

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：13301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012～2013

課題番号：24810008

研究課題名(和文) 大気中に存在する氷核活性細菌の定量分析法の検討と野外実験への応用

研究課題名(英文) Tests of the quantitative analytical method for airborne ice nucleating bacteria and its application for field experiments

研究代表者

原 和崇 (Hara, Kazutaka)

金沢大学・環日本海域環境研究センター・博士研究員

研究者番号：90635971

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,200,000円、(間接経費) 360,000円

研究成果の概要(和文)：大気中に存在する氷核活性細菌の定量分析を行うための手法を検討した。氷核活性細菌 *Pseudomonas syringae* (人工降雪剤 Snowmax) に対して熱処理を併用した小滴凍結実験を行った結果、鉱物や真核生物などの氷晶核ではみられない低温処理による氷晶核能の低下が氷核活性細菌ではみられた。日本海側の降雪試料を用いた同様の実験においても、低温処理による氷晶核数濃度の低下がみられたことから、大気中に存在する氷核活性細菌の定量化に対する低温処理と小滴凍結法を組み合わせた手法の有用性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study is to test a quantitative analytic method for airborne ice nucleating bacteria. By the laboratory experiments, it was confirmed that the ice nucleating activity of *Pseudomonas syringae* (Snowmax: artificial snow inducer) was decreased by the heat treatment at low temperature. This heat sensitivity of ice nucleating bacteria is different from the sensitivities of other ice nuclei. It was also observed that the numbers of ice nuclei in fresh snow were decreased by the heat treatment at low temperature. This suggests that the heat sensitivity at low temperature may be one of the indicators for the quantitative detection of airborne ice nucleating bacteria.

研究分野：環境学

科研費の分科・細目：環境解析学・環境動態解析

キーワード：バイオエアロゾル 生物氷晶核 氷核活性細菌

### 1. 研究開始当初の背景

大気圏は微生物が普遍的に浮遊する地球最上層の生物圏である。これらの大気中微生物は衛生問題だけでなく、雲の形成を促す氷晶核として働くことで気候や水循環に影響を及ぼす可能性が示唆されている(Möhler et al., 2007)。微生物などの生物氷晶核に関する国際的・学術的関心は非常に高く、大気科学分野における最先端の研究課題の一つとして注目されている(e.g. Möhler and Hoose, Nature Geoscience, 2011)。氷晶核となる生物粒子は細菌・カビなどの微生物に加えて、花粉や生物の破片など、多岐にわたると推定されている(DeMott and Prenni, 2010)。氷晶核として働く微生物の中でも、非常に強い氷晶核作用を示す氷核活性細菌と呼ばれる細菌がこれまでに発見されている(e.g. Maki et al., 1974)。これらの微生物は水分の凍結を促す氷核タンパクを細胞内に合成し、氷晶の形成を促す氷晶核作用を示す。これらの氷晶核作用が大気中では氷雲の形成を促進する物質として働く。氷核活性細菌は-5℃前後で氷晶の形成を促すことが可能であり、粘土鉱物や火山灰が-15℃前後で氷晶の形成を促すことに比べても、氷核活性細菌の氷晶核作用は抜群に強い。そのため、大気中における氷雲形成や水循環のような物理・物理化学的なプロセスに対して直接的な影響をこれらの氷核タンパクを有する氷核活性細菌は及ぼすと考えられている。

しかしながら、大気中の氷核活性細菌を定量的に分析する手法は開発されておらず、それらの影響評価を定量的にどのように行うかは未だ確立されていない。

### 2. 研究の目的

大気中に存在する氷核活性細菌を定量するための手法を検討し、野外試料への応用を試みることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1)室内実験

氷核活性細菌 *Pseudomonas syringae* を使用した人工降雪剤 Snowmax を用いて、小滴凍結法による凍結実験を行った(図1)。Snowmax の懸濁液を  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$  に調整したものを試料液とした。試料液 0.5 ml をオートクレーブした 1.5 ml マイクロチューブに加え、-1℃毎に冷却した。計測は-3℃から-12℃の間で行い、各温度の凍結したチューブ数を計数した。次に、凍結させた液滴に対して 40℃の低温処理を行い、チューブ内の試料液を融解・加熱し、小滴凍結法による実験を再度行った。その後、凍結させた液滴に対して 90℃の高温処理を行い、チューブ内の試料液を融解・加熱後、小滴凍結法による実験をさらにもう一度行った。それらの計測結果から、Vali, 1971 の計算式を用いて氷晶核数濃度を算出

した。また、比較のため、粘土鉱物であるカオリナイトを用いた同様の実験を行った。カオリナイトの試料液は Snowmax と同様に  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$  の濃度に調整した。

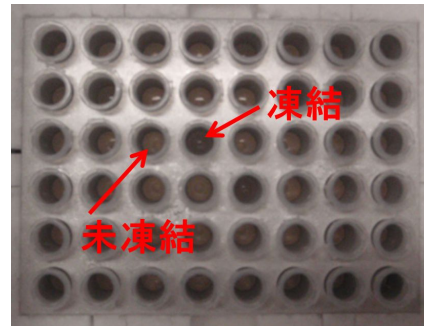


図1. 小滴凍結実験の様子

#### (2)野外実験

2013年1月から2月にかけて日本海側の降雪を採集した(図2)。試料の採集は金沢大学の構内で行い、オートクレーブしたプラスチックシート上に積もった降雪をオートクレーブしたプラスチックバッグに採集した。それらの降雪試料を 10℃以下の温度で保存・融解した。それらの試料液に対して前処理を行った後、試料液 0.5 ml をオートクレーブした 1.5 ml マイクロチューブに加え、-1℃毎に冷却した。測定は-5℃から-12℃の間で行い、各温度の凍結数を計数した。次に、それらの凍結した試料液を 40℃の低温処理を行い、チューブ内の試料液を融解・加熱し、凍結実験を再度行った。その後、凍結した試料液を 90℃の高温処理を行い、チューブ内の試料液を融解・加熱し、凍結実験をさらにもう一度行った。それらの計数結果から、室内実験と同様に Vali, 1971 の計算式から氷晶核数濃度を算出した。また、比較のため、能登半島先端の珠洲市に設置してある能登大気観測スーパーサイトにおいても降雪試料を採集した。



図2. 降雪試料の採集

### 4. 研究成果

#### (1)室内実験

室内実験の結果、*Pseudomonas syringae* を懸濁させた試料液では、加熱処理を行うごとに氷晶核数濃度が低下した(図3)。また、低温

処理と高温処理では計測される氷晶核数濃度が異なっており、氷晶核濃度は高温処理によって顕著に減少した。これらの実験結果は、氷核活性細菌の氷核タンパクが熱に弱く、加熱処理により氷核タンパクの氷晶核作用が失活したことを示している。加えて、低温処理と高温処理では氷晶核作用の低下に差がみられることが *Pseudomonas syringae* で明らかになった。また、粘土鉱物であるカオリナイトを用いた実験では加熱による氷晶核数濃度の変化は見られなかった(図4)。

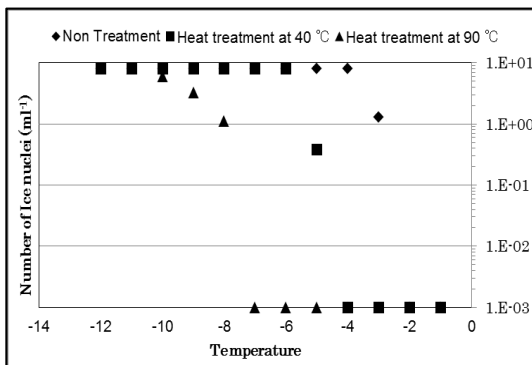


図3. *Pseudomonas syringae* の小滴凍結実験の結果

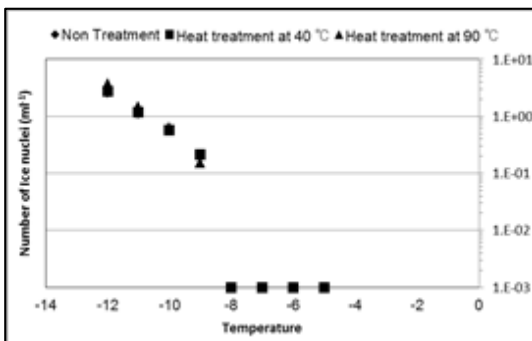


図4. カオリナイトを用いた小滴凍結事件の結果

## (2) 野外実験

野外実験では、氷晶核の影響を受けていると考えられる日本海側の降雪を実験に使用した。その結果、室内実験と同様の変化が野外実験においても観測され、氷晶核数濃度は加熱処理毎に低下した(図5)。また、低温処理後と高温処理後では氷晶核数濃度に差がみられた。これらの低温処理による氷晶核作用の低下は、氷晶核として働く鉱物や真核生物では報告されていない。そのため、低温処理による氷晶核数濃度の減少は、氷核活性細菌を定量するための指標の一つとして有用であることが示唆された。この性質を氷核活性細菌の定量化に対する明確な指標として使用するためにはより多くの室内・野外実験が必要であると考えられ、今後の研究が必要である。

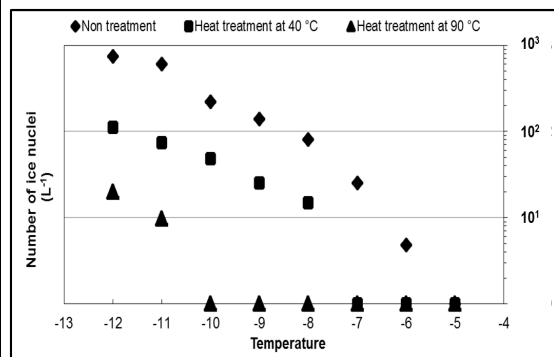


図5. 小滴凍結法による降雪中氷晶核濃度の計測結果

また、期間全体を通して 14 サンプル(金沢大学構内:12 サンプル,能登大気スーパーサイト:2 サンプル)の降雪試料を分析した。分析の結果,2 つの場所で採集したいずれのサンプルにおいても,加熱による氷晶核濃度の低下が観測された(図6)。平均すると,低温処理により失活する氷晶核(-8 °C)の割合は39%であり,高温処理により失活する氷晶核(-8 °C)の割合は55%であった。そのため,氷核活性細菌などの微生物が顕著な影響を及ぼすと考えられる比較的高い温度で作用する氷晶核の94%は熱に弱い氷晶核であった。これらの結果は,氷晶核の影響を受ける日本海側の降雪において,熱に弱い氷核活性細菌などの生物氷晶核が氷雲の形成や降雪に関与している可能性を示唆している。

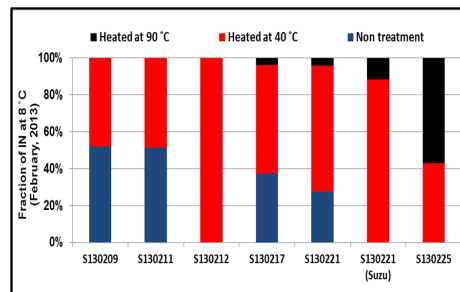
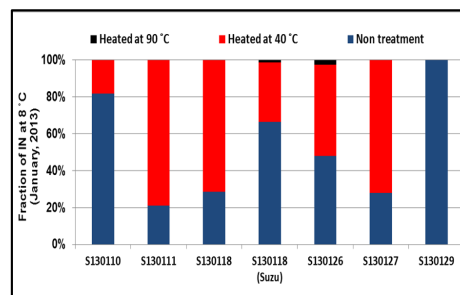


図6. 降雪中に存在する氷晶核の耐熱性。2013年1月(図上)及び2月(図下)

## 5. 主な発表論文等

[学会発表](計5件)

日本海側の降雪に対する生物氷晶核の影響：金沢における観測例 原和崇, 牧輝

弥, 岩田歩, 松木篤, 第 8 回大気バイオエアロゾルシンポジウム 2014 年 1 月 22 日 大阪大学中之島センター (大阪)

降雨に伴う氷晶核数濃度の増大と生物氷晶核との関連性 原和崇, 小林史尚, 松木篤, 第 8 回大気バイオエアロゾルシンポジウム 2014 年 1 月 22 日 大阪大学中之島センター (大阪)

Kazutaka Hara, Ayumi Iwata, Atsushi Matsuki Heat Sensitivity of Ice Nuclei in Fresh collected in Kanazawa, Japan, 19<sup>th</sup> International Conference on Nucleiation and Atmospheric Aerosols June 25<sup>th</sup>, 2013 Colorado State University (Fort Collins, Colorado USA)

金沢の降雪中に存在する生物氷晶核の計測 原和崇, 岩田歩, 松木篤, 第 6 回環日本海シンポジウム 2013 年 3 月 3 日 北國新聞会館 (石川)

金沢の降雪中に存在する生物氷晶核濃度の計測 原和崇, 岩田歩, 松木篤, 第 7 回大気バイオエアロゾルシンポジウム 2013 年 2 月 1 日 滋賀県立大学 (滋賀)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

原 和崇 (HARA KAZUTAKA)

金沢大学・環日本海域環境研究センター

研究者番号: 90635971

### (2) 研究分担者

該当なし

### (3) 連携研究者

該当なし