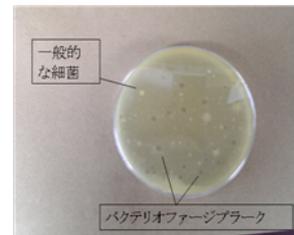


河床生物膜中のバクテリオファージについて

馬 羽, 広谷博史 (大阪教育大・教)

1. 目的

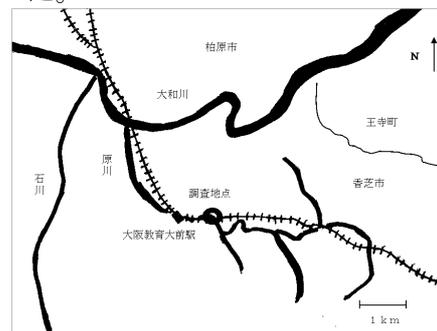
現在, ウイルスの水系感染が懸念されている。ウイルスは河川水中だけではなく, 河床に生成した生物膜中にも存在すると考えられる。ここで, バクテリオファージを指標としてウイルスの存在量を予測するために, 生物膜中のバクテリオファージの測定方法について検討を行った。また, 生物膜の有無によるバクテリオファージの吸着の差について調べた。



2. 材料と方法

調査場所

原川は奈良県香芝市に発し, 県境を越えて大阪府柏原市に流れ大和川下流部に注ぐ川である。本研究は, 大阪教育大前駅の東側の原川親水公園に調査地点を設けた。2008年11月から, 2009年1月まで, 調査を行った。



バクテリオファージ計数方法

三角フラスコに TSB 培地 (100ml) と宿主 *E.coli* ATCC15597 (10ml) を入れてから, 試料水 (100ml) 混合し, シャーレに分注して, 35℃, 10時間培養し, 生成したプラークを計数した。(図2)

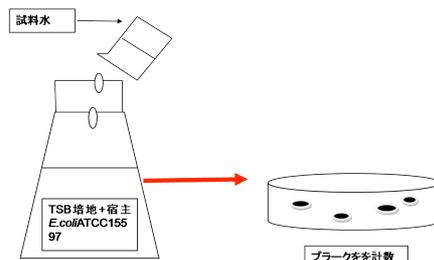


図2: バクテリオファージ計数法

3. 結果と考察

生物膜の場合

調査地点から生物膜が付いている石を採取し, ビーカー中で, 石に滅菌水 (200ml) をかけながら, 歯ブラシで, 磨いた。分離した生物膜液はホモジナイザーですり潰す処理を行って遠心分離した。(20分, 1880×g) 生成したプラークを計数した。(図3)



図3: 生物膜中のファージの検出方法

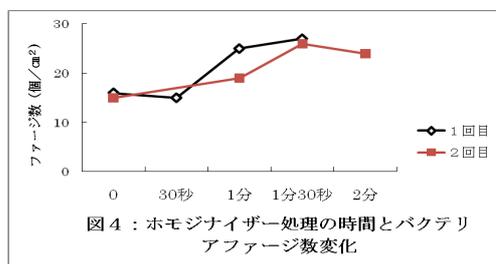


図4: ホモジナイザー処理の時間とバクテリオファージ数変化

ホモジナイザー処理の時間について検討し, 1分30秒のすり潰す処理で十分ファージを抽出できることがわかった。(図4)

バクテリオファージの石への吸着

生物膜が付着した石をファージ液 (10³/ml) に10分間または2時間つけた。その後, 生物膜に取り込まれたファージ数を測定した。対照として, 生物膜の付着していない石を同様な処理を行い, 表面に吸着したファージ数を測定した。(図5, 6)

試料はファージがすくない生物膜が付着した石を上流から採取した。(0.012 個/cm²)

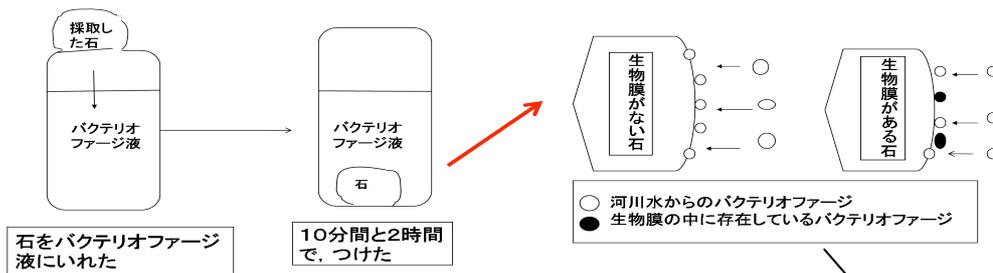
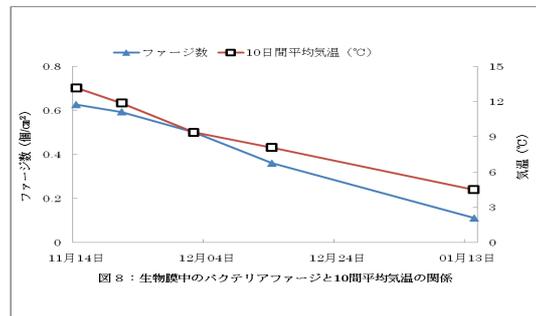
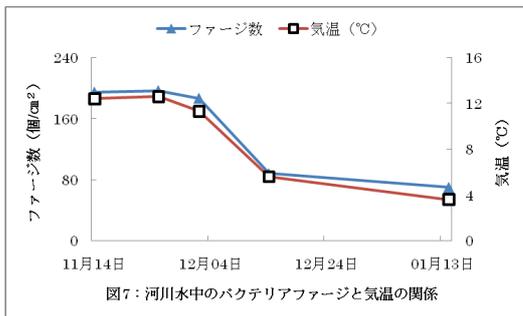
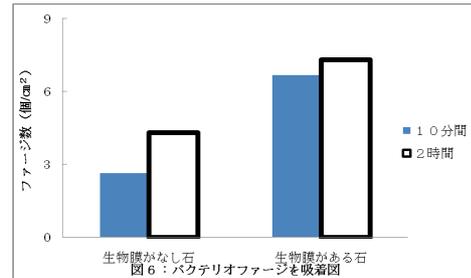


図5：バクテリオファージに対して、石の吸着の測定

気温と生物膜中のバクテリオファージ数の関係性を調べた。

河川水中のバクテリオファージの変化は、気温の変化と一致した。生物膜中のバクテリオファージの変化は、直接一致することがなかったが、生物膜中のバクテリオファージは一日で吸着されたのではなく、長い時間をかけて蓄積したと考えられるので、10日間の平均気温の変化と関係した。すると、生物膜中のバクテリオファージの変化は気温の変化と一致した。(図7, 8) (気温は奈良香芝市)



4.まとめ

- 1)ホモジナイザーすり潰す1分30秒の処理で、生物膜中のバクテリオファージを十分抽出できた。
- 2)生物膜がある石は生物膜がない石により、バクテリオファージが吸着しやすいことが分かった。
- 3)河川水中と生物膜中のバクテリオファージの変化は気温変化と一致した。