

酸素ラジカル殺菌におけるミドリカビ胞子の細胞内構造の観察

Observation of intracellular structure of *P. digitatum* spores treated with oxygen radicals名城大¹, 名大院工²○橋爪博司¹, 岡 有也¹, 唐渡卓也¹, 太田貴之¹, 竹田圭吾², 石川健治², 堀 勝², 伊藤昌文¹Meijo Univ.¹, Nagoya Univ.²○Hiroshi Hashizume¹, Yuya Oka¹, Takuya Towatari¹, Takayuki Ohta¹, Keigo Takeda²,Kenji Ishikawa², Masaru Hori², Masafumi Ito¹

E-mail: dft0tf17@meijo-u.ac.jp

1. はじめに

我々は、中性の活性酸素種の殺菌に対する効果に注目し酸素ラジカル密度の測定に基づいた定量的な解析を行い、基底状態の酸素原子[O(³P_g)]がミドリカビ (*Penicillium digitatum*)胞子の主要な殺菌因子であることを明らかとした^{1,2)}。また、その殺菌過程において、酸素ラジカルは短時間の処理により胞子の形態を大きく変化することなく細胞壁や細胞膜の機能を阻害し、胞子の不活性化をもたらすことを明らかとした³⁾。本検討では、酸素ラジカルによる殺菌メカニズムをさらに明らかにするためミドリカビ胞子の細胞内部の構造が酸化によってどのように変化するかに着目し、共焦点レーザ顕微鏡や透過型電子顕微鏡を用いて胞子の殺菌過程を観察した。

2. 実験方法

ミドリカビ胞子懸濁液をシャーレ上に滴下し乾燥後、酸素ラジカルを照射した。中性の活性酸素種のみ照射できる非平衡大気圧酸素ラジカル源を用いた。大気の影響を除去するため、ラジカル出射部およびシャーレをプラスチックカバーで覆いArガスで十分に満たしてから酸素ラジカルを照射した。回収した胞子を、過酸化脂質を標識する蛍光色素diphenyl-1-pyrenylphosphine (DPPP)で染色して共焦点レーザ顕微鏡で観察した。

3. 実験結果および考察

図1(a)および(b)に未照射および酸素ラジカルを7分間照射したミドリカビ胞子のDPPP染色像を示す。これまでの検討より、7分間照射によりほぼ全ての胞子が殺菌されることを明らかとしている^{1,2)}。図1(a)に示すように、未照射の胞子においては蛍光像が検出されなかった。その一方で、図1(b)に示す7分間酸素ラジカル照射した胞子では、細胞内部全体に蛍光が検出された。これらの結果から、酸素ラジカル照射により細胞内部が酸化され過酸化脂質が蓄積し不活性化することが示唆された。当日は、細胞内部の酸化状態および構造変化と殺菌速度との相関をより詳細に議論する。

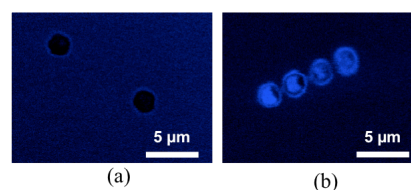
1) S. Iseki, et al., Appl. Phys. Express, **4**, 116201 (2011).2) H. Hashizume, et al., Appl. Phys. Lett., **103**, 153708 (2013).3) H. Hashizume, et al., Jpn. J. Appl. Phys, **53**, 010209 (2014).

図1 未照射(a)および酸素ラジカル照射したミドリカビ胞子(b)のDPPP染色像