

立 S22-07

軟 X 線顕微鏡による植物プランクトン *Leptolyngbya tenuis* (*Phormidium tenue*) の顆粒の観察

Soft x-ray observation of granule in *Leptolyngbya tenuis* (*Phormidium tenue*) in Lake Biwa

竹本 邦子^a, 一瀬 諭^b, 大東 琢治^c, 難波秀利^d, 木原 裕^aKuniko Takemoto^a, Satoshi Ichise^b, Takuji Ohigashi^c, Hidetoshi Namba^d, Hiroshi Kihara^a^a 関西医科大学, ^b 滋賀県琵琶湖環境科学研究センター, ^c 立命館大学総合理工学研究機構, ^d 立命館大学^aKansai Medical University, ^bLake Biwa Environmental Research Institute, ^cRitsumeikan University Research Organization of Science and Engineering, ^dRitsumeikan University

前回の X 線顕微鏡観察において, *Leptolyngbya tenuis* (*Phormidium tenue*) の細胞内で確認できた X 線の吸収の高い約 500 ナノメートルの顆粒の同定のため, 軟 X 線顕微鏡による多波長観察を行った。酸素の K 吸収端 (2.28nm) より短い波長で観察出来た顆粒は, 酸素の吸収端より長い波長では観察出来なかった。この結果は, 酸素が顆粒の主要な構成用であることを示唆するものである。

Granules in *Leptolyngbya tenuis* (*Phormidium tenue*) described in previous soft x-ray observation were discussed. There are a lot of granules yet identified in non-stained *Leptolyngbya tenuis*. Multi wavelength observations were performed to obtain clues to identify the granules. Soft x-ray microscopy observations below and above the oxygen K-edge, 2.28 nm wavelength, reveal that oxygen is major component in the granule.

Keywords: *Leptolyngbya tenuis*, soft x-ray microscopy, oxygen K-edge, multi wavelength observations

背景と研究目的: *Leptolyngbya tenuis* (*Phormidium tenue*) は, 初夏から秋にかけて大増殖し, 水道に著しい異臭味障害をもたらす藍藻で, 水道水源地である琵琶湖でも最やつかいな生物の一つである。

我々は, 前回のナノテクノロジーネットワーク研究支援による *Leptolyngbya tenuis* の軟 X 線顕微鏡観察において, 全ての細胞の中に直径 500 nm 程の顆粒を複数個確認した[1]。これらの顆粒は, 含水および風乾細胞でも観察することができ, *Leptolyngbya tenuis* の細胞内構造であることは明白である。

藍藻 (シアノバクテリア) の細胞構造, 機能および生化学の検討は多くの研究の主題となり, 1960 年代初期から 1980 年代に至る研究で, 多くのシアノバクテリア種の一般的な細胞内構成に関する知見が得られた。これまでに, 集光性アンテナ, フィコビリソーム, ポリリン酸体, シアノフィシン顆粒, ポリヒドロキシアルカノアート (PHA) 顆粒, カルボキシソーム/多面小体, 脂質体, チラコイド中心, DNA 含有領域およびリボソーム

といった, いくつかの細胞構造が同定されている。

このような藍藻の内部構造を観察するためには, 化学固定した細胞に染色を施し, ミクロトームで薄片にしたものを透過型電子顕微鏡で観察する必要がある。生きた状態に近い藍藻の細胞構造の知ることは不可能であった。

特別な処理を施すことなく, 生きた状態に近い細胞を, そのまま観察した軟 X 線顕微鏡観察で得られた顆粒の像は, カルボキシソームの配列と機能に関する研究 [2] の新しい解析ツールとしての軟 X 線顕微鏡の可能性や, 軟 X 線顕微鏡による他の細胞構造の可視化の可能性を示すものである。

今回, 顆粒の同定と軟 X 線顕微鏡像の基礎的データを得るため, 酸素の吸収端の前後で行った軟 X 線顕微鏡観察の結果について報告する。

実験: 琵琶湖から分離培養した植物プランクトン *Leptolyngbya tenuis* 細胞懸濁液を, 厚さ 350 nm 以下のポリイミド薄膜 (Takemoto et al.

1998)上に滴下し、風乾させた試料を、立命館大学SRセンター軟X線顕微鏡ビームラインBL-12で観察した。観察は全て室温で行った。

結果、および、考察： Fig. 1 に軟X線顕微鏡写真を示す。観察は、酸素のK吸収端 (2.28 nm)よりも長い波長である 2.4 nmと、短い波長である 2.0 nmで行った。いずれの波長による観察でも、粘質鞘やガス胞は確認できなかった。

高いX線吸収を示す構造体(顆粒)は、2.0 nmを用いた観察では全ての細胞で明瞭に確認することができる(Fig. 1A)。顆粒の直径は 500 nm程度で、一つの細胞内に 1-5 個存在した。顆粒は、全ての細胞に存在しており、2 個以上あるものについては、長手方向に配列している。しかし、2.4 nmを用いた観察では全ての細胞において、明瞭な顆粒を確認することはできなかった。

酸素の吸収端を超えた波長(2.4 nm)では、生体の主な構成元素である炭素や窒素に比べ、酸素のX線吸収率が大きく下がる。これらの観察結果は、酸素元素がこの顆粒の重要な構成元素の一つであることを示唆している。

顆粒の同定のためには、電子顕微鏡観察や抗体蛍光染色法を用いた蛍光顕微鏡観察法による検討が必要である。現在、顆粒の同定を行うため、軟X線顕微鏡で観察した同じ細胞を、電子顕微鏡で観察するという実験をおこなっている。軟X線で確認できた顆粒は全て電子顕微鏡でも確認することができた。現在、詳細な解析を進めているところである。

文 献

- [1] 一瀬 諭, 竹本邦子, 大東琢治, 難波秀利, 木原 裕, 文部科学省ナノテクノロジー・ネットワーク研究成果報告書, 3 (2009) 89-90.
- [2] David F. Savage, Bruno Afonso, Anna H. Chen and Pamela A. Silver, *Science*, 327 (2010) 1258-1261.

論文・学会等発表 (予定)

- [1] Takemoto, K., Ichise, S., Ohigashi, T., Namba, H. and Kihara, H., 10th International Conference on X-Ray Microscopy: XRM2010 (ポスター発表).
- [2] Takemoto, K., Ichise, S., Ohigashi, T., Namba, H. and Kihara, H., AIP Conference Proceedings, in press.
- [3] Takemoto, K., Ichise, S., Ohigashi, T., Namba, H. and Kihara, H., *Memoirs of the SR center*, in press.

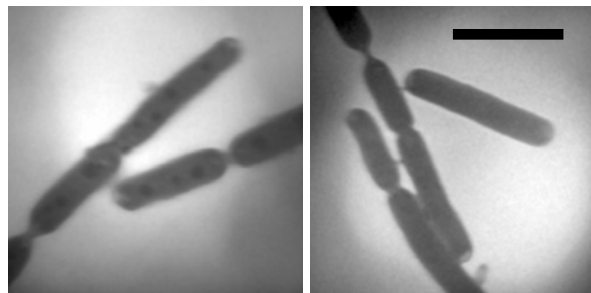


Fig. 1. Figure 1 X-ray microscopic images of *Leptolyngbya tenuis*. (A) Observation wavelength is 2.0 nm. (B) Observation wavelength is 2.4 nm. Each exposure time is 5 min. Scale bar is 5 μ m.