

2020年6月3日

報道関係者各位

国立大学法人筑波大学
国立研究開発法人科学技術振興機構 (JST)

**耐性菌を防ぎつつ人体や環境に有害な微生物集団を除去する方法を発見
～生物由来の界面活性剤を組み合わせると除去効率が向上～**

研究成果のポイント

1. 酵母由来の界面活性剤^{注1)}であるソホロ脂質が、細菌を死滅させることなく、細菌が形成する微生物集団（バイオフィーム）を除去できることを発見しました。
2. また、ソホロ脂質と一般的な界面活性剤であるドデシル硫酸ナトリウムを組み合わせることによって、その除去効率が100倍以上向上することも見いだしました。
3. 環境負荷の低い生物由来の界面活性剤と、石油化学製品である従来の界面活性剤との組み合わせによる相乗効果の発見は、人体や環境に有害なバイオフィーム除去におけるコストおよび界面活性剤使用量の削減に貢献することが期待されます。

国立大学法人筑波大学 生命環境系 Utada S. Andrew 准教授、野村暢彦教授らの研究グループは、細菌がバイオフィームを形成しやすい環境を模倣したマイクロ流路デバイス^{注2)}を用いて、環境に優しい生物由来の界面活性剤と、バイオフィーム除去に一般的に使用されている石油化学製品の界面活性剤を組み合わせることで、除去効果が劇的に向上することを発見しました。

細菌はバイオフィームを形成して生存していますが、人間にとってはさまざまな疾患をもたらす可能性があり、これを除去することが重要です。しかしながら、細菌を死滅させてしまうと、耐性菌の出現が問題になります。そのため、細菌を殺さずに、バイオフィームを除去することが必要です。バイオフィームを除去する方法の一つとして、界面活性剤の利用がありますが、ドデシル硫酸ナトリウム (sodium dodecyl sulfate, SDS) などの一般的な界面活性剤は人工的に合成された石油化学製品であり、多量に使用すると環境に影響を及ぼします。そこで本研究グループは、環境に優しい生物由来界面活性剤として、酵母由来のソホロ脂質 (SLx) の抗バイオフィーム活性に着目し、その緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) に対するバイオフィーム除去効果を調べました。その結果、SDS などと比較して、SLx は優れたバイオフィーム除去効果を持つことを見いだしました。しかも、SLx は細菌を死滅させませんでした。そのメカニズムを詳細に解析したところ、SLx は、細胞とガラス表面との接着およびバイオフィーム内部の凝集性を減弱させることがわかりました。さらに、SLx と SDS を組み合わせると相乗効果によって、それぞれを個別に作用させた場合に比べて、100 倍以上も向上することを発見しました。これらのことから、生物由来界面活性剤と石油化学製品の界面活性剤を併用することで、バイオフィームを除去するためのコストおよび界面活性剤の使用量を削減できることが示唆されました。

本研究の成果は、2020年6月1日付「Langmuir」でオンライン先行公開されました。

* 本研究は、国立研究開発法人科学技術振興機構 (JST) 戦略的創造研究推進事業 ERATO野村集団微生物制御プロジェクト (研究期間: 2015~2020年度) の一環で実施されました。

研究の背景

細菌が、刻々と変化する環境下で生存するための生活様式の一つにバイオフィームがあります。細菌の集団からなるバイオフィームは、細菌が分泌する細胞外高分子物質（EPSs）による粘着性の高いマトリックスによって、水中の物質（固体）表面に強固に接着しています。EPS マトリックスは、バイオフィームにおいて、化学的・物理的攻撃から細菌を覆い保護するなどの役割を果たしており、この作用によって、抗生物質に対する耐性が、浮遊性細胞に比べて 100 倍以上高められています。一方、細菌は人間に深刻な慢性疾患を引き起こす可能性があるため、その集団であるバイオフィームを除去することが課題となっています。バイオフィームは機械的、化学的、あるいは抗生物質処理により破壊できますが、耐性菌の出現が問題となるため、細菌を殺さず除去することが求められます。一般的に、バイオフィーム除去に用いられる界面活性剤は、石油化学製品であり、ある程度の環境毒性を持っています。持続可能な社会の実現に向け、環境負荷の低い代替製品への需要が高まっており、生物由来の界面活性剤への注目が高まっています。

研究内容と成果

本研究では、生物由来の界面活性剤として、*Candida* 属の酵母が産生する糖脂質である SLx に着目し、既存の界面活性剤 3 種（SDS および Tween20、Tween80）を比較対象として、緑膿菌が形成するバイオフィームの除去効果を検証しました。バイオフィームの観察には、バイオフィームを形成しやすい多孔質構造環境を模倣したマイクロ流路デバイスを用いました（図 1）。その結果、SLx は、既存の界面活性剤と比較して、比較的低い臨界ミセル濃度（CMC）^{注3)} でバイオフィームを除去することを見いだしました（図 2）。

また、SLx は細菌を殺さずに短時間でバイオフィームを除去できることから、既存の界面活性剤とは異なるメカニズムで作用している可能性が考えられました。そこで、EPS を大量に作る株を用いて SLx の作用メカニズムを検証した結果、SLx は EPS とガラス表面の間の接着力、および EPS 分子間の結合を弱めていることがわかりました。

さらに、SLx と SDS とを組み合わせることによる相乗効果が明らかとなりました（図 3）。この組み合わせを用いると、バイオフィームの除去速度だけでなく、除去量も向上させるため、SDS の濃度を低くしても短時間で効率的に除去することができます。

今後の展開

SLx は、バイオフィームの細菌を殺すことなく、細菌の表面付着およびバイオフィームの高い粘着性を低下させる能力を持っていることがわかりました。また、SDS と組み合わせると、どちらかの界面活性剤の濃度を大幅に下げても、同様の相乗効果を示しました。これによって界面活性剤の使用量を削減できるため、界面活性剤の自然環境への流出による水生生物を始めとする生態系への負担を減らすなど、環境影響を低減する可能性があります。さらに、SDS と SLx を組み合わせれば、体内で使用するのに十分に低い濃度でもバイオフィームを破壊できるため、人体への投与に適用される可能性があります。

本研究により、生物由来界面活性剤の新たな産業的価値が明らかとなりました。今後さらに、有害な細菌バイオフィームを除去できる生物由来界面活性剤のスクリーニングを進めていく予定です。

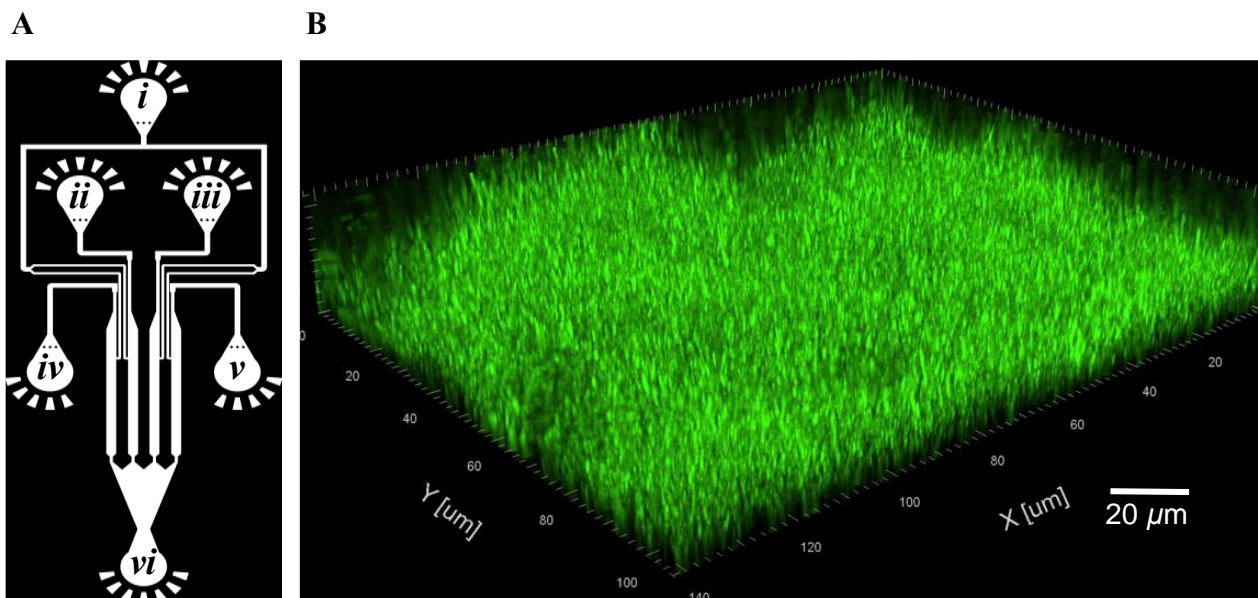


図1. マイクロ流路におけるバイオフィーム形成

(A) マイクロ流路のモデル図。(i)は細菌の植菌、(ii-v)は異なる濃度の界面活性剤の挿入口、(vi)は排出口を示す。

(B) 培養開始から12時間後のバイオフィームの共焦点顕微鏡画像。蛍光染色したDNAを緑で表示。

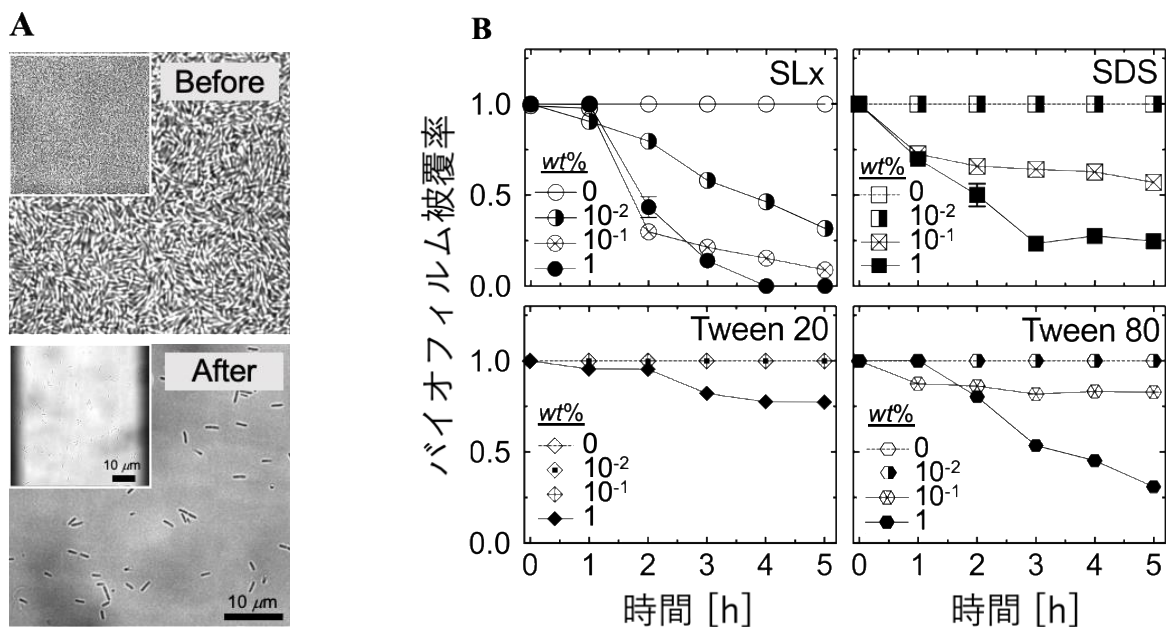


図2. 界面活性剤添加によるバイオフィームの変化

(A) SLx 添加前後のバイオフィーム画像。

(B) 各界面活性剤の添加量と添加後のバイオフィーム表面積の時間変化。

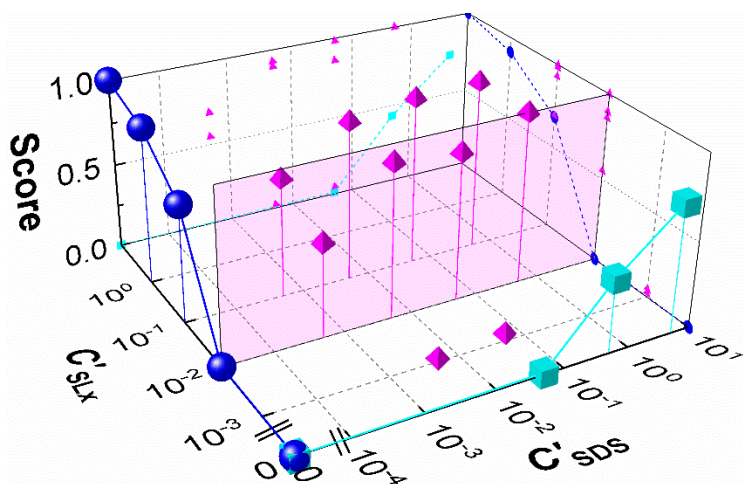


図3. SLx と SDS の組み合わせによるバイオフィルム除去効果。紫で表示した部分が高い相乗効果を示す。CMCで標準化した界面活性剤の濃度 (X軸:SLx, Y軸:SDS)、バイオフィルム除去のスコア (Z軸) を示す。青・水色・紫のプロットは、それぞれSLx単独、SDS単独、SLxとSDS混合(組み合わせ)で処理した結果を示す。

用語解説

注1) 界面活性剤

異なる物質が接する界面に集まりやすく、少量で界面張力を小さくする作用を持つ物質。例えば、石鹼(せっけん)水は水よりも界面張力が小さいが、これは石鹼の分子中に疎水基と親水基があるため分子が界面に吸着され、界面を広げようとする作用が界面張力を弱めることによる。洗剤・乳化剤・帯電防止剤・起泡剤などに用いられる。界面活性剤ともいう。

注2) マイクロ流路デバイス

フォトリソグラフィーという技術を用いて基板を作り、微細切削加工、成形などの方法で作製した流路を持つデバイス。本研究では、細菌が接着し、バイオフィルム形成可能な多孔質環境を模倣したマイクロ流路デバイスを作製し、バイオフィルムの挙動を観察した。

注3) 臨界ミセル濃度 (Critical Micelle Concentration, CMC)

例えば水中の石鹼分子は、親水性のカルボキシル基を外側に、親油性のアルキル基を内側にして配列し、球状のミセル(界面活性剤などの分子またはイオンが数十個から数百個集まったコロイド粒子)を作る。界面活性剤の濃度が高くなればなるほど表面張力が下がるが、界面活性剤が全てミセルとなり、それ以上表面張力が下がらなくなる時の界面活性剤の濃度を、臨界ミセル濃度という。

掲載論文

【題名】 Synergy between Sophorolipid Biosurfactant and SDS Increases Efficiency of *P. aeruginosa* Biofilm Disruption

(界面活性剤ソホロ脂質とSDSとの相乗効果による緑膿菌バイオフィルムの効率的な破壊)

【著者名】 Bac V.G Nguyen, Toshiki Nagakubo, Masanori Toyofuku, Nobuhiko Nomura, Andrew S. Utada

【掲載誌】 Langmuir (DOI: 10.1021/acs.langmuir.0c00643)

問合わせ先

【研究に関すること】

Utada S. Andrew (ウタダ アンドリュウ)
筑波大学 生命環境系 准教授
Tel: 029-853-4197
Email: utada.andrew.gm[at]u.tsukuba.ac.jp

野村 暢彦 (ノムラ ノブヒコ)
筑波大学 生命環境系 教授
Tel: 029-853-6627
Email: nomura.nobuhiko.ge[at]u.tsukuba.ac.jp

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報室
Tel: 029-853-2040
Email: kohositu[at]un.tsukuba.ac.jp

科学技術振興機構 広報課
Tel: 03-5214-8404
Email: jstkoho[at]jst.go.jp

【JSTの事業に関すること】

内田 信裕 (ウチダ ノブヒロ)
科学技術振興機構 研究プロジェクト推進部
Tel: 03-3512-3528
Email: eratowww[at]jst.go.jp