

# 微生物の棲みか ー バイオフィルム ー を科学する

## Bacterial Homes: the Science of Biofilms

古畑 勝則 准教授

麻布大学 生命・環境科学部 臨床検査技術学科 微生物学研究室

Katsunori Furuhata Associate Professor

School of Life and Environmental Science, Department of Medical Technology

台所の排水口(FIG. 1)に発生したバイオフィルムから分離された従属栄養細菌を同定し、分離株のバイオフィルム形成能と細胞表面の疎水性について検討した。バイオフィルム試料を36°Cと25°Cで7日間培養すると、BHI寒天培地(富栄養培地)よりR2A寒天培地(貧栄養培地)での集落形成数が、それぞれおよそ10倍多かった(TABLE 1)。また、バイオフィルム試料から分離された菌株は13菌種に同定された(TABLE 2)。これら分離株のバイオフィルム形成能を定量的に調べるため、クリスタルバイオレット染色法により吸光度(OD570)を測定したところ、*Brevibacterium casei* 7-R-36-1株の吸光度が最も高かった(3.029)。また、菌属間の吸光度の比較において、*Brevibacterium*属(4株)が最も高い吸光度を示し(平均2.056)、次に*K. pneumoniae*(4株)が平均1.111であった(TABLE 3)。さらに、分離株のハイドロホビシティ値は、*P. nitroreducens* (1-B-36-2株)の0.002から*M. lacticum* (5-R-25-2株)の0.096であり、ハイドロホビシティ値は全体的に低く、分離株の多くは、細胞表面が親水性であった(TABLE 3)。このように、台所の排水口に発生したバイオフィルムの構成菌種は多様であり、すべての分離株がバイオフィルム形成能を有していた。

FIG.1



TABLE.1

The counts of colonies in the biofilm sample under the various culture conditions.

| Culture time (d) | BHI                   |                     | R2A                 |                     |
|------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                  | 36°C                  | 25°C                | 36°C                | 25°C                |
| 1                | 1.3×10 <sup>7</sup> * | 1.1×10 <sup>7</sup> | 1.4×10 <sup>7</sup> | 2.2×10 <sup>8</sup> |
| 3                | 5.5×10 <sup>7</sup>   | 1.1×10 <sup>8</sup> | 1.1×10 <sup>8</sup> | 1.1×10 <sup>9</sup> |
| 5                | 6.3×10 <sup>7</sup>   | 5.4×10 <sup>8</sup> | 1.5×10 <sup>8</sup> | 3.8×10 <sup>9</sup> |
| 7                | 6.3×10 <sup>7</sup>   | 5.5×10 <sup>8</sup> | 1.6×10 <sup>8</sup> | 4.0×10 <sup>9</sup> |

\*: CFU/0.1ml

TABLE.3

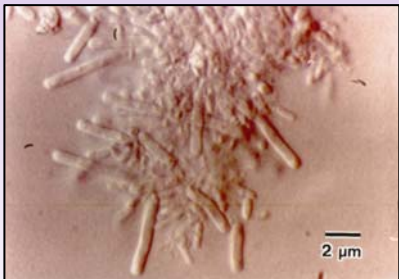
Biofilm-forming abilities and hydrophobicity values of isolates.

| No. | Strain No. | Species                     | BFA*  | HP**  |
|-----|------------|-----------------------------|-------|-------|
| 1   | 1-B-36-1   | <i>K. pneumoniae</i>        | 1.270 | 0.029 |
| 2   | 1-B-36-2   | <i>P. nitroreducens</i>     | 0.001 | 0.002 |
| 3   | 1-B-25-1   | <i>K. pneumoniae</i>        | 1.056 | 0.024 |
| 4   | 1-B-25-2   | <i>P. nitroreducens</i>     | 0.016 | 0.021 |
| 5   | 1-R-36-1   | <i>K. pneumoniae</i>        | 1.080 | 0.013 |
| 6   | 1-R-36-2   | <i>P. aeruginosa</i>        | 0.003 | 0.019 |
| 7   | 1-R-36-3   | <i>P. nitroreducens</i>     | 0.022 | 0.050 |
| 8   | 1-R-25-1   | <i>K. pneumoniae</i>        | 1.040 | 0.010 |
| 9   | 1-R-25-2   | <i>E. kobei</i>             | 0.023 | 0.028 |
| 10  | 1-R-25-3   | <i>P. nitroreducens</i>     | 0.029 | 0.071 |
| 11  | 3-B-36-1   | <i>R. mucosa</i>            | 0.008 | 0.040 |
| 12  | 3-B-36-2   | <i>Brevibacterium</i> sp.   | 0.930 | 0.003 |
| 13  | 3-B-36-3   | <i>Brevibacterium</i> sp.   | 1.459 | 0.034 |
| 14  | 3-B-25-1   | <i>M. lacticum</i>          | 0.233 | 0.080 |
| 15  | 3-B-25-2   | <i>Stenotrophomonas</i> sp. | 0.028 | 0.010 |
| 16  | 3-B-25-3   | <i>M. lacticum</i>          | 0.220 | 0.093 |
| 17  | 3-R-36-1   | <i>Stenotrophomonas</i> sp. | 0.015 | 0.048 |
| 18  | 3-R-36-2   | <i>Stenotrophomonas</i> sp. | 0.038 | 0.050 |
| 19  | 3-R-36-3   | <i>Caulobacter</i> sp.      | 0.123 | 0.013 |
| 20  | 3-R-36-4   | <i>X. flavus</i>            | 0.050 | 0.009 |
| 21  | 3-R-36-5   | <i>Stenotrophomonas</i> sp. | 0.002 | 0.010 |
| 22  | 3-R-25-1   | <i>Ochrobacterium</i> sp.   | 0.660 | 0.039 |
| 23  | 3-R-25-2   | <i>M. lacticum</i>          | 0.188 | 0.060 |
| 24  | 5-R-36-1   | <i>Ancyllobacter</i> sp.    | 0.021 | 0.018 |
| 25  | 5-R-36-2   | <i>X. flavus</i>            | 0.028 | 0.060 |
| 26  | 5-R-36-3   | <i>Brevibacterium</i> sp.   | 2.810 | 0.061 |
| 27  | 5-R-25-1   | <i>X. flavus</i>            | 0.012 | 0.063 |
| 28  | 5-R-25-2   | <i>M. lacticum</i>          | 0.181 | 0.096 |
| 29  | 7-R-36-1   | <i>B. casei</i>             | 3.029 | 0.005 |
| 30  | 7-R-25-1   | <i>Balneimonas</i> sp.      | 0.476 | 0.038 |

\*: Biofilm-forming abilities; OD<sub>570</sub>-OD (Control; 0.030)

\*\* : Hydrophobicity values

### バイオフィルムの顕微鏡所見



### バイオフィルムの走査電子顕微鏡所見

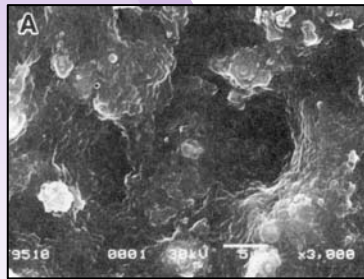


TABLE.2

Heterotrophic bacteria isolated from the biofilm sample under the various culture conditions.

| Culture time (d) | BHI                              |                                  | R2A                              |                                  |
|------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
|                  | 36°C                             | 25°C                             | 36°C                             | 25°C                             |
| 1                | <i>Klebsiella pneumoniae</i>     | <i>Klebsiella pneumoniae</i>     | <i>Klebsiella pneumoniae</i>     | <i>Klebsiella pneumoniae</i>     |
|                  | <i>Pseudomonas nitroreducens</i> | <i>Pseudomonas nitroreducens</i> | <i>Pseudomonas nitroreducens</i> | <i>Pseudomonas nitroreducens</i> |
| 3                | <i>Brevibacterium</i> sp.        | <i>Brevibacterium</i> sp.        | <i>Caulobacter</i> sp.           | <i>Ochrobacterium</i> sp.        |
|                  | <i>Roseomonas mucosa</i>         | <i>Microbacterium lacticum</i>   | <i>Xanthobacter flavus</i>       | <i>Microbacterium lacticum</i>   |
| 5                |                                  | <i>Stenotrophomonas</i> sp.      | <i>Stenotrophomonas</i> sp.      |                                  |
|                  |                                  |                                  | <i>Ancyllobacter</i> sp.         | <i>Xanthobacter flavus</i>       |
| 7                |                                  |                                  | <i>Brevibacterium</i> sp.        |                                  |
|                  |                                  |                                  |                                  | <i>Balneimonas</i> sp.           |

### 研究成果

- Furuhata, K., Ishizaki, N., Fukuyama, M.: Characterization of heterotrophic bacteria isolated from the biofilm of a kitchen sink. *Biocontrol Sci.*, **15**: 21-25 (2010)
- Furuhata, K., Kato, Y., Goto, K., Hara, M., Fukuyama, M.: Diversity of heterotrophic bacteria isolated from biofilm samples and cell surface hydrophobicity. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **55**: 69-74 (2009)
- 古畑勝則: 浴室排水口に発生したバイオフィルムの構成菌とその特性. 防菌防黴誌, **36**: 881-886 (2008)
- Furuhata, K., Goto, K., Kato, Y., Saitou, K., Sugiyama, J., Hara, M., Yoshida, S., Fukuyama, M.: Characteristics of a pink-pigmented bacterium isolated from biofilm in a cooling tower in Tokyo, Japan. *Microbiol. Immunol.*, **51**: 637-641 (2007)
- 古畑勝則: バイオフィルム研究の新たな視点—冷却塔から採取したバイオフィルムの構成菌とその特性—. 防菌防黴誌, **35**: 189-194 (2007)