

海洋性発光バクテリアの教材化の検討

前川 洋・金澤昭良・佐藤 大・米根洋一郎・金本吉泰

光の強さが重金属等の毒物の影響を受けるという特性を利用するなどして、発光バクテリアが児童生徒の思考や理解を深める教材として一層活用されることを期待し、発光の強さを太陽電池で測定する簡便な方法などについて紹介する。

〔キーワード〕 発光バクテリア 太陽電池 バイオセンサー 探究活動

はじめに

イカの胴体等に付着している海洋性発光バクテリアは、児童生徒の興味・関心を高める教材として古くから用いられていたが、思考や理解を深める教材としての活用は、光合成による酸素発生を検証する実験^{※1)}のほかは、あまり例がなかった。

今回、東京工科大学応用生物学部 佐々木聡教授から提供いただいた海洋性発光バクテリア (*Photobacterium kishitanii*) が、我々が道内のイカから採取したいずれのバクテリアよりも強く発光することから、これを用いて、バクテリアの光の強さを測る簡単な装置を考案した。さらに、発光バクテリアが放つ光の強さが重金属等の毒物の影響を受けることから、この装置が、環境汚染を調べるバイオセンサーとして機能するか検討したので、併せて本稿で報告する。

1 簡易発光測定装置の作製と発光量の測定

① 簡易発光測定装置の作製

研究実験用アルミホイルで作製した暗箱 (170×90×100mm) 内の底面に太陽電池 (60×110mm, L-500M, ケニス) を置き、それをデジ

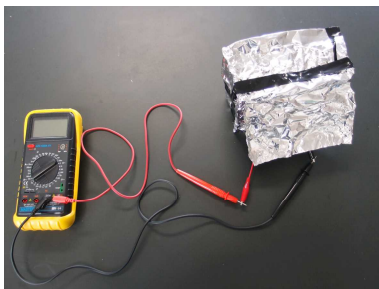


図1 簡易発光測定装置

タルマルチメーター (MY64, MASTECH) に接続して、「簡易発光測定装置」を作製した (図1)。

② 簡易発光測定装置による発光測定試験

発光バクテリア懸濁液50mLが入った三角フラスコ (100mL) を、簡易発光測定装置の太陽電池の受光面に置き、得られる電圧値 (mV) を測定したところ、最大で12mVの電圧を測定することができた。

和田等は、*P. phosphoreum* strainを用いて、我々と同じ太陽電池で最大0.7mVの電圧を得たと報告している^{※2)}。測定したバクテリア懸濁液の量や暗箱の大きさが異なることから、一概には言えないが、*P. kishitanii*の発光する能力は高いと考える。

なお、三角フラスコ内でのバクテリアの培養には、次の液体培地を用いた。

・液体培地 (著者改良型) ^{※3)}

水道水500mL, ペプトン 2.5g, グリセリン 1.5mL,
食塩15g, MgSO₄・7H₂O 0.1g, 1M リン酸緩衝液(pH7.2) 1mL
2M NaOHでpH 7.2に調整後滅菌し使用。

2 発光に与える重金属の影響

【方法】

液体培地 (60mL) が入った三角フラスコ (100mL) を2つ (A, B) 用意し、滅菌後、平板培地で培養した発光バクテリアをループでひとかき取って液体培地にそれぞれ接種した。冷蔵庫 (7℃) で3日間培養

した後、発光の様子を撮影するとともに、簡易発光測定装置にフラスコを入れて電圧をそれぞれ測定した。

次に、Aのフラスコには100mgCu²⁺/LになるようCuCl₂・2H₂Oを13mg、Bには150mgZn²⁺/LになるようZnCl₂を19mg加え、発光の様子を確認するとともに、電圧をそれぞれ測定した。

【結果】

重金属の添加前の発光の様子は図2のとおりAの方が少し明るく、電圧は、Aが0.5 mV、Bが0.3mVであった。

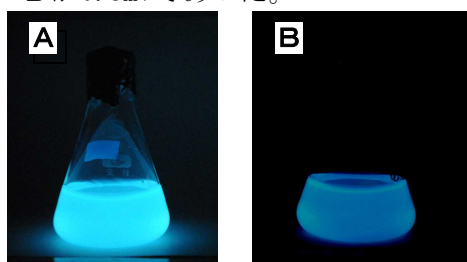


図2 重金属添加前のA、Bの発光の様子

重金属を添加して10分後にBが、30分後にAがほとんど光らなくなった。Bは20分後に全く光らなくなった。また、測定した電圧の変化は図3のとおりである。

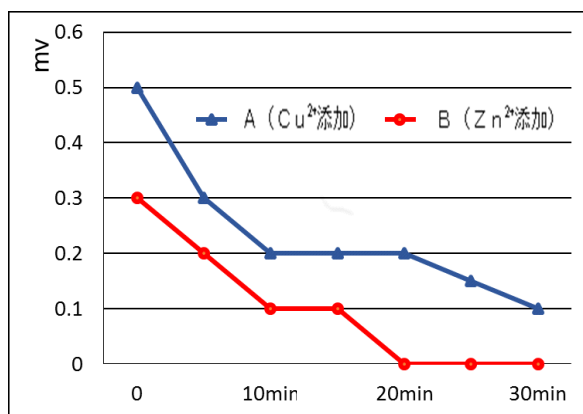


図3 重金属添加前後の電圧の変化

おわりに

この度使用した発光バクテリアは、既に純化された株であり、培養及び長期保存を簡単に行えることから、学校でも取り扱うことは容易と考える。

また、太陽電池を用いた簡易発光測定装

置は、アルミホイル以外にも遮光性の材料を使えば簡単に作製できる。

重金属の発光に与える影響については、荒川等が、1 mgCu²⁺/Lで添加15分後に発光が約90%阻害されると報告し^{*4)}、牧村等は、2 mgCu²⁺/Lで添加15分後に発光が約90%、0.3 mgZn²⁺/Lで発光が90%以上阻害されると報告している^{*5)}。今回は、重金属の影響を実感させるため、CuCl₂またはZnCl₂の粉末を直接溶かす方法をとったため、上記報告の濃度よりCu²⁺で約50倍ないし100倍、Zn²⁺で約500倍の濃度で実施した。

本教材は、授業はもちろん、探究学習や課題研究で活用することが可能である。具体的には、授業では、科学と人間生活（*う*生命の科学（*い*）微生物とその利用）や生物（（*3*）生物の環境応答）での活用が考えられる。探究学習等では、川の水や汚染された水を採取して、それらの汚染の度合いを調べることが可能であると考えられる。

本研究では、液体培地で培養したときの発光の強さが安定しないことや発光がピークに達するまでの時間を明らかにできなかったことが課題であり、今後こうした課題を克服していく必要がある。

本研究を進めるに際し、東京工科大学応用生物学部 佐々木聡教授にバクテリアの分譲や培養法など、ご支援・ご指導いただいた。この場を借りて御礼申し上げる。

参考文献

- 1) 坂本元五郎, 「発光バクテリアの教材化」 採集と飼育, 第39巻5号, p307-308
- 2) 和田実他, 海洋性発光細菌を用いた微生物実験教材キットの試作と試用, 長崎大学水産学部研究報告, pp. 19-28, 2011.
- 3) 前川洋他 発光バクテリアについて～基礎からの発光バクテリア採取・培養方法など～ 北海道高等学校理科研究会編「北海道の理科」No. 59:53-58, 2016.
- 4) 荒川豊他, 海洋性発光バクテリアを用いた簡易毒性試験方法, 東京都立産業技術研究センター報告, pp. 110-111, 2007.
- 5) 牧村めぐみ他, 発光細菌を用いた環境モニタリングに関する研究, 富山県工業技術センター研究報告, pp. 110-111, 2010.

(まえかわ ひろし センター長)