



## 難培養性細菌研究に光明 —細菌の増殖が寒天で抑制される理由を明らかに—

### 研究成果のポイント

- ・近代細菌学の開祖といわれるパスツールやコッホの時代から培地に使われている寒天で、幾つかの細菌が培養できない理由を解明した。
- ・寒天粉末 1 グラムあたり約 0.7 マイクログラム程度しか含まれない 2 種類のフランカルボン酸が、細菌コロニーの広がりを明らかに抑制することを発見した。
- ・これらの化合物を取り除いた寒天粉末で作ったプレートでは微生物の成育が明らかに良くなるケースが認められた。
- ・これまで培養が難しいとされてきた細菌について、フランカルボン酸を含まない培地を工夫することにより培養できるようになるものが見つかってくと期待される。

### 研究成果の概要

北海道大学大学院農学研究院の橋床泰之教授らは、メタノールのような有機溶媒で十分に洗浄した寒天粉末で作られた寒天平板では幾つかの微生物が生育できるようになり、その洗浄液に含まれる化学物質を寒天平板に戻すと生育がみられなくなることを観察しました。そこで、寒天に含まれると推察された、細菌のコロニーの広がりを抑えている化学因子の探索を行いました。

その結果、2種類のフランカルボン酸の単離同定に成功しました。平板の作成に使った寒天にもともと含まれる量とほぼ同じ量のフランカルボン酸を加えると、大腸菌や環境微生物など多くの細菌でコロニーの広がりが明らかに抑制されました。

### 論文発表の概要

研究論文名: Trace Amounts of Furan-2-Carboxylic Acids Determine the Quality of Solid Agar Plates for Bacterial Culture (極微量のフランカルボン酸類が細菌培養用の寒天平板の質を決定する)

著者: 氏名 (所属) 原 新太郎<sup>1</sup>, 磯田玲華<sup>1</sup>, Teemu Tahvanainen<sup>2</sup>, 橋床泰之<sup>1</sup> (<sup>1</sup>北海道大学大学院農学研究院, <sup>2</sup>東フィンランド大学生物学部)

公表雑誌: PLoS One

公表日: 米国東部時間 2012 年 7 月 27 日

## 研究成果の概要

### (背景)

地球上に存在する細菌の多くは培養することができない難培養微生物であり、その割合は全体の90~99%をも占めると言われています。しかしながら人類は、発酵や腐敗、病気の原因ともなる微生物の研究を、培養法の進展とともに発展させてきました。テングサなど一部の褐藻の仲間に含まれる多糖類である寒天は、19世紀後半のパスツールやコッホによって培養支持体（寒天平板）として用いられ、これが現在でも広く一般に使われています。近年になり、スフィンゴモナス属細菌が作り出す多糖類の一種であるゲランガムを寒天の代わりに支持体として用いると、寒天培地では生育しない細菌が同じ栄養条件で旺盛に生育する例が見つかり始めており、ゲランガムの培養因子に注目が集まっています。多くの研究者が、難培養微生物の培養を可能にするかもしれないその要因を突き止めようとしていますが、ほとんど何もわからないままでした。

### (研究手法)

著者らは、メタノールのような有機溶媒で十分に洗浄した寒天粉末作られた寒天平板ではゲランガムと同じように幾つかの微生物が生育でき、その洗浄液に含まれる化学物質を寒天平板に戻すと生育できなくなることを見出しました。この観察から、寒天に含まれる化学物質が細菌のコロニーの広がりを抑えているとの逆転の発想に行き着き、予想された化学因子の探索を行いました。

### (研究成果)

その結果、2種類のフランカルボン酸の単離同定に成功しました。これらのフランカルボン酸はそれぞれ1グラムあたりの寒天粉末に5ナノモル程度（約0.7マイクログラム\*）しか含まれていませんが、もともと寒天粉末に含まれる量とほぼ同じ量のフランカルボン酸（平板1枚に数10ピコグラム\*\*）を加えると、コロニーの広がりが明らかに抑制されました。大腸菌を使った実験では、平板の栄養条件に影響されず、寒天表面でのコロニーの広がりに対する明らかな抑制効果が認められました。

フランカルボン酸のコロニー抑制効果のおかげで、幾つかの細菌は隣の細菌のコロニーに飲みこまれてしまうことなく、シングルコロニーの形状を保つことができます。従って人類は、フランカルボン酸の効能に気付くことなく、100年以上もの間、純粋分離用平板培地として寒天を用いてきたこととなります。

\*マイクログラム：100万分の1グラム      \*\*ピコグラム：1兆分の1グラム

### (今後への期待)

この地球上にどれほどの微生物が存在するかは未知数ですが、少なくともこれらの難培養微生物のゲノムには、新たな創薬や有用産物生産に貢献すると期待される未知の遺伝資源が満ち溢れています。しかしながら、これらの難培養微生物は、文字通り培養できないことが大きなネックとなって、研究の対象になりにくいものでした。

本研究によって、多くの微生物の効率の良い増殖を抑え込む要因が極微量の抑制化合物であることが示されました。これらを取り除いた培地を開発することで新たな細菌培養研究の一端が開けるものと期待されます。

## お問い合わせ先

所属・職・氏名：北海道大学大学院農学研究院 教授 橋床 泰之（はしどこ やすゆき）

TEL: 011-706-3840 FAX: 011-706-4182 E-mail: yasu-h@abs.agr.hokudai.ac.jp