)。光合成装置の光順応と老化。色素組成、クロロフィル蛍光パラメータ、光合成活性の変化。Papageorgiou, G.C., Govindjee(eds)クロロフィルa蛍光。光合成と呼吸の進歩、第19巻。Springer、Dordrecht。
https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9_28

Loriaux, S. D., Avenson, T. J., Welles, J. M., McDermitt, D. K., Eckles, R. D., Riensche, B., & Genty, B. (2013年). 飽和強度以下の単一多相フラッシュを用いたクロロフィル蛍光の最大収量への接近. 植物、細胞、環境、36(10), 1755-1770。

Marquardt, Donald (1963年). 「非線形パラメータの最小二乗推定アルゴリズム」 SIAM Journal on Applied Mathematics. 11(2): 431-441.
<https://doi.org/10.1137/0111030>. hdl:10338.dmlcz/104299.

Kate Maxwell, Giles N. Johnson, 「クロロフィル蛍光 - 実用ガイド」、Journal of Experimental Botany、第51巻、第345号、2000年4月、659～668ページ。
<https://doi.org/10.1093/jexbot/51.345.659>

三宅 千恵子、新崎 勇、宮田 正之、富澤 功。2004年。強光下でのPSI周囲の環状電子流の増強と、タバコ植物の無傷葉におけるクロロフィル蛍光の非光化学的消光誘導への寄与。植物細胞生理学。45:1426-33

E.H. Murchie, T. Lawson, 「クロロフィル蛍光分析: 優れた実践といくつかの新しい応用を理解するためのガイド」、Journal of Experimental Botany、第64巻、第13号、2008年10月

Nies, Tim & Niu, Yuxi & Ebenhöh, Oliver & Matsubara, Shizue & Matuszyńska, Anna. (2021年). クロロフィル蛍光: PAM機器パラメータに関する情報の質が研究に与える影響。
<https://doi.org/10.1101/2021.05.12.443801>

Oxborough K, Baker NR. クロロフィルa蛍光画像による光合成効率を光化学成分と非光化学成分に分解 - F_o' を測定せずに qP と F_v'/F_m' を計算。光合成研究 54、135-142。1997年。

Padhi, B., Chauhan, G., Kandoi, D., Stirbet, A., Tripathy, B.c., & Govindjee, G. (2021年). Handy PEA と FluorPen 蛍光計を使用したクロロフィル蛍光過渡測定と比較。Photosynthetica、59 (SPECIAL ISSUE)、399-408。 <https://doi.org/10.32615/ps.2021.026>

Rascher, U., Liebig, M., Lüttge, U., (2000年)。現場でポータブルクロロフィル蛍光計を使用して得られたクロロフィル蛍光パラメータの瞬間光応答曲線の評価。Plant Cell Environ. 23, 1397-1405。

Alexander V. Ruban, 「非光化学的クロロフィル蛍光消光: 植物を光損傷から守るメカニズムと効果」、Plant Physiology、第170巻、第4号、2016年4月、1903～1916ページ。
<https://doi.org/10.1104/pp.15.01935>

Sakshaug, E., Bricaud, A., Dandonneau, Y., Falkowski, P.G., Kiefer, D.a., Legendre, L., Morel, A., Parslow, J., Takahshi, M., (1997年) 光合成のパラメータ: 定義、理論、結果の解釈。J Plankton Res 19:1637-1670

Schreiber, U. パルス振幅変調(PAM)蛍光測定法と飽和パルス法: 概要。Papageorgiou, G.C., Govindjee (編) クロロフィルa蛍光。光合成と呼吸の進歩、第19巻。Springer, Dordrecht。
https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9_11 (2004年)。

Strasser RJ, Srivastava A, Tsimilli-Michael M 光合成サンプルの特性評価とスクリーニングのツールとしての蛍光トランジェント。Mohanty P, Yunus, Pathre (編) 光合成の探究: メカニズム、制御、適応。Taylor and Francis, ロンドン、pp 443-480 (2000年)。

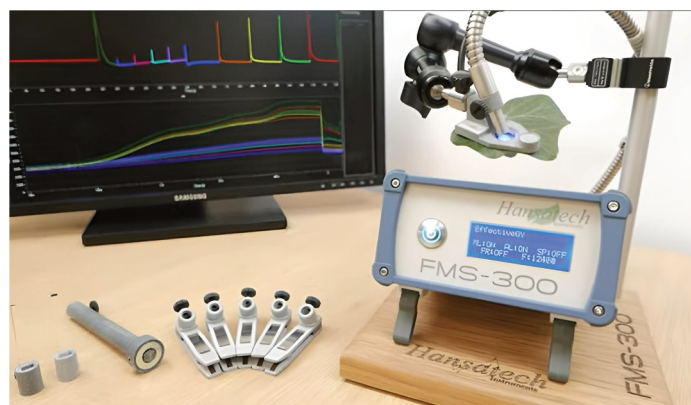
Strasser, R.J., Tsimilli-Michael, M., Srivastava, A. クロロフィルa蛍光遷移の分析。Papageorgiou, G.C. および Govindjee 編著 クロロフィルa蛍光: 光合成の特徴、Springer、ニューヨーク、321-362 (2004年)。

Tsimilli-Michael M. JIPテストの再検討:概念、仮定、近似、定義、用語に関する教育的レビュー。Photosynthetica。2020年1月1日;58(特別号):275-92。

Qian Xia、Hao Tang、Lijiang Fu、Jinglu Tan、Govindjee Govindjee、Ya Guo。LSSVMモデルによる暗順応なしのクロロフィルa蛍光からのFv/Fmの決定。Plant Phenomics。2023;5:0034。
<https://doi.org/10.34133/plantphenomics.0034>

White, A.J., & Critchley, C.(1999年)。急速光曲線:光合成装置の状態を評価するための新しい蛍光法。Photosynth. Res., 59, 63-72。

Zivcak, Marek & Olsaovska, Katarina & Slamka, Pavol & Galambošová, Jana & Rataj, Vladimir & Shao, Hongbo & Kalaji, Hazem & Brestic, Marian. (2014年)。異なる葉の位置におけるクロロフィル蛍光の測定は、小麦の窒素欠乏を検出することができる。Zemdirbyste. 101. 437-444.



FMS-300 教育・研究用パルス変調蛍光測定システム

Hansatech社製品一覧

旭光通商へのお問い合わせ