

令和元年9月20日現在

機関番号：12301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K12369

研究課題名(和文) 指紋微生物の有用多様性の創出と科学リテラシー向上のシナジー

研究課題名(英文) Useful fingerprint microbes and the synergistic effects for science literacy

研究代表者

伊藤 司 (Ito, Tsukasa)

群馬大学・大学院理工学府・准教授

研究者番号：80431708

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではまず手から採取した微生物について染料脱色能を評価する実験方法を確立した。軟寒天培地を用いることで、嫌気好気両方の脱色反応に対応した。また、染料添加前に一定時間培養することで菌体量を十分確保でき、実験を容易にした。この方法を用いて年齢・生活習慣の異なる4集団に対して実験を行った。年齢・職業の違いにより、その人が保有する染料脱色微生物数に違いが生じることが示唆された。今後は得られた染料脱色微生物の種同定や比較ゲノム解析を行い、各集団の特徴や指紋微生物の生態を考察する必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトは微生物と常に一緒にいる。また、その微生物はヒトの生活習慣の影響を受けて、機能を進化させている可能性がある。その中には環境汚染物質を分解できる有用な微生物も存在する。有用な微生物を特殊な環境ではなくヒトから獲得できれば、従来より格段に容易に有用微生物を獲得できるようになる。また、ヒトが有用微生物を保持していることでヒトの価値を高めることにもつながる。

研究成果の概要(英文)：This study focused on bacteria living on the human hands, which we call "fingerprint bacteria". The purposes of the study were to evaluate dye-degrading ability of fingerprint bacteria and variation in the dye-degrading ability among people. First, we designed the experimental method to assay dye-degrading ability of many fingerprint bacteria. The use of soft agar medium and pre-incubation before adding a dye in test tubes enabled to visualize the dye-degrading ability in 48 hours. By using this method we successfully examined the dye-degrading ability of many bacteria collected from four specific human groups, which are different in their ages and occupations. Our results suggested that ages and occupations likely affect the presence of dye-degrading bacteria on their hands.

研究分野：微生物生態研究に基づく持続可能環境技術の開発

キーワード：指紋微生物 染料 脱色 マイクロバイオーム 染色廃水

## 1. 研究開始当初の背景

ヒトの手にはいわゆる常在菌が存在するが、ヒトは常在菌をどのように獲得するのか、定着性はどうか、常在状態で新機能を獲得するような進化を遂げるのかなどの実態はほとんど未解明である。一方、ヒトの手は汚染物質分解菌を効率的に獲得できる微生物資源の獲得サイトとみなせるならば、アクセス困難な汚染サイトではなく身近なところで有用菌を獲得できることになる。「手から有用菌獲得」このことを一般の人々が認識することは、人々の微生物に対する価値観を変えることに繋がる。

染料分解を対象とすることの意義は大きい。世界の表流水汚染原因の第一位は繊維染色工業からの染色排水である。河川の染色廃水汚染はアジアの広い地域で深刻であり、景観上の問題のみならず、染料やその分解産物の毒性により生態系や水道水源が脅かされている。染色廃水処理に有用な、低栄養状態で、pH等の環境変動に強く、長期利用可能な染料分解菌が求められている。

## 2. 研究の目的

職業などライフスタイルの違いは指紋に存在する常在菌群に影響を与えるのだろうか？石油物質分解菌を石油汚染現場の土や水から探索するように、ヒトの手から汚染物質分解菌を意図的に獲得できるのだろうか？これらの問に対して答えを見出すことが本研究の目的である。

本研究ではそのモデルケースとして染色の手染職人を対象にし、職人の指紋(指の表面)の常在菌から染料分解菌を獲得できる可能性、確率、指紋への定着性を調査した。対照系として一般大人、子供、高齢者を対象として同様に指紋(指の表面)の常在

菌の染料分解能を調査した。

一方、指紋微生物の採取の協力をお願いする一般市民の方々に研究の目的や意義を伝えて、微生物・バクテリア・ばい菌に対する認識や知見について意見交換し、一般市民の科学リテラシーの向上を図ることも本研究の目的の1つである。

## 3. 研究の方法

### 3.1 染料脱色実験の方法

多種多様な手の微生物で実験を行うために実験方法を確立した。方法を以下に示す。試験管にLB軟寒天培地(寒天濃度0.3%)を5mL入れた。寒天培地上のコロニーからLB液体培地1mLに白金耳1かき、植菌した。そこから300 $\mu$ L、試験管に植菌した。試験管を横倒しにして37 $^{\circ}$ Cで17時間培養した。培養後、試験管にアゾ染料であるコンゴレッドの染料溶液(1g/L)を、最終濃度20mg/Lとなるように100 $\mu$ L添加した。37 $^{\circ}$ Cでさらに静置培養し、染料添加後48時間で脱色したかどうか評価した。1株につき試験管3本で行った。

### 3.2 手の微生物の採取・分離・培養

被験者にシャーレに入ったLB寒天培地に図1Aのように指を触れてもらい、微生物を採取した。微生物を採取する指は日常生活で使うことが多いと考えられる両手の第一指、第二指、第三指の計6本とし、1人につきシャーレ1枚分、採取した。寒天培地を室温(22 $^{\circ}$ C)で3日~1週間静置し、微生物を培養した。寒天培地上に発生したコロニー(図1B)のうち、色や大きさの異なるものを10株程度選別し、分離・純化培養した。

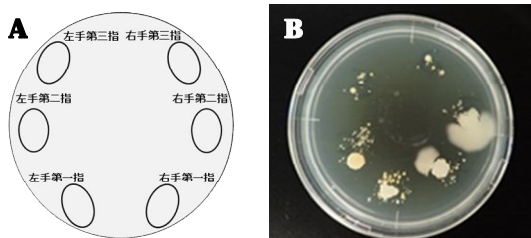


図1 指紋微生物の獲得方法 寒天培地への手の触れ方(A)と培養後の微生物コロニー発生の様子(B)

### 3.3 被験者の年齢・生活習慣の異なる集団

対象集団: 染料の手染職人(40人)、小中学生(40人)、大人 20~50代男女(80人)、大人 60~80代男女(40人)の計200人。科学・環境イベントに参加し、一般来場者の協力を得て手の菌を採取した。また、桐生市の手染職人を訪問し、手の菌を採取した。手の菌を採取する際には、研究の意義を説明するとともに、一般の方々が微生物に対して抱いている印象を聞き適宜説明を加えて意見交換した。

対象菌: 手の指紋の常在菌を培養してランダムに選定した10株/人、合計2000株。

評価方法: 個々の対象菌の染料分解能力を、試験管と染料入り軟寒天培地を用いた染料脱色試験(研究代表者の論文 Ito T. JMBE, 2013, 244-247に記載の方法を一部改良)により調査した。同一の菌に対して同じ試験を3回行った(n=3)。

### 3.4 脱色の評価

染料を添加してから48時間後に微生物の脱色能力を評価した。脱色の評価は色見本を用いて比色法により行った。色見本(図2)はLB軟寒天培地に染料溶液を加えて作成した。染料濃度20mg/Lを100%とし、10%まで段階的に希釈したものを用いた。3本のうち最も脱色率が高かったものをその微生物株の脱色率とし、脱色率80%以上を示した株を染料脱色微生物株とみなした。実験を行った微生物株のうち、染料脱色微生物株の割合(獲得効率)を算出した。

物株の脱色率とし、脱色率80%以上を示した株を染料脱色微生物株とみなした。実験を行った微生物株のうち、染料脱色微生物株の割合(獲得効率)を算出した。



図2 脱色率の評価に用いた色見本

## 4. 研究成果

培地をLB軟寒天培地にすることで、脱色に適する酸素状態が異なる微生物株の脱色を観察することに成功し、実験方法を確立した。脱色に嫌気的条件が適している微生物は気相近くの酸素がある場所を除いて脱色が進行し、脱色に好気的条件が適している微生物は気相近くから下へ向かって脱色していく様子が観察できた。また、染料を添加する前に17時間培養することで、菌が定常期に入る前にかつ、脱色に十分な菌体量がある状態にすることができた。

手のバイオームは年齢とともに変遷し、成人は青少年や高齢者よりもマイクロバイオームに多様性があったという報告がある。また、皮膚のマイクロバイオームの組成に影響を及ぼす最も重要な因子は、皮脂と皮膚の水分である。

本研究では、手から採取した微生物について染料脱色能を評価する実験方法を確立し、その方法を用いて年齢・生活習慣の異なる4集団に対して実験を行った。年齢・職業の違いにより、その人が保有する染料脱色微生物数に違いが生じることが示唆された。今後は得られた染料脱色微生物の種同定や比較ゲノム解析を行い、各集団の特徴や指紋微生物の生態を考察する必要が

ある。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

Ito Tsukasa, Shimada Yosuke, Suto Tsubasa.  
Potential use of bacteria collected from  
human hands for textile dye decolorization.  
Water Resources and Industry, 22, 46-53.  
(2018)  
<https://doi.org/10.1016/j.wri.2018.09.001>

[その他]

ホームページ等

<http://civil.ees.st.gunma-u.ac.jp/~ito/>

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

伊藤 司 (ITO, Tsukasa)

群馬大学・大学院理工学府・准教授

研究者番号: 80431708

### (2)研究分担者

### (3)連携研究者

### (4)研究協力者

正田 紗和子 (SHODA, Sayako)

Siti Sarah Binti Abdul Rahim

山梨 由布 (YAMANASHI, Yu)