

## 研究成果報告書の概要

講座等名	物理学教室	事業推進者名	楠本 邦子
所属部門	代謝部門		
分担研究課題	細胞内機能と構造のイメージングに関する研究		
キーワード	軟 X 線顕微鏡、透過型電子顕微鏡、細胞外代謝物、X 線吸収微細構造、化学状態		
講座内の本プロジェクト参加研究者数			1 名
研究組織（本プロジェクトに参加する研究者、大学院生等のリストおよびそれぞれの役割） 楠本邦子（軟 X 線顕微鏡による細胞内機能イメージング, XAFS による細胞外代謝物の化学状態解析）			
研究成果の概要（平成 29・30 年度の研究成果について）			
1. 軟 X 線顕微鏡による細胞内機能イメージング 化学固定や剥片化などの処理を行わない状態で、原核細胞オルガネラや細胞外代謝物を軟 X 線顕微鏡 (XM) で観察し、機能や状態のイメージングを目指している。フルフィールド透過 X 線顕微鏡と走査型透過 X 線顕微鏡を用い、細胞径 1 $\mu$ m 以下の原核細胞の代表として、微細シアノバクテリアを、化学固定や染色や薄片化などの試料調整を行うことなく観察してきた。 H29-H30 年度は、水源の水に、通常の浄水処理では取り除くことが困難なカビ種物質である 2-Methylisoborneol (2-MIB) を代謝物として湖水に排出するシアノバクテリア <i>Pseudanabaena foetida</i> ( <i>Phormidium tenue</i> ) の 2-MIB 代謝能と細胞内微細構造の関連を調べる研究を進めた。 XM 観察で、未処理の <i>P. foetida</i> 細胞内で形成されるポリリン酸顆粒体と推定される顆粒の数が、遅滞期 (lag phase)、対数期 (log phase)、静止期 (stationary phase)、衰退期 (phase of decline) で大きく変化する様子が観察された。比較検証のため、剥片化し染色した細胞を透過型電子顕微鏡 (TEM) で観察し、TEM でも培養周期によるポリリン酸顆粒体の違いを確認した。 溶存態の 2-MIB と粒子態の 2-MIB の産生能とこれらの結果に相関がみられたことから、2-MIB を産生できる細胞の識別と、2-MIB が湖水に排出される機構の解明することができた。成果をまとめるための追加実験と、共同研究者（滋賀県琵琶湖環境化学研究センター、京都市上下水道局）による調査のまとめを行っている。			
2. X 線吸収微細構造 (X-ray absorption fine structure: XAFS) による細胞外代謝物の化学状態分析 淡水に生息するシジミの貝殻は、外套膜から分泌される炭酸カルシウムの上に、殻皮とよばれる数から十数ミクロン程度の厚さの主には有機物からなる膜で覆われている。代謝物からなる殻皮は年輪のように成長とともに蓄積され、自己再生しない。よって、細胞外代謝物である殻皮中の特定物質の化学状態変化を調べることで、成長中の健康状態や環境変動を読み出す研究を H29 年度より開始した。貝殻と同様に外套膜の代謝物である殻皮に含硫アミノ酸が含まれることを、電子プローブマイクロアナライザー (EPMA) と XAFS で初めて確認した。貝殻に年輪に対応する成長線に沿って、鉄が環境中と異なる化学状態で局在が確認された。殻皮に含まれる硫黄化合物の XAFS 分析を行い、生息環境の酸化還元状態の違いにより硫黄化合物の化学結合状態の違いがあることが分かった。特に、SS 結合の形成に明瞭な違いが確認できたので、現在、解析を進めている。 これらの成果は、H31 年に開催される Water and Environment Technology Conference 2019 (WET2019) で報告する。			