

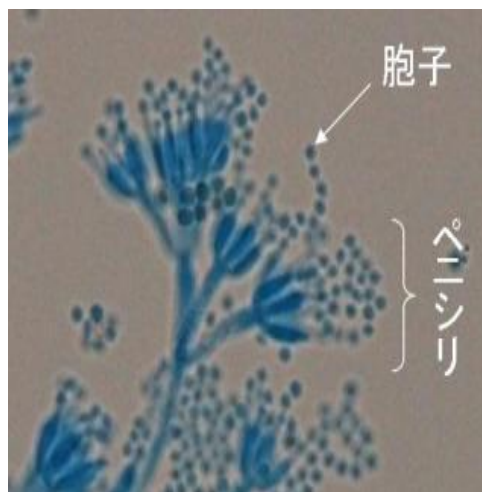
カビから取り出す抗生物質



青森県立五所川原高等学校 理数科 2 学年 化学 2 班
研究者名：大谷穂高 金澤瑠 越一樹 齋藤優 高橋和成
指導教員：齋藤郁子

1. 研究動機

ペニシリンという抗生物質はアオカビから精製することができる。そこで我々は市販の食品から発生するアオカビからペニシリンを単離することはできるのか。併せて、アオカビ以外のカビでもペニシリンのような抗菌作用は見られるものはあるのか検証する。



(図1) (*1)

2. ペニシリンとは

右記のようなアオカビが産出するペニシリンは治療薬として最初に使われた抗生物質。1928年、イギリスの細菌学者フレミングが、ブドウ球菌の培養中に偶然発見した。細胞壁の合成を阻止し、死滅させる。特に肺炎や淋病に効果がある。(出典：ニッポニカ、一部改変)

3. 仮説

ペニシリンはアオカビ (*Penicillium notatum*) によって産出される抗生物質であり、これは自然界に多く存在している。現代の滅菌技術や培地制御を用いれば、高校の実験室においても、食材に自然発生したアオカビからペニシリンのような抗生物質を抽出できる。併せて、アオカビ以外のカビにも抗菌効果を持つ個体がある。

4. 実験・研究方法

① 食パン、白米、トマト、ミカン、レモン、カンボゾーラチーズ（表面にシロカビ、内側にアオカビが植え付けられたチーズ）を用意し、蒸留水を与えて放置してカビを発生させる。



▲ 食パン (図2)



▲ 白米 (図3)



▲レモン (左) ミカン (右)
(図4)

② 寒天を蒸留水 300mLあたり 7.05g の割合で溶かし、オートクレーブで 121℃で 15 分間高圧蒸気滅菌 (*2) し、触れることができるほど冷めたらクリーンベンチの中で滅菌シャーレに分注し、冷蔵庫で冷却することで凝固させる。



▲使用した
寒天培地
(図5)



▲蒸留水に溶かした
寒天培地
(図6)



▲滅菌シャーレに分注した
寒天培地
(図7)

③ ①で得たカビの中から目視で青色を呈するカビを取り出し、顕微鏡で観察しアオカビの形状に似ているものを②で作成した寒天培地に植え付け保存する。

(アオカビの純度を高めるため、②・③を繰り返す)

④ 雑菌である手の常在菌の上にアオカビを植え付け、ディスク拡散法(※)により抗菌効果を検証する。ここで、併せて食材に生えたクロカビ、シロカビを用いてアオカビの場合と同じように追加検証を行った。

※ディスク拡散法とは

毛細管現象により、寒天中の水分がディスクの濾紙に吸収され、ディスク中の薬剤が溶解する。溶解した薬剤は直下の培地に移行し、培地上の細菌に作用しながら拡散していく。拡散した薬剤濃度と細菌の増殖能との関係により阻止円が形成される。すなわち阻止円が小さければ、その薬剤に対する感受性が低いということになる。(※3)

5. 結果

カビを発生させる段階で、トマトでは腐敗によりアオカビが生育しなかった。しかし、食パン、白米、ミカン、レモンには下図のようにカビが発生した。



▲食パンに生えたカビ
(図8)



▲白米に生えたカビ
(図9)



▲ミカン、レモンに生えたカビ
(図10)

次に顕微鏡で取り出したカビを観察したところ、レモン以外の食パン、白米、トマト、ミカンにアオカビがみられた。レモンではアオカビは観察できなかった。

白米に生えたアオカビは寒天培地で繁殖に成功したが、他の食材はクロカビやシロカビに覆われてアオカビを確認できなかった。

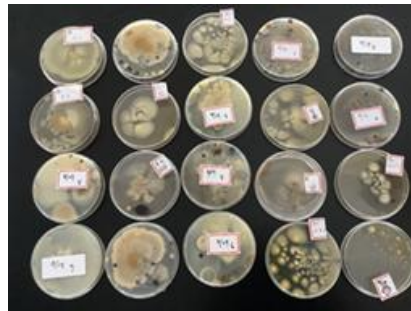
表1

食材	食パン	白米	トマト	ミカン	レモン	チーズ
顕微鏡でのアオカビの確認	○	○	-	○	×	○
寒天培地での繁殖	×	○	-	○	×	○

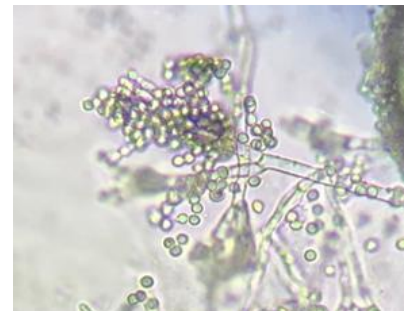
○…できた ×…できなかった - …未実施



▲寒天培地での繁殖が成功したもの (図11)



▲寒天培地での繁殖が失敗したもの (図12)



▲顕微鏡で実際に確認できたもの (図13)

その後、ディスク拡散法を用いて抗菌効果を検証した。結果は以下の通りになった。

表2

カビの種類	アオカビ	シロカビ	クロカビ
阻止円の有無	×	×	×

6. 考察

- ・固体培地に生えたアオカビをそのまま水に溶かしたためディスクにカビが生えてしまったことから、ディスク拡散法を正しく検証できなかった。
- ・ディスク拡散法に使用する常在菌の生え方や量が安定していなかったため、実験対象として、不十分だった可能性がある。
- ・ミカンとレモン、パンは様々なカビが混在している中から取り出したため、ほかのカビが混入してしまった。

7. 今後の展望

- ・アオカビを繁殖させる際に液体培地を用いることで液体中にペニシリンを放出させ、そのペニシリンを用いてディスク拡散法を検証する。
- ・常在菌を十分培養してから、実験を行う。
- ・観察の間隔を短くして、アオカビが生えたところですぐ取り出す。
- ・アオカビのみの培地に近づけ、より純粋なアオカビで抗菌効果を検証していく。そしてアオカビから抗生物質であるペニシリンの抽出及び定量をしていく。
- ・現在はアオカビのみ、抗菌効果を示すペニシリンが確認されているが、クロカビやシロカビなどそれ以外のカビにおいても同様の性質を持つ物質を発見するため、検証を進めていく。
- ・市販のペニシリンを用いてディスク拡散法を行い、実際に阻止円が形成されるかなどを検証し、実験方法を確認する。

8. 謝辞

本研究に助言をしてくださった弘前大学農学生命科学部田中和明教授に御礼申し上げます。

9. 参考文献

- ・さいたま市サイエンスナビ(*1)
<https://www.city.saitama.lg.jp/sciencenavi/kenkou/003/p008951.html>
- ・ペニシリンの抽出
<https://school.gifu-net.ed.jp/ena-hs/ssh/H30ssh/sc2/21835.pdf>
- ・無菌操作と培地の作り方マニュアル(*2)
<https://www.ed.ehime-u.ac.jp/~muko-lab/img/file7.pdf>
- ・ディスク拡散法(厚生労働省)(*3)
https://www.maff.go.jp/j/syouan/suisan/suisan_yobo/attach/pdf/fishmed-51.pdf