電子顕微鏡による水スピリルムの研究

第三編 細胞膜の微細構造について

下 井 一 之

山口県立医科大学微生物学教室 (主任 林 良二教授)

山口県立医科大学産婦人科学教室 (主任 藤生太郎教授)

〔受付: 10月7日・1959年〕

緒 言

著者は水スピリルムを電子顕微鏡で観察し、前々報¹⁾では粘液層について、前報²⁾では鞭毛根部膨大についてそれぞれ所見と考えるところを述べた。

今回は細胞膜の微細構造についていささか興味ある所見を得たので報告してみたい。

細菌細胞膜、特に細胞壁の微細構造についての報告は Houwink³⁾, Dawson ら⁴⁾, Pease⁵⁾, 渡辺⁶⁾, 鈴木⁷⁾ があり夫々高分子の構造を報告している。

水スピリルムにあつてはかつて吉井ら⁸⁾ が細胞被膜について報告したが、彼らの電子像は若干の微細顆粒と二重被膜を認めたに過ぎなかつた。

著者がここに述べんとするのは *Spirillum voltans* と思われる大型スピリルムの細胞被膜についてであつて、粒状構造及び網状構造の像を呈示せんとするものである。

実験材料と実験方法

I 実験材料

供試菌材料

池、溝、プール、水田等の汚水を菌ブイヨン法で増菌培養し、スピリルムの豊富なものを使用した。

特に今回はスピリルムの分離培養は極めて困難であつたので、不純培養のまま長時間陳旧培養したものを使用した。

II 実験方法

1 標本調製

材料を暗視野鏡検してスピリルムの存在を確認し、遠心沈澱法で集菌、生理食塩水で3~4回洗浄、コロジオン膜上にのせて乾燥、Cr-Shadowing を施した。

2. 電子鏡検

これには JEM-T₄ 型電子顕微鏡、加速電圧50 KV を使用した。

所 見

鏡検にあたり、大型スピリルム即ち, *Spirillum voltans* と思われる菌を特にマークして撮影したのであるが、概して ghost cell が多かつた。

ghost cell は原形質が消失し、主として被膜が残存しているので研究目的に好都合であつた。

写真1は ghost cell の一部、特に末端部を示したものである。

細胞被膜は二重構造を示している。

被膜表面は若干の皺がある他に異物と思われる大小区々の顆粒がみられるのみで、被膜自体には微細構造はみられない。

写真2も ghost cell の一部で、その末端部を示したものである。

細胞被膜は二重の膜構造を示し、各所において破れ且つ皺壁を形成している。

破れ口から被膜の内側面が覗がわれる。しかし乍ら、この電子像では被膜表面は極めて微小な粒子が充満して粗糙である他は特記すべき所見はなく、又表面と内側面との間に著しい差異も認められない。

写真3は semi ghost cell の末端を示すものである。

被膜表面は極めて微小な顆粒、それも必ずしもすべて球形ではなくて細長い粒子状のものが規則的とは云い難

SHIMOI Kazuyuki: Studies on the water spirilla as revealed by the electron microscope. Part III. Fine structure of cell membrane. Department of Microbiology, Yamaguchi Medical School, Ube-City. Department of Obstetrics and Gynecology, Yamaguchi Medical School, Ube-City. —Jap. J. of Bact., 15(7), 643-649, 1960.

いがある方向性をもつて配列している感を与える。

部位によつては細胞体縁辺に併行に、他の部位では斜行状態に並んでいる様である。

写真4も semi ghost cell の一部であつて、被膜の表面状態が写真3よりも遙かに著明である。

この写真では明らかに striated structure と呼ぶに相応しい様相を示している。

各線条の太さ及び間隔は精密に測定し難いが、1000 Å の間に15本の線条が算えられる。

線条と間隔とが等しいと仮定すれば、30~40 Å 程度の値が与えられる。

写真5は著明な plasmolysis を惹起した菌体の一部であつて、細胞体中央の高密度の部分は原形質の集塊であつて、その両側に細胞被膜が認められる。

この菌体の被膜も部位によつてかなりの差が感じられる。

しかし乍ら、概してA, B, Cの三カ所共通して見られるのは net-work like structure が見られることである。

この net-work like structure を構成しているのは二次元に展開している striae である。

一本の striae の太さは 100 Å 程度と思われるが、正確な値は期し難い。

「A」, 「B」域においては net-work like structure は著明である部分と不明瞭な部分があるが、「C」域は striae の一方向併列が著明であるのみである。

又。部位によつては何らの構造も見られない。

以上総括すると大型スピリウムにおいては、

1. 細胞被膜が二重構造を示すものと示さないものもあり
 2. 細胞被膜の表層が滑沢無構造に見えるものと微小顆粒状のものもあり
 3. 表面構造の複雑なものには線条形成のものと網状構造のものもあり
- であつて、なかなか複雑である。

考 察

1. 細胞被膜の二重構造について

写真1, 2に見られる二重被膜構造について詳しく観察すると外層は勿論であるが、内層被膜もよく発達しているのがうかがわれる。

これらの被膜は特別の物理化学的処理を加えたものでなく、陳旧培養において自然的に老廃した ghost cell であるが故に人工産物像でないと思ふべきである。

さすれば細菌細胞形態構造学の見地からすれば、外被膜は細胞壁であり、内被膜は原形質膜と考えるのが適当であるようだ。

とすると原形質膜は原形質の界面膜ではなくて分化したかなり安定鞏固なゲル状の被膜であると見做されることになる。

この様な考え方はすでに同じく水スピリウムにおける吉井ら⁸⁾の研究報告にも述べられているのであるが、今著者は改めて賛意を表する次第である。

2. 細胞壁の微細構造について

所見で既述した如く、細胞被膜(細胞壁)表面にみられる微細構造のうち、写真2の如く極微粒子の全表面充滿の状態、写真3の如く細長粒子の全表面配列の状態、写真4の如く net-work like structure の存在など仲々に複雑である。

著者は写真1から5迄の菌はすべて *Spirillum voltans* であろうと推察するのであるが、果してもしそうであるならば、何故かくの如く菌体個々によつて異なつた像を呈するのであるかと疑ふ必要がある。

この仮定に立脚して考えてみるに、細胞壁は複雑な構成をなしていて、菌体個々の存在状態の如何によつて現出の仕方が異なってくるのではないかと、との推測も可能である。

Bacillus aneurinolyticus における渡辺⁹⁾, *Clostridium thiaminolyticum* における鈴木⁷⁾も同様な見解をとつてゐる。

しかし乍ら、この推定も写真3と写真4の様な類似像の場合は余り無理もないかも知れないが、写真5の如く net-work like structure の出現という様な場合は写真3及び写真4の様な場合と余りにもかけ離れた様な感じであるので、かなりの無理感が伴うのも尤もである。

ここに菌の個体差に由来することにも考慮を致さねばならない。

かつて Houwink¹⁰⁾は *Spirillum* の巨大なもの(恐らく *Spirillum voltans* と思われるもの)の細胞壁の微細構造について観察し、hexagonal particle の格子状配列を示したが、それも1~2個の菌体にとゞまり、他の菌体では明瞭でなかつた。

なお、Pease¹¹⁾は一種のスピリウムの細胞膜において細胞体長軸に併走する線状構造物を認めている。

これも多数の写真のうち、僅かのものに認められたに過ぎない。

吉田ら⁹⁾の研究をみても同一種の細菌細胞壁の電子像が常に一定の所見を示すとは決まつていない様である。

写真 1

写真 3, 4

同一の species においても然り、まして species が異なれば異なる像が出てきても当然のことである。

更に標本調製の術技の差、それに伴う諸影響等が加われば尚更のことである。

さて、極微粒子と云い、細長棒状粒子と云い、又線状構造物、net-work like structure の種々なる状態は何れも細胞壁の構成の一面を表現しているに違いない訳であるが、夫々の相異はそのままとして、組成的には何であろうか。

元来、植物系統とされている細菌細胞にあつては、細胞壁はセルロースが多量含まれていると云われているのであるが、この菌の電子像の場合、セルロースの高分子の組成を具現しているとも考えられないこともない。しかし、これらの電子像のみでは断言できない。

電子回折法による所見を得れば決め手となることも可能であろう。

以上要するに細胞壁の微細構造は報告者によつて、菌によつてかなりの差異があり、又複雑であり、従つてこれらを整理統一して物体的基本構成を決めることは困難である。

今回は著者は単に所見の呈示に留めたい。

要 約

藁ブイヨン法によつて増菌培養した *Spirillum voltans* と思われる大型スピリルムの細胞被膜を電子顕微鏡で観察し、二重被膜構造の見られる場合のあることを認め、外被膜を細胞壁、内被膜を原形被膜であると見做した。

細胞壁表面には微小粒子、棒状粒子、線状構造、網状構造のあることを認め若干の考察を加えた。

御指導、御校閲をいただいた林良二教授に深謝の意を

表する。

尙、御援助をいただいた吉井善作助教授、杉原和民氏並びに電子顕微鏡の使用を許された日本電子光学研究所に厚く御礼を申し上げる。

文 献

- 1) 下井一之：電子顕微鏡による水スピリルムの研究 第一篇、粘液層について、山口医学, 8, 印刷中, 昭34.
- 2) 下井一之：電子顕微鏡による水スピリルムの研究 第二篇、鞭毛根部について、日本細菌学雑誌, 印刷中.
- 3) Houwink, A. L. : A macromolecular mono-layer in the cell wall of *Spirillum spec.* Biochim. Biophys. Acta, 10, 360-366, 1953.
- 4) Dawson, I.M. and Stery, H. : Periodic structure in the flagella and cell walls of a bacterium. Biochim. Biophys. Acta., 15, 325-331, 1954.
- 5) Pease, P. : Some observations upon the development of mode of attachment of the flagella in *Vibrio* and *Spirillum* species. Exp. Cell Research, 10, 234-237, 1956.
- 6) 渡辺毅敏：Bacillus aneurinolyticus の電子顕微鏡的研究、第一篇、細胞壁について、日本細菌学雑誌, 13, 983-993, 昭33.
- 7) 鈴木照男：Clostridium thiaminolyticum の電子顕微鏡的研究、第三篇、細胞壁の微細構造、日本細菌学雑誌, 印刷中.
- 8) 吉井善作、渡辺毅敏：水スピリルムの電子顕微鏡的研究、その二、細胞被膜について、東京医事新誌, 73, 13-14, 昭31.
- 9) 吉田長之、他3名：細菌細胞膜に関する研究、第6回日本細菌学会中国四国支部総会演説要旨、日本細菌学雑誌, 9, 176, 昭29.