

腸内細菌の種間相互作用に関する研究

木下 夏野（筑波大学 生物学類） 指導教員：小林 達彦（筑波大学 生命環境系）

【背景・目的】

腸内細菌は宿主の栄養管理、生活習慣病の予防・治療、免疫、精神疾患との関連、さらには運動能力の向上などのさまざまな観点から近年注目されており、一般に「善玉菌」と呼ばれる乳酸菌やビフィドバクテリウム属細菌は既に健康増進を目的とした食品やサプリメントとして市場で販売されている。

近年、メタゲノム解析などの技術により腸内細菌叢解析が可能になり、宿主の健康状態と腸内細菌叢のバランスの関係が明らかになってきたが、個々の細菌の代謝的な挙動や相互関係は未解明な点が多い。本研究は、複数の腸内細菌を共培養することで単独培養では見つけられない新規の代謝経路の発見を目的とし、一般的なヒト腸内細菌を用いた共培養によって生育・培養後の様子への影響を検討した。

【材料・方法】

培養・観察

取り寄せた 23 種類のヒト腸管由来細菌を用いて組み合わせを変えながら共培養を行い、生育への影響や培養後の様子を比較した。培養は単独培養、共培養（分割）、共培養（混合）の 3 条件で比較を行った。培養後は OD₆₀₀ 測定による生育の度合いの定量化、培養上清の pH 測定、見た目の様子の観察を行った。共培養（分割）は、透析カセットを用いて空間的に細菌を仕切って実施した。

増殖曲線と気体産生時期の特定

前項の実験を受け、B 菌と C 菌の 2 種類の細菌に着目することとした。これらの細菌の生育速度を把握するため、B 菌と C 菌の単独培養での増殖曲線の作成と、C 菌の気体産生時期について観察した。培地は GAM Broth “Nissui”¹⁾ を用い、12 時間おきに OD₆₀₀ の測定と気体産生の確認を行った。気体産生は、静置培養後の培養液に振動を与えて液中から気体が出るか否かで判断した。気体産生量は定量が困難であったため、目測により 3 段階で評価した。尚、培養は 3 連で行った。

Total RNA 抽出と解析

B 菌と C 菌の単独培養及び共培養時の遺伝子発現を比較するため、RNAseq 解析を行った。前項の実験結果から、total RNA の抽出は C 菌の単独培養時に気体産生が確認された培養後 24 時間の菌体を用い、単独培養、共培養（分割）、共培養（混合）の 3 条件で行った。

【結果・考察】

培養・観察

B 菌および本菌と同じ属の細菌は気体産生を行わないことで知られている。C 菌は単独培養ではおならの様な硫黄臭の気体を産生する。GC-MS によるこの気体成分の分析を試みたが現在その特定には至っていない。

C 菌のこの気体産生量は B 菌と共培養（混合）を行うと完全にはないが抑制される傾向にあった。また、共培養（分割）では抑制効果が起こらなかった。

増殖曲線と気体産生時期の特定

B 菌、C 菌は共におよそ培養後 48 時間で定常期に達することが分かった。C 菌による気体産生量は培養後 24 時間で最も多く、36 時間の時点で減少しはじめ、48 時間では完全になくなることが確認された。

Total RNA 抽出と解析

現在、RNAseq のデータを分析中である。

実験を行う中で、B 菌が C 菌の気体産生を抑制する可能性が示唆された。今後は、RNAseq データの解析で単独培養時と共培養時の遺伝子発現を比較し、気体産生の変化に影響を与えている遺伝子の特定を試みる。また、C 菌の産生する気体成分の分析方法の検討も行っていく予定である。

【参考】

- 1) 日水製薬コスモ会. <https://cosmokai.com/products/>