

琵琶湖のカビ臭発生糸状藍藻の 3 次元微細構造観察

Three-dimensional observation of microstructures of *Phormidium tenue* using soft x-ray microscopy

竹本 邦子^a, 吉村 真史^b, 難波 秀利^c, 木原 裕^{b, d}
Kuniko Takemoto^a, Masashi Yoshimura^b, Hidetoshi Namba^c, Hiroshi Kihara^{b, d}

^a関西医科大学, ^b立命館大学 SR センター, ^c立命館大学,
^d名古屋大学シンクロトロン光研究センター

^aKansai Medical University, ^bThe SR Center, Ritsumeikan University, ^cRitsumeikan University,
^dSynchrotron Radiation Research Center, Nagoya University

カビ臭発生する琵琶湖産 *Phormidium tenue* の識別を、軟 X 線顕微鏡を用いた形態的同定法で行うことを目指している。詳細な微細構造に関する知見を得るため、結像型軟 X 線顕微鏡に Computed Tomography を組み合わせることで 3 次元構造観察を行い、風乾した *P. tenue* の X 線 μ CT 像を得る事ができた。

We used soft x-ray tomography to study the 3D ultrastructural organization of whole cells of the unicellular green alga producing musty odor, *Phormidium tenue*. Air-dried cells were imaged using the natural x-ray absorption contrast of the sample and it succeeded in acquisition of the first μ CT image.

Keywords: *Phormidium tenue*, soft x-ray microscopy, x-ray microtomography

背景と研究目的: *Phormidium tenue* は、初夏から秋にかけて湖沼や貯水池において大增殖し、水道水に著しい異臭味障害をもたらす微細藍藻である。京阪神地区の重要な水道源地である琵琶湖でも、1969 年より *P. tenue* が原因とされる水道水のカビ臭が発生している。

我々は、光学顕微鏡より分解能が高く、含水試料の観察も可能である軟 X 線顕微鏡を用い、現在 *P. tenue* と同定されている糸状藍藻の微細構造を観察している。これまでの観察で、カビ臭発生株と非発生株には、細胞径、細胞内顆粒の大きさに大きな違いが存在することを明らかにしてきた。

今回、さらに詳細に *P. tenue* の細胞内微細構造調べるため、軟 X 線 CT 法を *P. tenue* に適応することを試みた。

実験: 観察対象は、キャピラリー洗浄法により 1985 年 7~10 月に琵琶湖南湖から分離し、*Phormidium tenue* と同定されている緑色のカビ臭発生糸状藍藻とした。三角フラスコに CT 培地を入れ、20°C、2000 Lx で静置培養を行った。十分に増殖したことを肉眼で確認した後、ガラスキャピラリーに封入、風乾した試料を、立命館大学 SR センター BL-12 の結像型軟 X 線

顕微鏡を用いて CT による 3 次元観察を行った。観察条件としては、試料を大気中に設置し、波長 2.0 nm を使用した。この時の光学系の倍率は 800 倍であり、ピクセルサイズは試料面において 30 nm 角に相当する。投影像は試料回転角 4 度毎に 45 枚取得した。露光時間は一画像当たり 180 秒とした。断層像の再構成は Filtered Backprojection 法で、Shepp-Logan フィルターを用いて行った。含水状態での 3 次元観察は、波長 2.33 nm を用いて行った。

結果、および、考察: Fig. 1 にガラスキャピラリー内に封入した *P. tenue* の X 線 μ CT 像を示す。ガラスキャピラリーの内壁に複数の *P. tenue* を確認できた。

含水状態で *P. tenue* の X 線 μ CT 像の撮影も試みたが、Fig. 2 の様に時間経過と共に試料が動いてしまうなど、キャピラリー内での試料の固定が困難であったため、CT による 3 次元観察はできなかった。今後、含水状態での試料固定法を検討し、含水状態での *P. tenue* の μ CT 像を得たい。

文 献

論文・学会等発表

[1] 竹本邦子, 吉村真史, 大東琢治, 白井規真, 難波秀利, 木原 裕, 第 26 回日本放射光学会年会 (2013 年)

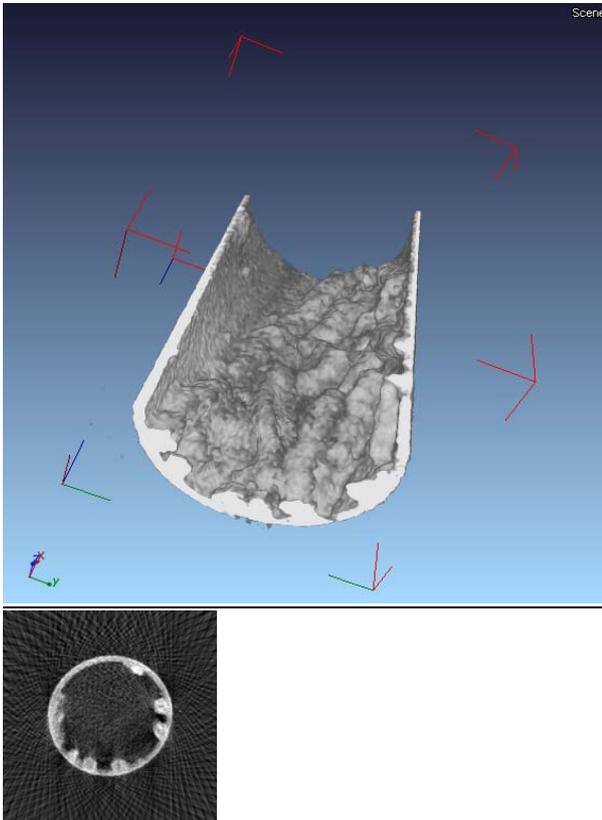


Fig. 1. X-ray microtomography (X- μ CT). 3D reconstruction of part of air-dried *Phormidium tenue* in the capillary. The volume is approximately $12\mu\text{m} \times 12\mu\text{m} \times 15\mu\text{m}$.

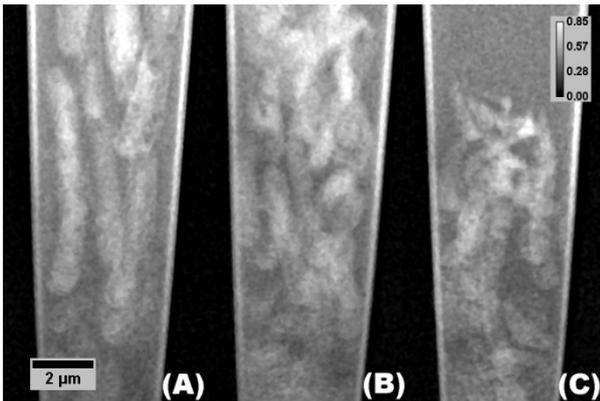


Fig.2. X-ray micrograph of *Phormidium tenue* in water. (A)first image at 0 deg. (B)23th image at 90 deg. (C)45th image at 86 deg. *P. tenue* were dropped down with time. $\lambda = 2.33 \text{ nm}$, exposure time = 180 sec.