

## 1. 芽胞の耐熱性は含水率で決まる—様々な含水率の芽胞を走査型プローブ顕微鏡で計測した物理項目から耐熱性を評価する

○中西弘一 1、桑名利津子 2、高松宏治 2

1：ナノ・マイクロバイオ研究所—中西技術士事務所、2：摂南大学薬学部

### 1. 目的・背景

我々は走査型プローブ顕微鏡（Scanning Probe Microscope :以下 **SPM**）を用いて、超微小レベルで細胞 1 個の様々な物理的評価を行うナノサーチ技術を開発している。これまでに、芽胞形成細菌の芽胞の硬さ、転移温度、熱線膨張率と加熱温度と加熱時間から求められる D 値と比較すると高い相関係数があることや 2009 年から継続して報告している。そして 2017 年の第 27 回では、含水率の異なる芽胞と、芽胞のヤング率、転移温度、熱線膨張そして熱伝導率を、それぞれ比較し、芽胞の耐熱性には含水量が関係していることが推察されることを報告した。

芽胞形成時において芽胞内部へジピコリン酸が取り込まれることで脱水および内部圧力上昇のため芽胞は耐熱性を保持していることが報告されている(Parcedes et al., 1994)。本研究では、含水率の異なる芽胞を調製し、**SPM** によって計測した耐熱性を示す各物理項目と各芽胞の含水率を比較し、芽胞の耐熱性のメカニズムの解析を試みた。

### 2. 方法

耐熱性の異なる *Bacillus* 属細菌を 5 菌株用いた。各菌株の芽胞を、風乾で乾燥したものと真空乾燥機（ヤマト）により 50℃で乾燥時間を変えて乾燥したもので 4 段階の含水率の異なる芽胞を調製した。含水率はナノスケール赤外分光分析システム（**AFM-IR**）（日本サーマル）により計測した。各種 **SPM** を用いて、超微小レベルで芽胞 1 個の物理的評価を行った。芽胞の大きさ（体積）並びに Z 軸方向の高さは 2 次元並びに 3 次元画像から、芽胞の硬さ（ヤング率）からナノインデンションフォースカーブ法から、熱線膨張率やこれが変化する転移温度そして熱伝導率はナノサーマルアナリシス (nanoTA)（日本サーマル）—**SPM** システム（走査型熱顕微鏡（Scanning Thermal Microscope:以下 **SThM**））（島津製作所）により計測した。

### 3. 結果

耐熱性の異なる 5 種類の *Bacillus* 属細菌株の芽胞について、耐熱性 D 値と **SPM** や **SThM** で求めたヤング率、転移温度、熱線膨張率及び熱伝導率はそれぞれ高い相関を示した。また芽胞の含水率も耐熱性と同様にそれらと高い相関を示した。従って芽胞の耐熱性に深く関係する要因は芽胞の含水率であり、含水率が低いほど耐熱性が高くなり、ヤング率や転移温度も高くなり、線膨張率や熱伝導度は低くなった。本研究成果より、**SPM** や **SThM** による 1 個の芽胞から計測した物理的評価項目から、芽胞の含水率が低下することにより、芽胞内部を緻密化することで熱伝導率を低下させ、耐熱性を高めることを明らかにした。