

平成 21 年 5 月 15 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007 年度～2008 年度

課題番号：19570053

研究課題名 (和文) 酵母サッカロミセス細胞のストラクトーム解析

研究課題名 (英文) Structome analysis of yeast *Saccharomyces* cell

研究代表者

氏名 (ローマ字)：山口正視 (Masashi Yamaguchi)

所属機関・部局・職：千葉大学・真菌医学研究センター・准教授

研究者番号：90147364

研究成果の概要：サッカロミセス・セレビスエ S288C 株の指数増殖期の細胞を急速凍結法により固定し、連続超薄切片を作成した。現在 1 個の細胞の解析を終えたところで、この細胞に、ミトコンドリアは 2 個、液胞は 2 個、小胞体は 16 個、オートファゴソームは 2 個存在し、ミトコンドリアは細胞の体積の 1%、液胞も 1%、核は 10%、細胞壁は 16%、小胞体は 0.5% の体積を占めることがわかった。すでに報告したエキソフィアラと比べて大きな違いがあることが明らかになった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 19 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
平成 20 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：形態・構造

キーワード：酵母、細胞、ストラクトーム、電子顕微鏡、凍結置換法、連続超薄切片法、三次元再構築

1. 研究開始当初の背景

2006 年、細胞のすべての成分の電子顕微鏡レベルでの三次元的、定量的構造情報を意味する「ストラクトーム」という概念が提唱された。しかし、これまで、ストラクトーム解析がなされたのは、エキソフィアラ真菌のみであった。

2. 研究の目的

本研究は、現在最も一般的な研究材料として用いられている酵母サッカロミセス・セレビスエで、ストラクトーム解析を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

試料作製法として、細胞の最も自然な形態を保持するとされる凍結置換固定法を用い

た。エポキシ樹脂に包埋した酵母細胞の連続超薄切片を作製し、プリント画像をコンピュータに取り込んで解析を行った。

4. 研究成果

1 個の細胞のストラクトーム解析で、この細胞に、ミトコンドリアは 2 個、液胞は 2 個、小胞体は 16 個、オートファゴソームは 2 個存在し、ミトコンドリアは細胞の体積の 1%、液胞も 1%、核は 10%、細胞壁は 16%、小胞体は 0.5% の体積を占めることがわかった。すでに報告したエキソフィアラのストラクトームでは、ミトコンドリアは細胞の体積の 10%、液胞は 6% を占めるという結果なので、同じ酵母でもストラクトームの構成に大きな違いがあることが明らかになった。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

1. Ikeda R, Saito F, Matsuo M, Kurokawa K, Sekimizu K, Yamaguchi M, Kawamoto S: Contribution of the mannan backbone of cryptococcal glucuroxylomannan and a glycolytic enzyme of *Staphylococcus aureus* to contact-mediated killing of *Cryptococcus neoformans*. J Bacteriol 189: 4815-4826, 2007.
2. Enczi K, Yamaguchi M, Sipiczki M: Morphology transition genes in the dimorphic fission yeast *Schizosaccharomyces japonicus*. Antonie van Leeuwenhoek 92: 143-154, 2007.
3. Yamaguchi M, Ohkusu M, Biswas SK, Kawamoto S: Cytological study of cell cycle of the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. Jpn J Med Mycol 48: 147-152, 2007.
4. 山口正視: 電子顕微鏡試料作製におけるトラブルシューティング 特集にあたって。顕微鏡 42: 3, 2007。
5. 山口正視: 微生物試料作製におけるトラブルシューティング。顕微鏡 42: 26-28, 2007。
6. Yamaguchi M, Danev R, Nishiyama K, Sugawara K, Nagayama K: Zernike phase contrast electron microscopy of ice-embedded influenza A virus. J Struct Biol 162: 271-276, 2008.
7. Kitahara H, Kobayashi Y, Yamaguchi M, Fujimoto Y, Nameki M, Nakayama T, Kuroda N, Komuro I: Damage to polymer of undelivered sirolimus-eluting stents. The Journal of Invasive Cardiology 20: 130-133, 2008.
8. 山口正視、岡田 仁、Radostin Danev、西山清人、菅原敬信、永山國昭: 位相差電子顕微鏡によるウイルス観察。顕微鏡 43(2): 115-120, 2008.
9. 山口正視: シンポジウムのまとめ B-21 Mycology and parasitology (Frontier studies in fungal research)。顕微鏡 (第 16 回国際顕微鏡学会会務記録) 42 (捕冊): 93, 2008.
10. 山口正視: シンポジウムのまとめ B-21 Mycology and parasitology (Frontier studies in fungal research)。第 16 回国際顕微鏡学会議 (IMC16) 記念集: 93, 2008.
11. 山口正視: 第 1 回ワークショップの前半

のまとめと感想。可視化技術の最前線'04~'06: 123-124. 認定NPO法人総合画像研究支援。東京, 2008.

[学会発表] (計 30 件)

1. 山口正視: 失敗しないための微生物試料作製法。日本顕微鏡学会第 63 回学術講演会, 発表要旨集: 44. 新潟, 5月20~22日, 2007.
2. 山口正視, 清水仁聡, Radostin Danev, 西山清人, 菅原敬信, 永山國昭: 氷包埋したインフルエンザウイルスの位相差電子顕微鏡観察。日本顕微鏡学会第 63 回学術講演会。発表要旨集: 66. 新潟, 5月20~22日, 2007.
3. 山口正視: 酵母細胞のストラクチャー解析。NPO 法人・総合画像研究支援サイエンスカフェ。東京, 6月9日, 2007.
4. 山口正視: 酵母細胞のストラクチャー解析。日本顕微鏡学会第 51 回シンポジウム。発表要旨集: 97-100. 徳島, 10月19~20日, 2007.
5. 山口正視, 大楠美佐子, 川本 進: 酵母サッカロミセス細胞のストラクチャー解析にむけて。日本顕微鏡学会第 63 回学術講演会。発表要旨集: 188. 新潟, 5月20~22日, 2007.
6. 山口正視: 酵母細胞のストラクチャー解析。第 4 回真菌分子細胞研究会。プログラム・要旨集: 28. 千葉, 8月26~27日, 2007.
7. 清水公德, 李 皓曼, 渡辺 哲, 亀井克彦, 山口正視, 川本 進: クリプトコッカスの遺伝子破壊効率向上への取り組み。第 4 回真菌分子細胞研究会。プログラム・要旨集: 22. 千葉, 8月26~27日, 2007.
8. 山口正視, 大楠美佐子, 川本 進: 酵母サッカロミセス細胞のストラクチャー解析にむけて。第 48 回日本組織細胞化学会総会、第 39 回日本臨床分子形態学会総会合同学術集会。講演プログラム・予稿集: 94. 甲府, 9月28~29日, 2007.
9. 山口正視, 大楠美佐子, 川本 進: 酵母サッカロミセス細胞のストラクチャー解析。第 51 回日本医真菌学会総会。真菌誌 48 (増刊 1 号): 87, 高山, 11月9~10日, 2007.
10. 清水公德, 山口正視, 川本 進: 第 51 回日本医真菌学会総会。真菌誌 48 (増刊 1 号): 89, 高山, 11月9~10日, 2007.
11. 村山琮明, 山口正視, 川本 進, 新見昌一, 梶原 将: *Candida albicans* 脂肪酸不飽和化酵素遺伝子 (CaFADs) 破壊株の表現型とトランスクリプトーム解析。第 51 回日本医真菌学会総会。真菌誌 48 (増刊 1 号): 89, 高山, 11月9~10日, 2007.

12. 倉内寿孝、上野将明、小笠原綾子、渡部俊彦、三上 健、山口正視、知花博治、松本達二: *Candida glabrata* 増殖形態に及ぼす亜硫酸ナトリウムの影響. 第 51 回日本医真菌学会総会. 真菌誌 48 (増刊 1 号): 93, 高山, 11 月 9~10 日, 2007.
13. 清水公德, 李皓曼, 渡辺哲, 亀井克彦, 山口正視, 川本進: DNA リガーゼ遺伝子破壊による *Cryptococcus neoformans* 相同組換え効率への影響. 第 7 回糸状菌分子生物学コンファレンス. 2007 年 11 月 15~16 日.
14. 川本 進、山口正視、清水公德: 病原酵母 *Cryptococcus neoformans* の細胞増殖・細胞死の機能形態研究真菌ワークショップ 2007 年 8 月 23 日
15. Ikeda R, Saito F, Matsuo M, Kurokawa K, Sekimizu K, Yamaguchi M, Kawamoto S: The contribution of the mannan backbone of cryptococcal glucuronoxylomannan and a glycolytic enzyme of *Staphylococcus aureus* to contact mediated killing of *Cryptococcus neoformans*. The 7th Awaji International Forum on Infection and Immunity. 2007 年 9 月 1~5 日.
16. 池田玲子、斉藤史人、松尾美記、黒川健児、関水久、山口正視、川本 進: 細菌 *Staphylococcus* 付着による病原真菌 *Cryptococcus* の死滅誘導— 真菌・細菌相互作用の新規分子機構. 第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会合同大会. 2007 年 12 月 11~15 日
17. 山口正視、岡田 仁、大楠美佐子、川本進: 酵母サッカロミセス細胞のストラクチャー解析. 日本顕微鏡学会第 64 回学術講演会, 発表要旨集: 18. 京都, 5 月 21~23 日, 2008.
18. 山口正視: 位相差電子顕微鏡によるウイルス観察. 日本顕微鏡学会第 52 回シンポジウム, 発表要旨集、顕微鏡 43 (Supplement 1): 98-101. 千葉, 10 月 17~18 日, 2008.
19. 山口正視、岡田 仁、Radostin Danev、西山清人、菅原敬信、永山國昭: 氷包埋したインフルエンザウイルスの位相差電子顕微鏡観察. 日本顕微鏡学会第 64 回学術講演会, 発表要旨集: 28. 京都, 5 月 21~23 日, 2008.
20. Ochoa de Eribe J A, Virtudazo E, Li H, Shimizu K, Yamaguchi M, Kawamoto S: RNA interference in *Cryptococcus neoformans*: complications and solutions. RNAi World Congress Boston. 30th April - 2nd May, 2008.
21. Yamaguchi M: Dynamics of the spindle pole body in a pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans* by electron microscopy. Japan-China Pan Asia Pacific Mycology Forum. Abstract p. 57, Changchun, China. Jul 27-Aug. 5, 2008.
22. Yamaguchi M, Ohkusu M, Kawamoto S: Dynamics of the spindle pole body during the cell cycle in *Cryptococcus neoformans* examined by freeze-substitution electron microscopy. 7th Internat. Conf. Cryptococcus & Cryptococcosis. Program and abstract p. 106, Nagasaki. Sept. 11-14, 2008.
23. Yamaguchi M, Okada H, Ohkusu M, Kawamoto S: Structure of yeast cells by freeze-substitution and serial ultrathin sectioning electron microscopy. 9th Asia-Pacific Microscopy Conference, Jeju, Republic of Korea, Nov 2-7, 2008.
24. Yamaguchi M, Okada H, Danev R, Nishiyama K, Sugawara K, Nagayama K: Zernike phase contrast electron microscopy of ice-embedded influenza A virus. 9th Asia-Pacific Microscopy Conference, Jeju, Republic of Korea, Nov 2-7, 2008.
25. Yamaguchi M, Okada H, Danev R, Nishiyama K, Sugawara K, Nagayama K: Zernike phase contrast electron microscopy of ice-embedded influenza A virus. 39th NIPS International Symposium "Frontiers of Biological Imaging", pp. 106, Okazaki, Nov 10-12, 2008.
26. 山口正視、岡田 仁、Radostin Danev、西山清人、菅原敬信、永山國昭: 位相差電子顕微鏡で見たインフルエンザウイルス (写真コンクール). 日本顕微鏡学会第 64 回学術講演会, 発表要旨集: 243. 京都, 5 月 21~23 日, 2008.
27. 山口正視、岡田 仁、大楠美佐子、川本進: 酵母サッカロミセス細胞のストラクチャー解析. 日本微生物資源学会第 15 回大会. 要旨集: 62. 千葉, 6 月 30 日~7 月 2 日, 2008.
28. 山口正視: 凍結置換電顕法による酵母細胞のストラクチャー解析. 第 5 回真菌分子細胞研究会・第 2 回真菌ワークショップ. プログラム・要旨集: 12. 千葉, 8 月 22 日, 2008.
29. 山口正視、大楠美佐子、川本 進: 酵母細胞のストラクチャー解析. 千葉大学オープンリサーチ. 千葉大学オープンリサーチ 2008: 34. 千葉, 9 月 6 日, 2008.
30. 山口正視、大楠美佐子、川本 進: 酵母

細胞のストラクチャー解析. 第 52 回日
本医真菌学会総会. 真菌誌 49 (増刊 1
号) : 101, 長崎, 9月 10~11日, 2008.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山口 正視 (Masashi Yamaguchi)

千葉大学・真菌医学研究センター・准教授

研究者番号 : 90147364