

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

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

竹本 邦子^a, 水田 剛^b, 一瀬 諭^c, 吉村 真史^d, 難波 秀利^b, 木原 裕^a
Kuniko Takemoto^a, Satoshi Ichise^b, Takuji Ohigashi^c, Hidetoshi Namba^d, Hiroshi Kihara^a

^a 関西医科大学, ^b 立命館大学, ^c 滋賀県琵琶湖環境科学センター, ^d 立命館大学総合理工学研究機構,

^aKansai Medical University, ^bRitsumeikan University, ^cLake Biwa Environmental Research Institute, ^dRitsumeikan University Research Organization of Science and Engineering

光学顕微鏡の分解能で観察できない *Leptolyngbya tenuis* (*Phormidium tenue*) の細胞内微細構造を, 軟 X 線顕微鏡を用い観察し, カビ臭産生藍藻と非産生藍藻の微細構造の違いを調べた。カビ臭産生種の方が非産生種より平均細胞径が約 1.3 倍大きかった。細胞内顆粒の数に違いは無かったが, 顆粒のサイズ分布には大きな違いが確認できた。カビ臭産生種とカビ臭非産生種の識別に, 軟 X 線顕微鏡観察が有効であることが示された。

Intracellular structure of *Leptolyngbya tenuis* (*Phormidium tenue*) was observed by soft x-ray microscopy. Difference between the microstructure of musty odor producing strains and non-odorous strains was investigated. Cellular size of musty odor producing strains was 1.3 times larger than that of non-odorous strains. Although each cell had the same number of intracellular granules, the size distribution was quite different. Results have showed that soft x-ray microscopy is effective for discriminating musty odor producing strains.

Keywords: *Leptolyngbya tenuis*, soft x-ray microscopy, musty odor, intracellular granule

背景と研究目的: *Leptolyngbya tenuis* (*Phormidium tenue*) は, 初夏から秋にかけて大增殖し, 水道に著しい異臭味障害をもたらす藍藻である。平阪神地区の重要な水道水源地である琵琶湖でも, 1969 年より *L. tenuis* が原因とされる水道水のカビ臭が発生している。

琵琶湖の *L. tenuis* には, カビ臭を発生する種と発生しない種が存在することが明らかとなっているが, *L. tenuis* は, 細胞の大きさは長さ 2.5~5 μm, 幅 1~2 μm と小さく, 光学顕微鏡による詳細な分別は難しい。現在, 中村により確立した自家蛍光顕微鏡法による分別法が多く利用されているが[1], この方法でも識別不可能な種の存在が報告され, 自家蛍光顕微鏡法による識別法の問題点が指摘されている。

本研究では, 光学顕微鏡では詳細な観察ができない *L. tenuis* の細胞内微細構造を, 軟 X 線顕微鏡を用い観察し, カビ臭産生種と非産生藍種の微細構造の違いを調べた。

実験: 試料は, 琵琶湖から単離培養した *L. tenuis* の緑株 (カビ臭産生種) と茶株 (カビ臭非産生種) を用いた (Fig. 1)。細胞懸濁液を, 厚さ 350 nm 以下のポリイミド薄膜上に滴下し, 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。観察波長は 2.0 nm を用い, 室温で行われた。

結果、および、考察: Fig. 2 に茶株と緑株の代表的な軟 X 線顕微鏡写真を示す。緑株の方が茶株に比べ細胞短軸方向の長さ (細胞径) が大きく, 細胞内に複数個の顆粒が確認できる。

平均細胞径は, 緑株が 1.35 μm, 茶株が 1.08 μm であり, 緑株が約 1.3 倍大きかった。

次に顆粒のサイズ分布を調べたところ, 緑株では, 0.4~0.5 μm と 0.7~0.8 μm 二つのピークが存在した。一方, 茶株には 0.3~0.4

μm のピークのみが存在した。細胞中に存在する顆粒の数は、1 ~ 3 個で、緑株と茶株には大きな違いは見られなかった。これら全ての顆粒は、前回の報告と同様に、酸素の吸収端より長い 2.4nm で観察するとコントラストが著しく低下し確認できなくなった[2]。今回観察した全ての顆粒も、同様に、酸素元素に関連する構造体であることが確認された。

以上、カビ臭産生種である緑株と、カビ臭非産生種である茶株は、細胞径、顆粒の大きさ、分布が大きく異なることが分かった。

カビ臭産生種とカビ臭非産生種の識別に置いて、自家蛍光顕微鏡法による識別法が困難なものについて、軟X線顕微鏡観察が有効であることが示された。また、今回の観察結果より、同じ種であるとされていたカビ臭産生種である緑株と、カビ臭非産生種である茶株が異なる種である可能性を示すものであり、DNA 解析等詳細な解析も検討している。

文 献

- [1] 中村寿子, 用水と排水, 30 (1988) 24-31.
 [2] 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, 4 (2010) 立 S22-07.

論文・学会等発表 (予定)

- [1] 11th International Conference on X-Ray Microscopy: XRM2012 (予定).

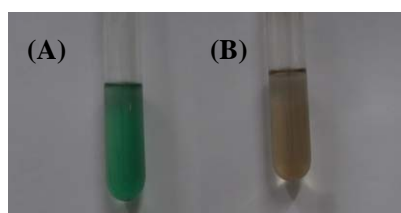


Fig. 1. *Leptolyngbya tenuis* (*Phormidium tenue*), (A) green strain and (B) brown strain.

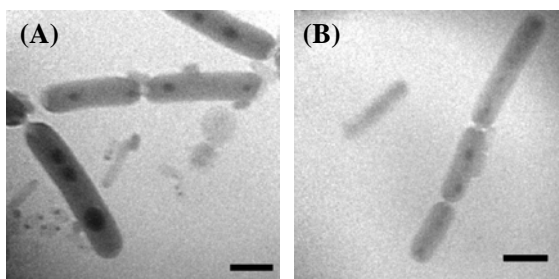


Fig. 2. X-ray microscopic images of *L. tenuis*, (A) green strain and (B) brown strain. Observation wavelength is 2.0 nm. Each exposure time is 5 min. Scale bar: 2 μm .