

C105

異なる表面電位を有する材料表面への微生物の初期付着とバイオフィーム構造の関係解明

(東農工大院工) ○(学)奥山 圭祐・(名工大界微研) (正)松本 慎也
(東農工大工) (正)細見 正明・(早大生医) (正)常田 聡・(東農工大工) (正)寺田 昭彦*

1. はじめに

微生物は固体表面に付着し、微生物の凝集体とそれらが産出するポリマーで構成されるバイオフィームを形成する。バイオフィームは排水処理において有用である一方、カテーテルに関する感染症の温床となり、抑制・除去すべき対象になっている。したがって、バイオフィームを制御・抑制する技術の開発が重要な課題となっている。我々は、材料表面を用途に応じ化学修飾することによるバイオフィームの抑制を目指している。本研究ではその第一歩として、材料表面の物理化学的性質が及ぼす微生物の初期付着速度およびバイオフィーム構造への影響評価を行う。既往の研究では、材料表面への陽・陰イオン交換基の導入により、微生物の初期付着を抑制・促進できることを明らかにしている¹⁾が、これらの材料表面への微生物の初期付着とその後形成されるバイオフィーム構造・強度との関係は不明である。

2. 実験方法

材料表面の電荷を制御可能な放射線グラフト重合法をポリエチレンシート(PE; 空隙率 70%, 孔径 0.20 μm)に適用し、異なる物理化学的性状を有するシートを作製した。まず、PE に電子線を照射し、グリシジルメタクリレート(GMA)を重合して GMA シートを作製した。次に GMA シートが有するエポキシ基に亜硫酸ナトリウム(SS)およびジエチルアミン(DEA)を反応させ、陽イオン交換基および陰イオン交換基をそれぞれ導入した。作製したシートを SS シートおよび DEA シートと呼ぶ。表 1 に各シートの表面特性を示す。

表 1 シートの表面特性

	PEシート	GMAシート	DEAシート	SSシート
ラフネス	135	308	334	316
[nm]	(± 19.5)	(± 49.2)	(± 37.0)	(± 29.9)
表面電位	-18.6	-24.0	+3.38	-52.3
[mV]	(± 1.99)	(± 1.07)	(± 1.41)	(± 1.70)

*カッコ内は標準偏差を示す。

実験に供試する微生物として *Escherichia coli* を用いた。初期付着試験では、*E. coli* 懸濁液(0.02M PBS)に 0.5 cm 片の作製したシートを投入し、懸濁液の濁度の減少を追跡することにより、それぞれのシートの初期微生物付着能を評価した。バイオフィーム形成試験では、バイオフィームの経時的な形成過程を *in situ* で観察するために、フローセル(40 mm \times 4 mm \times 1 mm) を用いて実験を行った。まず、

シートを固定したフローセル内に *E. coli* を含んだ懸濁液を流入し、滅菌した基質(LB 培地)を連続的に 45 時間供給した。バイオフィームを形成させた後、バイオフィームを LIVE/DEAD *BacLight* (SYTO9/PI 混合液)によって染色し、共焦点レーザー顕微鏡により観察した。これにより、材料表面の物理化学的性状がバイオフィームの構造に与える影響を評価した。

3. 実験結果および考察

初期微生物付着試験により、シートの表面電荷が *E. coli* のシートへの初期付着速度およびその活性を決める因子であることが明らかになった(データ省略)。共焦点レーザー顕微鏡による *E. coli* バイオフィームの構造を図 1 に示す。シート表面が正電荷を有する DEA シート(中央写真)では、均一かつ密に *E. coli* がシートに付着し、材料表面の水平方向に広がりを持つバイオフィームを形成した。一方で、負電荷を有する GMA シート(左写真)および SS シート(右写真)では *E. coli* は局所的に付着し、密度が低く、厚さ方向への成長が顕著であり、マッシュルーム型のバイオフィームを形成していた。シートの表面電位は *E. coli* の初期付着のみならず形成されるバイオフィームの構造に大きな影響を及ぼすことが明らかになった。

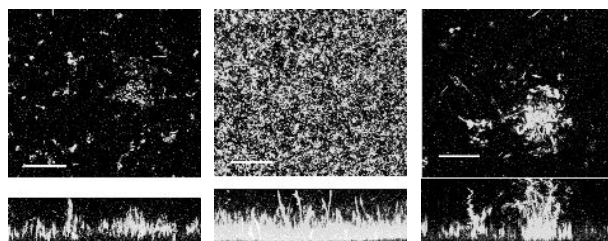


図 1 *E. coli* バイオフィーム構造の顕微鏡観察
(左から GMA, DEA, SS シート。上段:水平方向、下段:厚さ方向に観察した重ね合わせ画像。上図中の白線は長さ 50 μm を示す。)

4. まとめ

E. coli のバイオフィームの構造(密度、均一性、厚さ)は、バイオフィームの基盤となる表面の電荷の違いで異なることが明らかになり、バイオフィームの抑制・制御には材料表面の化学修飾が重要であることが示唆された。今後の課題として、形成されるバイオフィームの活性および強度について評価を行う必要がある。

5. 参考文献

1)常田聡, 寺田昭彦; 膜 33(2), 54-62(2008)

*E-mail: akte@cc.tuat.ac.jp