

Bacteriology バクテリア・微生物学

～身の周りのバクテリアについて～

氏田 彩花

兵庫県立神戸高等学校 2年

はじめに

バクテリアは人間よりも単純な組織で構成されているため観察がしやすく、増殖がとても速いので細胞周期の状況を研究しやすい。癌のモデルとして使われる場合もある。1928年, Sir Alexander Fleming によりペニシリンが発見されたが, 抗生物質の多くはバクテリアにより産生される。人間の細胞や病気の研究に様々な状況で実験できるバクテリアの研究は重要であり, 興味を持っていたので, このプロジェクトを選んだ。

目的

バクテリアが抗生物質に対する耐性があるか, 抗生物質を産生するか, quorum sensing (クオラム センシング; バクテリア同士の会話) をするかについて, 身の周りに存在しているバクテリアの性質を調べた。

方法

1. 調べるバクテリアの決定

日本とイギリスの生徒が1人ずつペアになり, 3グループに分かれて研究室の内外でバクテリアを採取し, 実験材料となるバクテリアを探した。

[採取場所]: エアコンの室外機, 自動車タイヤ, 土, 排水口, 木製椅子, 研究室内の水道の蛇口, 靴の裏, ヒトの手, 英国コイン



[評価方法]

1-1. 採取したバクテリアを表.1に示す寒天培地に植え付

表 1. 使用した培地の種類

培地名	繁殖するバクテリア
LB寒天培地	全てのバクテリア
マッコンキー寒天培地	グラム陰性(細胞が細胞膜・細胞壁・細胞膜で覆われている)バクテリア
マンニット食塩寒天培地	グラム陽性(細胞が細胞膜・細胞壁で覆われている)バクテリア
ヒツジ血液寒天培地	ヘモグロビン分解酵素を持つバクテリア

け, 37℃で一夜置き, 培養した。

1-2. コロニーの様子や形, 色などを細かく観察, 記録した。

[評価結果と考察]

- ・バクテリアが繁殖したのは, 自動車タイヤ, 土, 排水口, 木製椅子, 靴の裏, ヒトの手, 英国コインで, 中でも排水口と靴の裏に繁殖したコロニーが多かった。
- ・ほこりや汚れが多い場所といて, バクテリアが多数存在しているとは限らなかった。
- ・今回の実験で採取したバクテリアの中に寒天培地上で育たないものがいくつかあった。その原因の一つに, 普段は気温が低いイギリスだが, 今回は数十年に一度の猛暑だったこともあり, 熱でバクテリアが死んでしまったと考えられた。このことを改善するには, バクテリアを採取する時の気温も考慮する必要がある。

2. バクテリアの性質調べ

1. で興味深いコロニーを形成したバクテリアが, 抗生物質に対する耐性があるか, 抗生物質を産生するか, quorum sensing をするかを調べた。

[実験材料]

- ・バクテリア: 自動車タイヤ, 土, 排水口, 木製椅子, 靴の裏, 英国コイン, ヒトの手から採取
- ・指標細菌: ESS-大腸菌, SP19-Serratia 菌, CUO26-Chromo 菌
- ・抗生物質: アンピシリン (以下AMPと略す)

[実験方法]

- 2-1. 指標細菌を各 100 μ l 量り取り, 寒天培地液に加えて全体にひろげ寒天培地を作成した。
- 2-2. AMPの濃度が既知の寒天培地を準備した。
- 2-3. 実験材料のバクテリアを寒天培地に植え付けた。
- 2-4. ESS-大腸菌と各濃度のAMPは 37℃で, SP19-Serratia 菌と CUO26-Chromo 菌は 30℃で一夜, それぞれ培養した。
- 2-5. バクテリアに殺菌作用があったか, AMPに対する耐性はあったか, quorum sensing をしたか観察した。

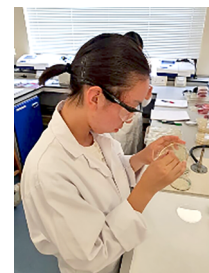


表2. バクテリアの殺菌または耐性結果

	ESS-大腸菌 殺菌	SP19-Serratia菌 殺菌	CUO26-Chromo菌 殺菌	AMP 1 µg 耐性	AMP 10 µg 耐性	AMP 100 µg 耐性
自動車タイヤ	○	×	×	○	○	○
土	○	○	○	○	×	×
排水口	○	○	○	×	×	×
木製椅子	×	×	×	×	×	×
靴の裏	○	○	○	×	×	×
ヒトの手	×	○	×	×	×	×
英国コイン	○	×	×	○	○	○

[実験結果]

バクテリアの殺菌または耐性については表2. に示す結果となった.

また, 実験に用いたバクテリアは quorum sensing をしなかった.

方法 1・2 の全データの検証

上記 1, 2 の結果及び, 他グループのデータも合わせ, バクテリアに殺菌作用があったか, バクテリアの AMP に対する耐性があるか, quorum sensing をするかを検証した.

[疑問点]

- (1) ESS-大腸菌を殺菌したバクテリアで AMP の耐性もあるバクテリアの割合はどうか.
- (2) 指標細菌を殺菌したバクテリアはどこにいたか.
- (3) AMP 量が増えると, AMP に対する耐性を持つバクテリアの数が減るかどうか.
- (4) quorum sensing するバクテリアはどのようにしたら得られるか.
- (5) 評価方法で観察したバクテリアの色によって, 指標細菌の殺菌を推測できるか.

[検証結果と考察]

- (1) ESS-大腸菌を殺菌し, AMP に対する耐性もあるバクテリアの割合は 63.9%, ESS-大腸菌を殺菌したが AMP に対する耐性がないバクテリアの割合は 36.1% だった (Fig. 1 参照).

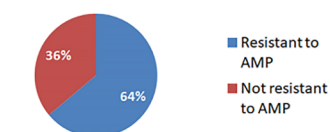


Fig.1 Bacterial samples which killed ESS and are resistant to AMP.

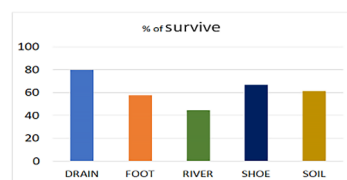


Fig.2 Percentage of bacteria which killed other bacteria.

- (2) 指標細菌を殺菌したバクテリア数が多かった場所は, 排水口, 靴の裏, 土, 足の裏の順だった.

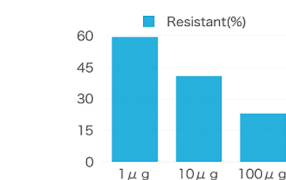


Fig.3 Percentage of resistant bacteria decrease as AMP concentration.

ただし, 川のバクテリア数が少なかったため, データから除いた (Fig. 2 参照).

- (3) AMP の量が増えると, AMP に耐性を持つバクテリアの数が減った (Fig. 3 参照).
- (4) quorum sensing が見られたバクテリアは全て他のグループが川から採取したもので, オレンジ色や紫色に変化したが, その他の場所から採取したバクテリアには見られなかった. quorum sensing でピンク色に変化するバクテリアなら観察可能だが, 他の色に変化するバクテリアは危険で研究室での取り扱いが出来なかった. ピンク色に変化するバクテリアを採取出来れば quorum sensing が見られたかもしれない.
- (5) バクテリアの色と殺菌能力は関係なく, 推測できなかった.

結論

身の周りにあるバクテリアが抗生物質を作るか, 抗生物質に対する耐性があるか, quorum sensing を行うかを調べた. 実験材料として, 身の周りからバクテリアを採取し, コロニーを形成するものを選んだ. バクテリアに殺菌作用があるか, AMP に対する耐性があるか, quorum sensing を行うかを調べた. その結果, 私のグループのバクテリアは, 指標細菌を殺菌し, AMP に対する耐性があったが, quorum sensing を行わなかった. 他のグループのバクテリアに, quorum sensing を行うものがあつたが, 変化した色が危険で研究室で扱えず, これ以上詳しく調べることが出来なかった.

実験材料としたバクテリアは抗生物質を作り出し, 抗生物質に対する耐性があったため, 身の周りにあるバクテリアにも有用な効果があると期待される.

謝辞

今回の研究に携わって頂いたケンブリッジ大学の生化学研究所の Dr. Rhys Grant, Dr. Rita Monson, Dr. Sio Ball をはじめ, 研究所の方々に大変お世話になりました. 多くの方々の支えがあつて最後まで研究を成功させることができました. 本当にありがとうございました.