

理科教育試料としての納豆菌の検討

○菅原友^A, 安川洋生^B

SUGAWARA Yu^A, YASUKAWA Hiro^B

^A岩手大学教育学部, ^B岩手大学応用生命科学系

[キーワード] 納豆菌, 抗菌薬, 蛍光観察, DNA, PCR

1. はじめに

納豆は古くから日本で親しまれてきた伝統食品である。筆者らは納豆の製造に利用される納豆菌を用いて、納豆菌や遺伝子を視覚的に捉えることができる実験を行った。この試料を用いることで生徒は実生活に微生物が深く関わっていることを学習することができる。そして生徒の科学や生物への関心の向上につながることを期待される。

2. 材料

2. 1. 菌株と培地

秘伝金印くめ納豆(株式会社ミツカン)の納豆菌と、SCD 寒天培地(日水製薬株式会社)を使用した。

2. 2. 抗菌薬

BD センシ・ディスク ホスホマイシン 50 及び BD センシ・ディスク テトラサイクリン 30(いずれも日本ベクトン・ディッキンソン株式会社より購入)を使用した。

2. 3. 顕微鏡観察

顕微鏡はNikon MICROPHOT - FXA(株式会社ニコン)を使用した。また、スライドガラスは松波スライドガラス S - 0313(松波硝子工業株式会社), 蛍光試薬はヘキスト 33342(株式会社 同仁化学研究所)を使用した。

2. 4. PCR 試薬と装置

納豆菌 DNA 抽出には、KAPA Express Extract kits(日本ジェネティクス株式会社)を使用した。PCR には 2 種のプライマー(BsnfosB-F: 5'-GTGGAGATAAAAGGAATCA ATCACTTGC, BsnfosB-R: 5'-TCGAAGCCTG TCTTGAAGGGTTCCGGTATG)及び 2×KAPA 2G Robust HotStart ReadyMix(日本ジェネティクス株式会社)を用いた。PCR 装置には TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice mini(タカラバイオ株式会社)を使用した。

3. 実験方法と結果

3. 1. 抗菌薬感受性試験

SCD 寒天培地に納豆菌を塗布後、BD センシ・ディスクを配置し、培養した(25℃, 48 時間)。その結果、テトラサイクリンでは直径 32 mm の阻止円形成がみられた。一方、ホスホマイシンでは阻止円形成はみられなかったことから、今回使用した納豆菌はホスホマイシ

ン耐性を有していることがわかった。

3. 2. 蛍光顕微鏡観察

スライドガラスに生理食塩水を滴下し、SCD 寒天培地から釣菌した納豆菌を懸濁後、観察した。蛍光観察では蛍光試薬を滴下し、染色した試料を観察した(図 1)。

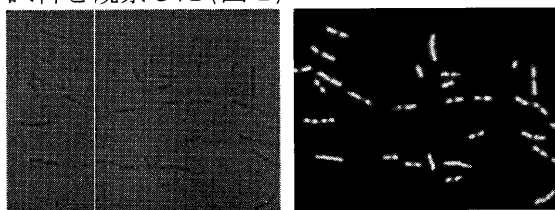


図 1. 納豆菌の蛍光観察画像
左側は明視野画像, 右側は蛍光画像。

3. 3. 納豆菌 DNA の抽出及び *fosB* 遺伝子の増幅

納豆菌 DNA の抽出は、試薬キットの取り扱い説明書に従って行った。その抽出物を鋳型として次の通りに PCR を行った。まず 95℃で 3 分、その後、以下の条件を 35 回くり返した(95℃で 15 秒, 55℃で 15 秒, 72℃で 30 秒)。*fosB* をコードする遺伝子地図、及びプライマーのアニール部位について図 2 に示す。また PCR 産物の電気泳動結果を図 3 に示す。これらの結果より、今回使用した納豆菌は *fosB* 遺伝子を有していることが確認された。

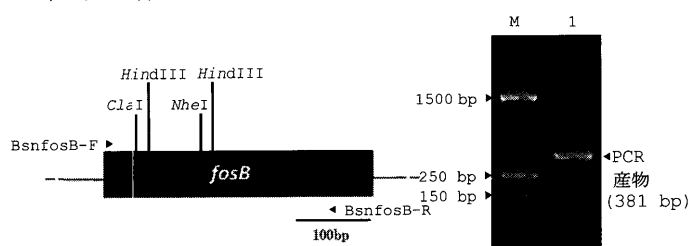


図 2. *fosB* をコードする制限酵素図
PCR の 2 つのプライマーは
アローヘッドで示した。

図 3. PCR 産物の電気泳動結果
M がサイズマーカー
1 が PCR 産物。

4. まとめ

本実験では、実生活に身近な納豆菌を用いて視覚的に微生物の形態や遺伝子を捉えた。生徒が微生物や遺伝子を実際に目で見ることによって、微生物の実態やバイオテクノロジー学習に対する関心が高まると思われる。納豆菌は理科や生物を学習する上で、身近な理科教材試料となると期待される。