

透過型軟 X 線顕微鏡によるシアノバクテリアの 元素選択的な細胞内構造の観察

浅井智広¹、寺本高啓²

¹立命館大学 生命科学部、²立命館大学 理工学部

波長 0.1-10 nm の光である軟 X 線は、生物を構成する主要な元素である炭素、窒素、酸素などの内殻電子を選択的に励起できる。これを観察用の光源とした顕微鏡は軟 X 線顕微鏡と呼ばれ、①普遍的な元素が吸収するため、非染色で元素選択的な観察ができる、②可視光よりも分解能が高く、より高倍率での観察ができる、といった特徴がある。特に波長領域 2.3~4.4nm に対応する軟 X 線は「水の窓」領域と呼ばれており、水よりもタンパク質の吸収が大きい。そのため軟 X 線顕微鏡は生きた細胞の観察に適している。細胞の内部構造を高分解能かつ元素選択に観察することができれば、DNA やタンパク質などの主要な生体高分子の分布や動態を観察したり、糖や有機酸の輸送過程や代謝過程を実時間で解析したりすることが可能になる。一方、高輝度の軟 X 線の発生には放射光施設などの大規模な実験施設を必要とするため、一般の研究室レベルでは軟 X 線光源の確保は難しく、軟 X 線顕微鏡による生細胞の観察は生物学分野では普及していないのが現状である。

シアノバクテリアは細胞内に核をもたない原核生物（細菌）である。植物と同じ酸素発生型の光合成を行うことで生命活動に必要なエネルギーを取得し、空気中の二酸化炭素を糖として固定することで生体を維持している。一部のシアノバクテリアは、生体の構成に必要な窒素元素をも、空気中の分子状窒素を窒素化合物として固定する。この窒素固定と呼ばれる代謝反応は、触媒する酵素が酸素に対して非常に不安定なため、酸素を放出してしまう光合成とは同時に共存することができず、単一の生物のなかであっても光合成と窒素固定は時空間的に分離されていると考えられている。シアノバクテリア *Anaebena* sp. PCC 7120 は空間的な分離によって両者を両立させている典型的なモデルである。「栄養細胞」と呼ばれる多数の細胞が一行に連なったフィラメント状の形態をもち、分子状窒素以外の窒素化合物が存在しない環境（窒素飢餓状態）では、栄養細胞が約 10 個に 1 個の割合で窒素固定に特化した「ヘテロシスト」に分化する。近隣の栄養細胞はヘテロシストにエネルギーを提供し、ヘテロシストは栄養細胞に窒素化合物を提供することで、光合成と窒素固定を分業することで空間的に分離し、フィラメント全体の生命活動を維持する。栄養細胞からヘテロシストへの分化過程は、特定の有機酸の蓄積による細胞内の炭素窒素存在比（C/N 比）の上昇が引き金となることが分かっている。しかし、単一の細胞レベルで C/N 比を直接観察した例はなく、C/N 比の細胞内分布や誘導に必要な閾値など、分化のメカニズムには未だ不明な点が多い。

今回私たちは、軟 X 線顕微鏡をもちいた元素選択的な生細胞の観察を行い、*Anaebena* sp. PCC 7120 の C/N 比の細胞内分布の可視化を試みた。窒素飢餓状態のフィラメントを細胞一層のシートとなるように 2 枚の窒化シリコン膜に挟み込み、立命館大学 SR センターの軟 X 線顕微鏡ビームライン BL12 で透過観察した。同一の細胞を窒素の K 吸収端（409.9 eV）前後で観察することで、炭素と窒素の吸光度から各細胞の C/N 比を個別に測定することに成功した。ヘテロシストの C/N 比は栄養細胞よりも有意に低く、窒素飢餓で上昇した栄養細胞の C/N 比がヘテロシストへの分化で減少する可能性が示唆された。