

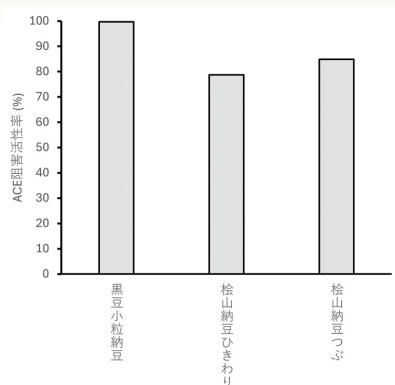


図5 納豆のACE阻害活性率

2) 豆の種類の違いによるニコチアナミン含有率の違い

図6に煮豆と納豆における乾物重1g当たりのニコチアナミンの含有率を示した。ニコチアナミン含有率は大豆、青エンドウ、小豆、ピントビーンズの順に特に高い値が見られ、その他の豆に関してはおおそ同様の含有量であった。

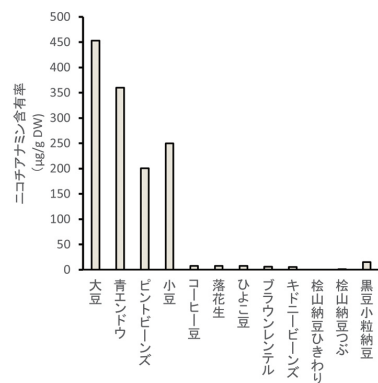


図6 各種煮豆及び納豆におけるニコチアナミン含有率の違い

3) ACE阻害活性率とニコチアナミン含有率との関係

図7にACE阻害活性率とニコチアナミン含有量の相関関係を示した。両者には有意な相関はなく、ニコチアナミン以外にも種によって多様な阻害物質が存在することが考えられた。

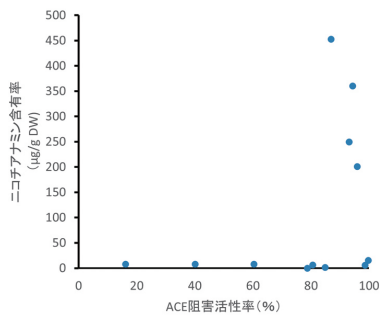


図7 ACE阻害活性率とニコチアナミン含有量の相関関係

4 まとめ

豆の違いにより血圧上昇抑制効果を示すACE阻害活性率に違いがあることが示された。この結果は、豆品種において血圧上昇抑制効果を示す遺伝資源が存在する可能性を示していた。また生の豆と比較して煮豆や納豆においてACE阻害活性率が高かった。このことは豆類を調理して摂食することでより高い血圧上昇抑制効果を得ることができる可能性を示していた。加熱による効果上昇の原因としては、加熱により細胞

壁が破壊される、またはタンパク質の分解などによりACE阻害活性を持つ物質が増加するなどのことが考えられたが、今後原因を解明していく必要がある。これまで報告されていたACE阻害活性率とニコチアナミン含有量との間には有意な相関が認められず、ニコチアナミン以外にACE阻害活性に関与する物質の存在が示唆された。



ハシリ

1年 佐藤 葵 (秋田県／秋田北高校出身)
宮澤 つぐみ (岩手県／盛岡第三高校出身)
深澤 玲南 (長野県／松商学園高校出身)

生物資源科学部／生物環境科学科

指導教員 渡邊 美穂 准教授
(生物環境科学科)

Q1 取り組んだ学生自主研究について教えてください。

「砂浜にはどんな微生物が!?!」という課題で、身近な砂の中の微生物が持つ環境浄化の可能性を調べました。秋田県内の砂浜3地点から砂を採取し、界面活性剤や灯油、農薬を混ぜた培地で培養後、遺伝子解析を行いました。その結果、灯油を分解する菌や化学物質に強い菌を発見しました。人為的影響のある海の砂浜では多様な細胞群集が形成されており、砂浜の微生物が汚染物質の分解に重要な役割を担う可能性を解明しました。



Q2 学生自主研究で得たことや良かったことを教えてください。

砂の採取から遺伝子解析まで、研究の全工程を自分たちの手でやり遂げられたことが大きな自信になりました。本格的な設備を使って実験や解析をするのは、大学生にならないと絶対にできなかったことなので、自主研究に挑戦して本当に良かったです。1年生のうちから高度な技術に触れられただけでなく、上手くいかない時も諦めずに原因を考えて工夫する「研究の基礎力」がつき、自ら解決していく楽しさを知る最高の機会になりました。



高校生へのメッセージ

Message from seniors

大学の研究は難しく思えますが、自主研究は「身近なものを調べたい」という素朴な好奇心から始められます。私たちも1年生の未経験からスタートしましたが、先生の手厚いサポートのもと、自分たちで計画を立てて楽しく実験に打ち込みました。秋田県立大学には、学年を問わずやりたいことに挑戦できる最高の環境があります。皆さんもぜひ、自主研究を通して新しい発見や研究の楽しさを体感してみてください！



生物環境科学科

准教授 渡邊 美穂

PROFILE

学 位／博士(環境科学)
専門分野／環境微生物学、微生物生態学

指導教員がきめ細かく研究をサポート

SUPPORT

研究内容 地下環境の新規微生物資源の開拓と工学的適用に向けた基盤研究

私は、鉱山や油田などに生息する微生物のはたらきを調べ、それを環境保全に活用する研究を行っています。秋田県は、鉱山や油ガス田によって発展してきた地域です。しかしその一方で、鉱山廃水や土壌・地下水汚染への対策には、現在も大きなコストがかかっています。こうした問題は秋田だけでなく、世界中で解決が求められている環境問題でもあります。近年、鉱山や地下深部のような過酷な環境には、特殊な能力を持つ微生物が数多く存在することが分かってきました。もしそれらの微生物を汚染物質の除去などに利用できれば、環境負荷が小さい新しい環境修復技術につながる可能性があります。私は、遺伝子解析や培養技術を使ってこうした未知の微生物を探し出し、その能力を明らかにしています。一見すると小さな微生物の研究ですが、実は地球の生命の歴史や物質循環にもつながる、とてもロマンのある研究です。

高校生へのメッセージ

私たちの身の回りには、実はまだ誰も知らない現象や生き物のはたらきが数多く隠れています。研究とは、そのような未知の物事に対して「なぜ?」という疑問を持ち、新しい発見につなげる挑戦です。ぜひ失敗を恐れず、好奇心を持って自ら考え続けることを大切にしてください。皆さんの一歩が、未来の科学や社会を変える力になるかもしれません。

1 背景・目的

身近にある生態系の中身を知り、有用性を見つけ環境問題に役立てたいと考えた。また、有用性微生物の実用を探することで環境問題を身近にし、具体的に考える機会にしたいと考えた。出戸浜をはじめとした砂浜に住む有用微生物の性質の解明、実用性の有無を目的とした。

2 実験方法および結果



図1 採集時の様子

1%、0.1%、0.01%③5%、1%、0.1%に希釈し染み込ませ拡散させた。微生物を接種した培地はパラフィルムにて密封し、恒温実験室にて保存した。その後、生育したものの中から有用な微生物のみを分離し、再培養を複数回行い混合した微生物群の中から目的の微生物だけを培養した。

3) PCR法を用いた微生物の遺伝子解析

培地内に一種類のみとなった微生物を同定するため、PCRを使った遺伝子解析を行った。

PCR Mixを作成するにあたり分注時のロス分も考慮し、25反応分の容量で調製した。PCR water：422,Taq buffer：62.50,dNTP mix：50.00,primer F(10uM):31.3,primer R(10uM)：31.3,Ex Taq：3.1を混合し、各24uMずつマイクロテストチューブに分注し、その中にそれぞれ培養した微生物をディスポールで触れマイクロテストチューブに添加した。

PCR法を使って遺伝子の増幅は、SimpliAmp ThermalCyclerを使って行った。遺伝子増幅のサイクルは、初期熱変性：94.0℃,2分間、サイクル(28回)：94.0℃,30秒間、50.0℃,30秒間、72.0℃,30秒間、最終伸長：72.0℃,5分間で行った。

その後、パソコンによって出力した遺伝子情報から該当する微生物を同定した。

4) 結果

PCR法によって得られた微生物の同定結果は以下の表のとおりとなった。

1) 各場所での微生物の採取

出戸浜・男鹿・県大付近の砂浜に約5～8cmほどの穴を掘り、そこから砂を採集し50ml遠沈管に適宜保存した。

2) 微生物の培養

出戸浜・男鹿・県大付近の砂浜で採集した微生物が保存されている遠沈管に0.85%生理食塩水を入れ、微生物を剥離した。そして、作成したマリンブロス培地にディスポールを使って培地に接種した。

さらに、それぞれの培地の中央にペーパーディスクを置きそこに①tween80(界面活性剤)、②ケロシン(灯油)、③グリホサート(農薬)をそれぞれ①10%,1%,0.1%②

1%,0.1%,0.01%③5%,1%,0.1%に希釈し染み込ませ拡散させた。微生物を接種した培地はパラフィルムにて密封し、恒温実験室にて保存した。その後、生育したものの中から有用な微生物のみを分離し、再培養を複数回行い混合した微生物群の中から目的の微生物だけを培養した。



図2 PCR法で使った機器

表1 菌株の最近縁種と配列相同性、薬剤、採取場所

菌株	最近縁種	配列相同性	使用した薬剤	採取場所
2	<i>Vibrio alginolyticus</i> strain 2014V-1072	99.43%	ケロシン5%	出戸浜
3	<i>Brevibacterium epidermidis</i> strain RC14 16S	99.61%	界面活性剤10%	出戸浜
4	<i>Brevibacterium sanguinis</i> strain NC10N44A 16S ②	99.43%	界面活性剤1%	出戸浜
5	<i>Vibrio alginolyticus</i> strain 2014V-1072	99.81%	界面活性剤0.1%	出戸浜
6	<i>Brevibacterium epidermidis</i> strain RC14 16S	99.81%	農薬1%	出戸浜
7	<i>Vibrio harveyi</i> strain NST11	100.00%	農薬0.1%	出戸浜
8	<i>Virgibacillus chiguensis</i> strain EE116-P2	100.00%	ケロシン5%	男鹿
9	<i>Bacillus cereus</i> strain DGA14	99.81%	ケロシン1%	男鹿
10	<i>Vibrio alginolyticus</i> strain 02	100.00%	ケロシン0.1%	男鹿
11	<i>Bacillus albus</i> strain SK36	100.00%	界面活性剤10%	男鹿
12	<i>Bacillus cereus</i> strain PM4	99.81%	界面活性剤1%	男鹿
13	<i>Bacillus cereus</i> strain sab41	99.81%	界面活性剤0.1%	男鹿
14	<i>Vibrio harveyi</i> strain JAN S1 BC Y	99.81%	農薬1%	男鹿
15	<i>Shinella oryzae</i> strain h2	99.60%	農薬0.1%	男鹿
16	<i>Micrococcus antarcticus</i> strain CsDWL-118	99.80%	ケロシン5%	県立大学前
18	<i>Brevibacterium epidermidis</i> strain RC14	100%	ケロシン0.1%	県立大学前
20	<i>Pseudomonas peli</i> strain CD11	99.81%	界面活性剤1%	県立大学前
21	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain CB521	99.81%	界面活性剤0.1%	県立大学前
22	<i>Pseudomonas tianjinensis</i> strain CEMTC_9106	99.61%	農薬1%	県立大学前
23	<i>Bacillus mycoides</i> strain ChST4.2	99.62%	農薬0.01%	県立大学前

3 まとめ、考察



図3 出戸浜で採集した微生物

い適応能を有しており、これが化学物質に対する耐性基盤となっていると推測した。

出戸浜の菌株2、菌株5や男鹿の菌株8がケロシン5%の高濃度下で生育した。男鹿や出戸浜は漁港や海水浴場として利用されており、船舶由来の油分が微量に流入しやすい。これらの地点で高濃度油分耐性菌が確認されたことは、生態系が人為的な油汚染に対して「自己浄化機能」を持つと考えられる。

菌株15、菌株22は農薬耐性を示した。これは、秋田県の広大な農地から河川等を通じて流出する農薬成分が、砂浜という「境界線」において微生物による選択圧となり、耐性菌の定着を促している可能性を示唆している。

県大付近の菌株20や出戸浜の



図4 男鹿で採集した微生物



図5 県大で採集した微生物

は、病原性を排除した株の選別や、散布後の生存期間をコントロールする技術開発が必要になると考えられる。

本研究で見出された微生物群は、将来的な環境保全技術において有用性を持つ。まず、高濃度汚染への対応力である。ケロシン5%や界面活性剤10%という、通常の生物が死滅する濃度で生育可能な菌株は、大規模な船舶事故による石油汚染の際、環境浄化にとりかかることが期待できる。そして、低温環境下での活動性である。県大付近の海で同定されたMicrococcus antarcticusは、その系統的特徴から寒冷地での活動が期待される。秋田県の冬期における油汚染や排水処理において、既存の微生物製剤では困難な「低温浄化」を実現する鍵となる可能性がある。

砂浜に生息する目に見えない微生物たちは、人為的な化学物質汚染に対して高い適応力を示し、生態系の健全性を維持する機能を持つことが明らかになった。今回特定された菌株の耐性特性をデータベース化し、さらにその分解速度を定量化することで、地域固有の微生物資源を活用した、環境負荷の少ない持続可能な浄化技術の構築が可能になると確信している。

4 参考文献

Characterization of Micrococcus antarcticus sp. nov., a psychrophilic bacterium from Antarctica. | Microbiology Society
Autoinducers Act as Biological Timers in Vibrio harveyi | PLOS One
Bacillus cereus - Genomes of Foodborne and Waterborne Pathogens -Wiley Online Library
Shinella oryzae sp. nov.,a novel zearalenone-resistant bacterium isolated from rice paddy soil | Antonie van Leeuwenhoek | Springer Nature Link
<https://link.springer.com/article/10.1007/BF02602814>
<https://link.springer.com/article/10.1007/s10482-011-9632-8>
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1128/9781555816902.ch11>
<https://link.springer.com/article/10.1007/s10482-011-9632-8>
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3223761/>
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S072320209880043X>
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3775123/>
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9729609/>
<https://link.springer.com/article/10.1007/BF03179444>
<https://yeastgenome.org/reference/S000183656>