

[For Japanese authors only]

“Journal of Microorganism Control” 投稿論文
「和文ダイジェスト (Japanese Digest)」 執筆の手引き
〔日本人著者対象: 論文採択後の日本防菌防黴学会誌掲載用〕

1. 「和文ダイジェスト」について

日本防菌防黴学会では 2023 年から名称変更した英文誌の“Journal of Microorganism Control”を発刊していますが、購読しない読者も多くおられます。そこで、雑誌名の改称を機会にそれらの掲載論文の内容をもう少し詳しく、また学会が発信するこの英文学術情報を読みやすい和文の形で公開することを目的として、和文誌の日本防菌防黴学会誌に「和文ダイジェスト」として連載することになりました。著者にはやや負担増になりますが、ぜひとも原稿執筆と和文誌への内容公開にご協力をお願いいたします。なお、この査読は英文原著論文と同時に査読されます。

2. 執筆原稿の種類

掲載原稿の種類は、原著論文 (Original paper)、ノート (Note)、コミュニケーション (Communication)、レビュー (Review)、ミニレビュー (Minireview) とします。

3. 執筆様式

1) 論文表題、著者名、所属：

“Journal of Microorganism Control”に投稿論文記載の原文をそのまま転記してください (完全に一致していることを確認してください)。また、和文での表示も合わせて作成ください。

2) 執筆要領：

原著論文とノートは該当論文の研究目的を明示し、また、論文内容の要旨を紹介すること。コミュニケーション、レビュー、ミニレビューは論文内容の要旨を紹介する。原稿作成は日本防菌防黴学会誌の投稿要領を参照してください。本文のフォントは MS 明朝または Times New Roman の 12 ポイントを用い、化合物番号、数字はすべてアラビア数字を使用してください。

用紙は A4 判(縦)を使用し、1 ページに横打ち 25 字×32 行(800 字)とします。用紙の上と左右 2.5cm, 下は 3cm 程度余白を残し、図、表、引用文献は記載できません。この用紙 3 枚が刷り上がり約 1 ページ (2,400 字) に相当します。紹介掲載ページは 1 ページ程度としてください。

文字数は原著論文とレビューおよびミニレビューは約 2,000 字、ノートとコミュ

ニケーションは約 1,000 字を目途とします。

〔作成例〕旧名称の“Biocontrol Science”誌の掲載論文の「和文ダイジェスト」原稿例ですが、以下の書式に従って作成してください。

低温加熱による *Cladosporium sphaerospermum* 分生子の死滅と液胞損傷
Low-Temperature Heating-Induced Death and Vacuole Injury in *Cladosporium sphaerospermum* Conidia

堀切茂俊^{1,2}, 原田真美¹, 朝田良子^{1,3}, 坂元 仁³, 古田雅一^{1,3}, 土戸哲明^{3*}

HIGETOSHI HORIKIRI^{1,2}, MAMI HARADA¹, RYOKO ASADA^{1,3}, JIN J. SAKAMOTO³, MASAKAZU FURUTA^{1,3}, AND TETSUAKI TSUCHIDO^{3*}

¹大阪府立大学大学院工学研究科量子放射線系専攻、²パナソニックエコシステムズ(株)、

³大阪府立大学研究推進機構微生物制御研究センター

Biocontrol Science, vol. 27, no. 2, pp. 107-115 (2022)

マイルドな湿熱加熱は食品の低温加熱殺菌や環境殺菌で用いられ、その対象は細菌の栄養細胞や真菌が対象になる。低温加熱は細胞損傷をもたらして損傷菌を発生させるが、さらにはそれが細胞死をもたらすことが知られる。本研究では、*Cladosporium sphaerospermum* NBRC6348 分生子（無性孢子）における熱損傷の成長依存性および非依存性モードの評価方法を提案した前報に続き、真菌分生子の熱死滅パターンおよびメカニズムについて検討した。その結果、低温加熱により液胞が特異的に損傷して細胞死を引き起こすことが示唆された。

まず、用いた *C. sphaerospermum* の分生子が熱によってどのように死滅するかを、リン酸緩衝液中、43~54°Cの異なる温度で調べた。休止状態の分生子と、ヒドロキシル尿素を添加したポテトデキストロースブロス中で 24 時間培養した発芽分生子とも、熱死滅反応は 1 次反応速度論に従い、膨潤した分生子は休止状態より熱に対する耐性が高いことがわかった。また対照として *Aspergillus niger* の静止孢子も調べたところ、*C. sphaerospermum* のそれよりもかなり耐性であった。

加熱分生子の生存率データをもとに、死滅速度定数のアレニウスプロットをとったところ、*C. sphaerospermum* の静止孢子と膨潤孢子ともプロットの直線上に屈曲が現れることがわかった。この屈曲点の温度は、静止孢子で 47.2°C、膨潤孢子で 49.1°C で、これらを境に高温側と低温側での直線の勾配に比例する死滅反応の活性化エネルギーの値に大きな差が見られた。一方、*A. niger* の分生子ではこの屈曲が見られず、この現象は本菌に特異的なものとみられた。

本菌胞子の熱死滅反応における温度依存性の2相性は高温側と低温側で死滅機構が異なるものと想定し、過去の知見と顕微鏡観察の結果をもとに低温側では通常の熱死滅反応でみられない液胞破壊の可能性を推定した。そこで、低温側と高温側でのそれぞれの加熱胞子を酸性の液胞染色性のキナクリンで染色し、蛍光顕微鏡で細胞内部の色調変化を調べた。対照の未加熱胞子では液胞のみ緑色染色されたが、低温加熱では液胞と細胞質ともに染色される液胞破壊胞子数が増加した。一方高温加熱では、その傾向はみられず、両者の細胞質緑色染色胞子率を調べた結果、低温加熱ではこの比率が加熱中の生存数（CFU）の経時変化に対応したのに対し、高温加熱では比例しなかった。この結果は、低温加熱では液胞が破壊され、それが細胞死をもたらしている可能性を強く示唆している。一方、高温加熱ではおそらく従来から指摘されている細胞内タンパク質の熱変性が細胞死の要因と推察した。

次に、液胞破壊の結果、内部に包含されていたプロテアーゼが細胞質に放出されることを推定し、蛍光基質の CMAC-Ala-Pro を用いて低温加熱による作用を検証した。未加熱胞子では CMAC の蛍光は液胞のみに観察されたのに対し、低温加熱では細胞質にも蛍光が検出され、液胞破壊によって酸性化した細胞質に活性なプロテアーゼが放出されたことを示す結果が得られた。プロテアーゼ活性は低温加熱時間とともに上昇した。さらに作動したプロテアーゼをその阻害剤の種類を変えて調べた結果、システインプロテアーゼの関与が指摘された。

最近、真核生物の細胞死機構を説明する報告が多数出され、これにはアポトーシス、ネクローシス、オートファジー細胞死があるが、現在では制御細胞死と偶発的細胞死に統一されている。これまでの研究で、真菌の低温加熱細胞死はアポトーシス様細胞死として報告されてきているが、本研究では低温加熱による細胞死滅と液胞破壊の程度に相関がみられ、液胞の破壊によるプロテアーゼの分解活性が細胞死に関与すると推察されたことから、オートファジー様細胞死の可能性を指摘するとともに、得られた結果について過去の知見を引用して考察した。

結論として、我々は *C. sphaerospermum* 分生子の低温加熱は、液胞膜の透過性亢進を引き起こして液胞破裂を誘起し、最終的に不可逆的な細胞死をもたらすと推察した。本研究で得られた知見は、対象菌種は限定的であっても、カビ分生子を制御するための比較的低温での熱処理の有効な条件設計につながると期待される。[\[本文 1,643 字\]](#)

（脚注）* Corresponding author. 大阪府立大学大学院工学研究科量子放射線系専攻 〒599-8570 堺市中区学園町 1-2 電話 072-252-1161（内線）4219, E-mail: tsuchido@gmail.com