

レーザー誘起表面変位顕微鏡を用いた枯草菌胞子の粘弾性特性の非接触計測

(東理大院総化¹・埼玉大院理工²)

○城戸優梨子¹・森作俊紀¹・朝井計²・由井宏治¹

【緒言】枯草菌胞子は、飢餓状態の枯草菌細胞が遺伝情報の保持のために形成する内径約 $1\mu\text{m}$ の頑丈な構造体である[1]。また、細胞の生育に適した環境下では、胞子はその内部に水を吸い込み、元の細胞に戻る[2]。このような胞子の特性から、胞子の粘弾性特性はその構造保持や生活環の機構の理解に重要である。胞子は、最外のコート蛋白質層、その内側のペプチドグリカン層、ガラス状の芯部の主に3層から構成される[3]。しかし、各層が胞子の粘弾性にどのように寄与しているかは未解明である。そこで我々は、独自に開発した μm スケールの対象の粘弾性特性を非接触計測可能なレーザー誘起表面変位 (LISD) 顕微鏡[4]を胞子1個の粘弾性計測に適用した。特に最外のコート蛋白質層に着目し、3層すべてを持つ野生株胞子とコート蛋白質層のみが欠損した胞子の粘弾性特性を比較することで、コート蛋白質層の粘弾性への寄与を明らかにすることを目的とした。

【実験】胞子は、ポリリジン処理したガラス基板に滴下し固定させた。レーザー光 (ポンプ光) を胞子1個に照射したとき、胞子は光圧による表面変位や、一部吸収した光の熱への変換によって体積膨張し、遮断すると元に戻る。このときポンプ光の強度を音響光学素子を用いて低周波数から高周波数まで変調させながら、胞子表面の周期的な表面変位量を別の波長のレーザー光 (プローブ光) の反射の光子密度変化から検出する。これを顕微鏡下で行うことで、非接触で1個の胞子の動的粘弾性計測を実現した。

【結果と考察】野生株 (*Bacillus subtilis* 168 *trpC2*) 胞子の LISD 計測の結果、4 kHz まで変位が外力に完全追従しているプラトー領域、4–100 kHz までの遷移領域、100 kHz 以上の信号がブラウン運動に埋もれて傾き-2となる領域というパワースペクトルが得られた [Fig. 1, ●]。一方、コート蛋白質層が欠損した枯草菌変異株 (*Bacillus subtilis* *spoIVA178*) 胞子では、0.6 kHz までのプラトー領域、0.6–70 kHz までの遷移領域、70 kHz 以上の信号がブラウン運動に埋もれた領域をもつパワースペクトルが観測された [Fig. 1, △]。どちらの場合でも低周波数領域でプラトー領域が観測されたことから、コート蛋白質層の有無に関わらず、胞子は弾性的に振る舞うことが示された。このとき、コート蛋白質欠損株の LISD 信号の方がより低周波数側でポンプ光強度の変調周波数に完全追従できなくなる事から、コート蛋白質欠損株は、野生株より粘性的な特性が大きいものと考えられる。以上、レオロジー計測の観点から、最外のコート蛋白質層は、胞子の弾性的特性を向上させる役割をもつ事が、我々の開発した LISD 顕微鏡を用いることで実験的に明らかにできたといえる。

[1] P. T. McKenney et al, *Nat. Rev. Microbiol.* (2013), **11**, 33–44. [2] O. Sahin et al, *J. R. Soc. Interface* (2012), **9**, 3156–3160. [3] A. Moir, *J. Bacteriol.* (1981), **146**, 1106–1116. [4] H. Yui and T. Morisaku 国際コロイド界面学会 (IACIS) 2012、Keynote Lecture.

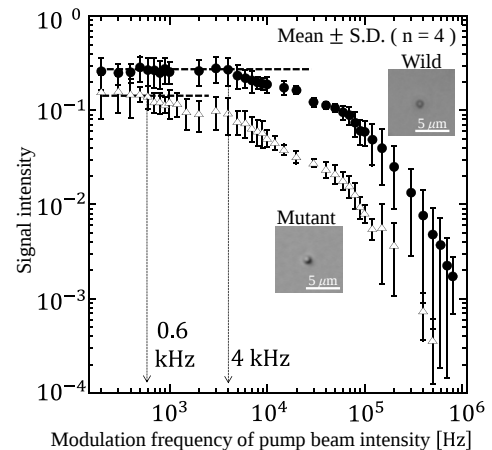


Fig 1. Power spectra for single *Bacillus subtilis* wild type (168trpC2, ●) and mutant (*spoIVA178*, △) spores

Noncontact Measurements on Viscoelastic Property of *Bacillus subtilis* Spores by the Laser-Induced Surface Deformation Microscope

Y. KIDO, T. MORISAKU, K. ASAI, H. YUI (Tokyo University of Science, yui@rs.kagu.tus.ac.jp)

We investigated the viscoelastic properties of single *Bacillus subtilis* spores by the laser-induced surface deformation (LISD) microscope, which enables us to measure the viscoelastic properties of interfaces with a non-contact manner. From the LISD power spectrum of a wild-type spore, its displacement was not able to follow at 4 kHz to the periodic ON/OFF of the pump beam intensity. On the other hand, the displacement of a mutant spore that lacked the outermost coat protein layer was at 0.6 kHz. Since viscosity of samples highly depends on applied frequency of external force, the decreased displacement at the lower frequency observed in the mutant spore showed that the spore had the higher viscous property than the wild-type spore. It was clarified that the outer coat protein layer in a spore played a role on the increase in the elastic property in a spore.