

# 29amE-057

蛍光顕微鏡観察による芽胞不活化および発芽阻害作用の評価方法の開発研究

○桑名 利津子<sup>1</sup>, 高松 宏治<sup>1</sup>, 今村 大輔<sup>1</sup>, 渡辺 雄太<sup>2</sup>, 木ノ内 智之<sup>2</sup>,  
藤田 康弘<sup>2</sup>, 出内 桂二<sup>2</sup>, 渡部 一仁<sup>1</sup>(<sup>1</sup>摂南大薬,<sup>2</sup>キリンビバレッジ・コア技術研)

【目的】細菌芽胞は防除が困難であり，食品や医薬品の衛生管理を行う上で重要な存在となっている．食品や医薬品の安全性や品質を向上させるためには，芽胞を不活化したり発芽後成長を阻害するための技術とその評価方法の確立が重要である．本研究では，種々の蛍光プローブを用いた蛍光顕微鏡観察により，各種化学物質がどのように作用して芽胞を不活化または発芽を阻害するかを，細胞レベルで検討した．

【方法】エタノール，塩化ベンザルコニウム，SDS，Triton X-100 をそれぞれ適当量添加した溶液に，枯草菌精製芽胞を懸濁し，37℃で7日間静置した．各種薬剤を洗浄・除去した後，芽胞をLB培地に懸濁し，位相差顕微鏡観察と2種類の核酸染色プローブ，Hoechst 33342 (HC)およびPropidium iodide (PI)を用いた蛍光顕微鏡観察を行った．HCは生細胞および膜損傷細胞のDNAを，PIは膜損傷細胞のDNAのみを染色することから，細胞の生死判定に用いられている．

【結果と考察】塩化ベンザルコニウムで処理した芽胞は灰色化し，LB培地を添加後も発芽反応が認められなかった．またいくつかの芽胞においてHCおよびPIにより染色体DNAが染色された．次に，精製芽胞に各種薬剤をそれぞれ含むLB培地に懸濁し，同様の観察を行った．エタノール存在下の芽胞は形態が変化しなかったため，発芽反応の開始が阻害されたことが示唆された．その他の薬剤については発芽反応を開始したが，いずれも発芽後成長には至らなかった．これらの発芽芽胞はHCおよびPIによりDNAが染色された．以上の結果から，位相差顕微鏡と蛍光顕微鏡の併用で，種々の化学物質による芽胞の不活化および発芽阻害作用を細胞形態レベルで評価できることが示された．