

P1-43

酵母サッカロミセス細胞のストラクトーム解析にむけて

山口 正視, 大楠 美佐子, 川本 進
千葉大学真菌医学研究センター

ヒトの身体を構成する細胞の数は約 60 兆、脳細胞の数は 150 億であるといわれている。しかし、例えば一個の酵母細胞に何個のリボソームが存在するのか、また、小胞体はどれだけの体積を占め、どのように分布しているのかなどは、どの教科書にも載っていない。「ストラクトーム」とは、structure と -ome から成る造語であり、電子顕微鏡レベルにおける細胞の定量的、三次元的全構造情報を意味する [1]。我々は、すでに、酵母エクソフィアラを材料として、細胞の定量的、三次元的解析を行い、いくつかの新しい情報を得ている [2]。本研究では、サッカロミセス細胞を、急速凍結・置換固定法により、樹脂に包埋し、連続超薄切片法により、すべての細胞成分のストラクトーム解析を目指す。

写真に、酵母 *Saccharomyces cerevisiae* S288C 株の急速凍結・置換固定法による超薄切片像を示す。本菌はゲノム解析に用いられた株であり、ストラクトームに理想の菌株であるが、膜系が明瞭に観察できない欠点のあることがわかった。今後、この点を克服しつつ解析を進める予定である。

謝辞：S288C 株を提供してくださった徳島文理大学の水野貴之博士に心から感謝いたします。

文献

- 1) Yamaguchi M: Structome of *Exophiala* yeast cells determined by freeze-substitution and serial ultrathin sectioning electron microscopy. *Current Trends in Microbiology* 2: 1-12, 2006.
- 2) Biswas SK et al: *J Electron Microsc* 52: 133-143, 2003.

P1-44

位相差電子顕微鏡を用いた細菌の新しい細胞観察法

永山 國昭², 白田 信光¹, 厚沢 季美江¹, Radostin Danev²

¹藤田保健衛生大学医学部解剖学II, ²自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター・生理学研究所

位相差電顕と氷包埋法を併用する新しい細胞観察方法を「生きている細胞の超微構造を観察する方法」として提案し、ワークショップで紹介する。本発表では、納豆菌を例として細菌を観察した例を示す。

納豆菌はグラム陽性桿菌で好気性菌である。栄養状態が悪いと芽胞を形成する特徴がある。芽胞は、厚い細胞壁を有する球状の構造物で、富栄養状態の菌体とは構造・代謝が全く異なる。冷凍・乾燥という極限状態に極めて強い。常温の湿潤状態として富栄養状態に戻せば、出芽して再び増殖する。

位相差電子顕微鏡法は、細胞内構造が本来持っている物質密度の差により引き起こされる電子波の位相の遅れの差を、位相コントラストとして可視化する新しい電顕観察法で細胞の無染色像の観察が可能である。急速凍結・氷包埋法は、蛋白質の構造解析のために用いる方法で、標本を瞬時に凍らせ非結晶氷に閉じこめる。細菌に用いれば、生きていたそのままの姿を保持できる。

【材料と方法】納豆菌の芽胞と液体培地である LB 培地中で増殖させた菌体を観察した。菌体を培地ごとをカーボン薄膜を張ったグリッド上に採取した。液体窒素で冷却した液体エタン中に浸漬し急速凍結・氷包埋を行った。電子顕微鏡の液体ヘリウム冷却試料室に標本を移して観察した。後焦点面に炭素薄膜からなる Hilbert 位相板を装置した JEOLJEM-3100FFC 電子顕微鏡により加速電圧 300kV で無染色で観察した。

【結果と考察】芽胞と増殖中の菌体の構造を観察した。増殖中の菌体では、内部構造は顆粒状にほぼ一様で、細胞壁には、新規の構造として規則的な鋸状構造が観察された。芽胞では、内部の微細構造の観察は困難であった。これは、加速電圧が不足しているためと考えられる。凍結保存した芽胞からの状態から増殖に至る過程について経時的に標本作製をして微細構造変化を位相差電顕観察することにより、細胞の動態が電顕観察可能になると考える。