

第1章 微生物学で学ぶこと

1.1 なぜ微生物を勉強するのか

私たちの身の回りには無数の微生物（microorganisms, microbes）が存在している。肉眼では見ることができないが、きわめて重要な存在である。

微生物の存在を知らない時代には、微生物が引き起こす病気は謎であった。迷信がはびこり文明の進歩を妨げていた。微生物学（microbiology）の近代文明への貢献は計り知れず、歴史さえも塗り替えた。微生物の性質や役割について勉強するのが微生物学である。生態学における物質の分解や循環という重要な概念は、微生物研究から導かれたものである。

微生物研究から得られた知見を、別の分野の研究に取り入れている科学者も数多い。特に生命科学分野では、微生物は欠くことのできない研究素材である。生命科学に関する知見は、微生物の研究から得られたものが大部分である。微生物が生命科学に用いられている理由は、次のようにまとめることができる。

①**単純な構造**：生命活動を研究するには多細胞生物よりも単細胞生物の方が容易である。多細胞生物の細胞は微生物細胞よりも複雑であるが、類似している点も多いので、微生物で代用することで生理・生化学的な知見を得ている。

②**高密度培養が可能**：マウス 10 匹の飼育費用よりも、数十億個のバクテリアを培養する費用の方が安価である。莫大な数の微生物細胞を用いることができるので、少数の高等生物を用いる実験よりも統計学的に信頼性の高い結果が得られる。

③**短い世代時間**：微生物の増殖速度はきわめて速く、世代時間は短い。このため、遺伝学の研究材料として適している。大腸菌には 1 時間に 3 回も細胞分裂をする系統があり、遺伝形質が次々に後の世代に伝達されていくのを観察することが可能である。

④**容易に突然変異誘導**：高等生物では飼育や栽培できる個体数に限りがあり、通常は数百個体が限界である。この程度の個体数で突然変異を誘導すると、ほとんどの個体は死滅してしまい、突然変異体を得ることができない。しかし、微生物は多数の個体を扱うことができるので、突然変異体を簡単に誘導できる。

⑤**小さいゲノムサイズ**：微生物のゲノムサイズは小さいので、これに突然変異体の誘導をすると、容易に染色体地図を作成することができる。近年の分子生物学の進歩により、多くの微生物でゲノム DNA の完全な配列が決定されており、DNA 配列と形質との一対一の関係が明らかにされつつある。

1.2 微生物学の領域

微生物学は、微生物が関わっているさまざまな問題を研究する学問であり、その領域はきわめて広い。特殊な微生物を見つけ出そうとしている研究者もいるし、微生物の機能の研究を行っている人もいる。微生物が生産した抗生物質を効率的な精製法に興味を持っている研究者もいれば、ワクチンの製造に興味を持つ研究者もいて、実にさまざまである。

農学分野では微生物学の研究をもとに作物の病原微生物の感染を抑制し、作物の収量を向上させる取り組みがなされている。また環境科学分野では、環境中の微生物の役割を研究することで、自然の状態の食物連鎖を維持し、環境を保全する研究が行われている。微生物が関連している分野を図 1-1 に示した。

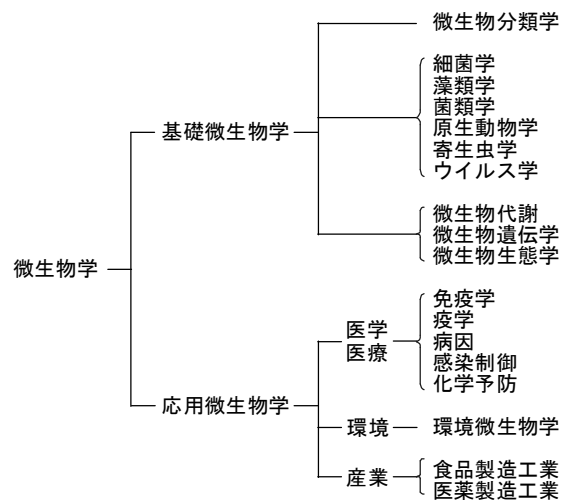


図 1-1 微生物学の領域

微生物学は、**基礎微生物学**と**応用微生物学**に大きく分けられる。両者に明確な境界はなく、大学や国公立の研究機関で行われているのが基礎微生物学、企業で行われているのが応用微生物学といった大雑把な分け方もある。医学に関する微生物学は、応用微生物学の領域であるが、この中の免疫学、疫学、病因学は基礎微生物学に含まれる。

基礎微生物学には、分類学、バクテリア類、菌類、藻類、原生動物、ウイルスの性質や細胞の機能を研究する基礎生物学分野、微生物の代謝、遺伝、生態に関する分野が含まれている。微生物実験の基礎、細胞の構造と機能に関する一般的な原理、微生物の多様性とその分類、細胞の生化学的な過程、微生物の増殖と進化に関する遺伝の基礎、自然界における微生物の役割について学習する。

医学、農学、工学領域においても微生物学は重要であり、

応用微生物学は産業における微生物利用を扱っている。

①**医学・医療**：微生物は天然痘，コレラ，マラリアなどの病気の原因であり，微生物感染症に関する研究は医学の重要な領域である。また，微生物に感染したときに起こる免疫反応は生体の防御反応であり，免疫反応も微生物学の領域である。また，微生物は抗生物質などの医薬品の重要な供給源でもあり，医学・医療とのつながりが深い。

②**環境**：微生物は地球上すべての生命維持にかかわっており，炭素，窒素，リンなどの循環，土壌の肥沃化，環境浄化（有害物質の分解）などの役割を果たしている。土壌の肥沃化は農業において重要な問題であり，高品質の農作物を栽培するには微生物の力が必要である。

③**工業製品**：医薬品，産業用酵素，化成品の製造過程にも微生物が利用されている。微生物の発酵過程を用いる工業を発酵工業とよぶ。

④**食品製造**：チーズ，パン，酒，醤油，味噌など発酵食品の製造に微生物は利用されている。一方，微生物は食品の変敗の原因でもあり，食品を通じて伝染する病原微生物もいる。

⑤**バイオテクノロジー**：アセトン，酢酸，エタノールなどの製造には伝統的に微生物が利用されてきた。近年では，遺伝子工学の進歩によりバイオテクノロジーという新しい分野を生み出され，酵素やポリペプチドの大量生産が可能となった。

1.3 微生物に分類されるもの

微生物とは肉眼で見ることができない微小生物の総称であり，ウイルス (virus)，バクテリア (bacteria)，菌類 (fungi)，原生動物 (protozoa)，および一部の藻類 (algae) が含まれている。単純な生物が多く，大部分は単細胞性である。多細胞性微生物も存在するが，分化の程度は低い。大きさもさまざまであり，最小のウイルスの 20 nm から 5 mm 程度の原生動物までが微生物として扱われている。両者の大きさには 250,000 倍もの開きがある。藻類，菌類，および原生動物は，バクテリアより複雑な構造の細胞から構成されており，明確な核を持っている。また光学顕微鏡により容易に観察することができる。

①**ウイルス**：きわめて微細な非細胞性の存在であり，観察には電子顕微鏡が必要である。生物と非生物の中間的存在である。核酸と数種のタンパク質から構成されており，タバコモザイクウイルスのように精製すると結晶状になり，何年間も寄生性を失うことなく保存できるものもある。しかし，生活環を完成するには寄生できる宿主が必要である。宿主細胞に入り込み，宿主細胞の機能を利用して，自分自身を複製する。インフルエンザやエイズのように人間に感染するウイルスも多く，医学的に重要である。

②**バクテリア**：単細胞性で，球状，棒状，らせん状などさ

まざまな形状のものがあるが，細胞内器官はない。観察には光学顕微鏡も使用されるが，細胞内構造の観察には電子顕微鏡が必要である。多くは外界から栄養素を取り込んでいるが，光合成や化学合成を行うものもある。

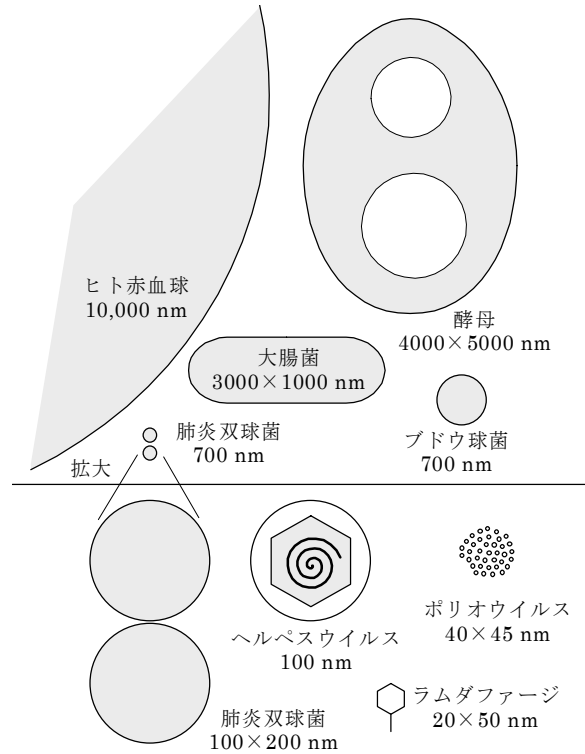


図 1-2 微生物の大きさ

③**藻類**：多くは単細胞性で微細な生物であるが，コンブなど海洋性藻類には，多細胞性で長さ十数メートルにもなるものもある。核は明確であり，膜で覆われた細胞内器官を持ち，光合成を行う。あらゆる場所に生育しており，他の生物の重要な食餌となっている。医学的には重要ではない。ヒトに感染する藻類として，*Prototheca* が唯一知られている。

④**菌類**：カビや酵母が含まれている。観察には顕微鏡が必要であるが，キノコのように肉眼で子実体が観察できる菌類もある。明瞭な核や細胞内器官を持ちた有機物を外界から取り込んで，栄養源としている。カビは菌糸とよばれる繊維状の構造物を形成するが，移動はできない。菌類は土壌や水中に広く分布しており，生態学的には死んだ生物を分解する「分解者」として働く。感染症の原因になることもあり，医薬品の起源にもなるので，医学的に重要である。

⑤**原生動物**：単細胞性である。細胞内器官を持ち，中には複数の核を持つものもある。観察には顕微鏡が必要だが，アメーバのように肉眼でも観察できるものもある。ほとんどは運動性であるが，ヒトの病気の原因となる原生動物のなかには運動できないものもある。原生動物は，水や土壌など環境中のあらゆる場所に存在している。

1.3.1 原核生物と真核生物

微生物には真核生物（eukaryote）と原核生物（prokaryote）とがある。その違いを表 1-1 にまとめた。バ

クテリアは原核生物であり、真核生物が持つ核膜、ミトコンドリア、色素体、ゴルジ体、小胞体などの細胞内小器官（organelle）を欠いている。DNA の複製、転写、翻訳の過程は同じであるが、関与する酵素等に違いがある。

表 1-1 原核生物と真核生物の比較

	原核生物	真核生物
DNA の存在場所 染色体	細胞質中に存在 単一の染色体のみ	膜に包まれた核内に存在 染色体は 1 本以上 各染色体コピーが存在することも
DNA のたたみ込み プラスミド	ヒストン様タンパク あり	ヒストンタンパク質との複合体 酵母にしか存在せず
イントロン	mRNA には存在せず	すべての遺伝子に存在
細胞分裂	二分裂（無性的複製）	有糸分裂による細胞分裂
遺伝情報の移動	接合、形質導入、形質転換による	有性生殖中に遺伝情報の交換 減数分裂により配偶子が生成
細胞質膜組成	ホパノイド、リポ多糖、テイコ酸を含有	ステロール含有
エネルギー代謝の場	細胞膜	ミトコンドリア
光合成器官	細胞膜膜系と小胞が関与	藻類と植物には葉緑体が存在
鞭毛	フラジェリタンパク質 1 種のみ	鞭毛は 9+2 微小管配列の複雑な構造
細胞壁組成	ペプチドグリカンを含む細胞壁 (真正バクテリアのみ、古バクテリアは高分子重合体)	セルロースまたはキチンの多糖類

1.3.2 Whittaker の五界説

生物の分類には、動物界と植物界の 2 つの界に分ける「二界説」、動物界、植物界、原生動物界の 3 つに分ける「三界説」などが提唱されてきた。現在では 1969 年に Whittaker が提唱した五界説（5-kingdom system）が有力である。五界説は、生物の体の構造とエネルギーの獲得様式から生物を 5 つの界に分類している（図 1-3）。微生物はこの五界のうち、モネラ界、原生動物界、菌類界、および植物界の一部にまたがる多様な生物の集合体である。

① **モネラ界 (Monera)** : 真正細菌 (eubacteria, 一般的なバクテリアや放線菌), シアノバクテリア (cyanobacteria), および古細菌 (archaeobacteria) が含まれる。いずれも原核生物である。モネラ界生物は単細胞性であり、明確な核や細胞内器官を持たない。DNA にタンパク質はほとんど会合していない。増殖は、二分裂により行われる。

シアノバクテリアは藍藻 (blue-green algae) とよばれ、以前は植物に分類されていた。自然界のバランスを保つ上できわめて重要な役割を果たしている。光合成能を持ち、多くは単細胞生物であるが、一部に糸状につながったものもある。シアノバクテリアは独立栄養生物であるため、動植物に感染して病原性を発揮することはないが、一部は毒素を生産し、これが中毒を起こすこともある。

シアノバクテリアはさまざまな環境で生育しており、中には嫌気的条件下でも生育するものもあるため、より高等な従属栄養生物の食餌として重要である。また中には大気中の窒素を固定し、藻類などの生物が利用できるような形に変換する能

力を持つものもある。ある種のシアノバクテリアは富栄養化した湖水や海水の赤潮の原因である。きわめて高密度に生育するので太陽光をさえぎり、毒素を生産するものもある。シアノバクテリアが大量発生した水を飲んだ魚や家畜が中毒を起こして大量に死亡した事例もある。

古細菌 (archaeobacteria) は原始的な原核生物であるが、他の生物が生育できないような激しい環境で生育している。メタンバクテリアは炭素化合物を還元して、メタンガスを発生する。超好塩菌はきわめて塩濃度の高い場所でしか生育できず、高温好酸性菌は海底の熱水鉱床とよばれる強酸性の熱水が噴き出す場所に生育している。太古の時代に真正細菌と分かれたと考えられており、細胞壁や RNA ポリメラーゼが真正細菌と大きく異なっている。

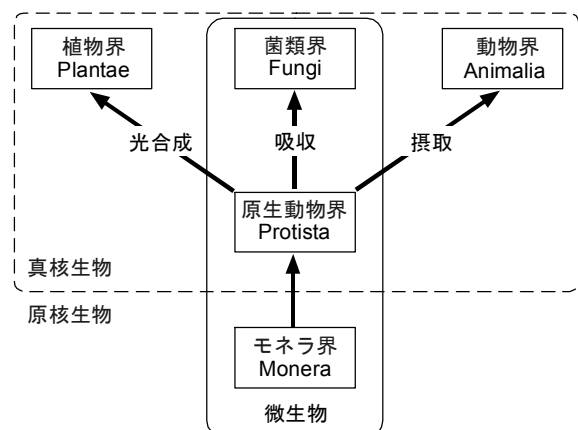


図 1-3 Whittaker の五界説と微生物学の領域

②**原生生物界 (Protista)**：微細藻類と単細胞の原生動物が含まれる。原生動物界に分類される生物は真核生物であり、ほとんどは単細胞性であるが、一部は群体を形成している。原生動物界生物は真核生物であり、膜で覆われた核や細胞内器官を持っている。植物や動物のように胚から発生したり、カビのように孢子から発生したりしない。しかし、微細藻類は植物に似ており、原生動物は動物に類似した性質を持っており、さらにユーグレナは植物にも動物にも似た性質を持っている。ある種の原生動物は感染症の原因であるため、医学分野で重要な研究材料となっている。

③**菌類界 (Fungi)**：菌類界には多細胞生物と単細胞生物の両方が分類されている。ほとんどの菌類は他の生物の死骸から有機物を吸収により摂取しているが、中には生きて細胞に侵入し手その細胞を殺し、そこから栄養素を吸収する菌類もいる。菌類には植物との共通点が多い。形態にも類似しているがその構造は植物に比べはるかに単純である。植物のような種子は形成しないが、孢子 (spore) を形成する。多くの菌類は病原性を持たないが、植物や動物の病原菌として知られているものもあり、なかにはヒトに感染するものもある。キノコや酵母 (yeast) は食品や食品製造の面でも重要である。

④**植物界 (Plantae)**：ほとんどの植物界生物は陸上に成育しており、光合成色素のクロロフィルを含有したクロロプラストとよばれる細胞内器官を持っている。植物の中には古来より民間療法として、微生物感染の治療に用いられてきたものがあるので、植物に興味を持つ微生物学者もいる。また植物の病原菌の研究を行っている微生物学者も多く、彼らは農産物の増収に貢献している。

⑤**動物界 (Animalia)**：動物界生物は、接合子 (卵と精子という2種の配偶子が接合して形成された細胞) から誘導された生物である。動物界生物は肉眼でみることができる大きさなので、微生物学者の直接の研究対象ではないが、病原微生物の媒介者として研究対象になることもある。また、寄生虫も医学では重要な分野である。サナダムシ類、吸虫類、回虫類などの寄生虫は、その生活環の一部に宿主への寄生が組み込まれている。宿主の体表に寄生しているヒルもこの分類に含まれている。節足動物の中にも宿主に寄生していて、伝染病の伝搬に関与しているものがある。ダニ、シラミ、ノミなどは生活環の大部分を宿主に寄生して生活している。

1.4 微生物学の歴史

1.4.1 顕微鏡の発明

Hooke (イギリス) はいろいろな観測機器や時計、顕微鏡、望遠鏡などを発明し、実験科学の進歩に寄与した。彼は顕微鏡を使ってさまざまな植物の組織を観察することで、植物組

織が小さな部屋から構成されていること発見し、これを「cell (細胞)」とよんだ。1665年に刊行された彼の著作である「Micrographia (ミクログラフィア)」の中で多くの物質の微細な構造を報告している。彼が作った顕微鏡は2枚のレンズを組み合わせて試料を拡大するものであり、現在の顕微鏡に近い構造であった。



図 1-4 Hooke の肖像画



図 1-5 Hooke の顕微鏡

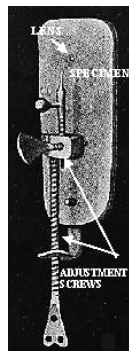
Leeuwenhoek はオランダの布商人であったが、レンズを磨く布も扱っていた。これがきっかけとなって、彼は微生物を観察することができる顕微鏡を組み立てた (図 1-4)。微生物は肉眼では見ることができないほど小さな生物であるが、この顕微鏡を使ってはじめて微生物の存在が確認された。彼の作った顕微鏡はレンズが1枚だけの簡単な構造で、虫眼鏡に近い構造であったが、その最高倍率は270倍もあった。レンズは固定されており、試料を移動させて観察するようになっていた。彼はこのような顕微鏡を300台近く作り、いまでも保存されているものもある。さらに彼はすぐれた観察力を発揮し、球菌、桿菌などのバクテリアやスピロヘータの形態を正確に記録した。

Leeuwenhoek の名声を高めたのは、初めて高倍率の顕微鏡を作り上げ、これで微生物の形態を正確に記述したことにある。これに加えて一定量の水に存在する微生物の数を測定するための技術や微生物の大きさを調べるための技術などを開発することで、微生物を定量的に計測したことにも起因している。彼は一定量の水の中に存在する微生物の数を計数

するために、一定量の水から正確に何分の一かの水滴を取り、それを顕微鏡で観察して微生物の数を計数した。これにより得られた数をもとの水の体積に換算することで、微生物の数を算出したのである。また、砂粒のような肉眼でも大きさが測定できるものを微生物と同時に観察して、その砂粒の大きさと比較することで微生物の大きさを決める方法も、彼が考案した。現在でも彼の発案した原理を利用して、微生物の数や大きさの測定が行われている。



(a) Antony van Leeuwenhoek



(b) Antony van Leeuwenhoekの顕微鏡

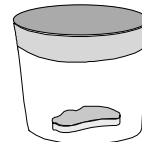
図 1-6 Antony van Leeuwenhoek と彼の顕微鏡

彼は自分の発明した顕微鏡を使い、その成果を Royal Society of London に 1670 年代から報告をはじめ、91 歳で亡くなる 1723 年まで発表し続けた。彼は自分の顕微鏡の詳細を外部の研究者へ見せることはなく、またその顕微鏡を他人に売ることも拒んだため、彼の顕微鏡は普及することはない。彼の死以降 1 世紀以上もの間、微生物学の停滞期を迎えることとなる。その後顕微鏡が普及し、さらに微生物を染色する色素が発見されると、これらを組み合わせて微生物をより鮮明に観察できるようになった。その結果、スウェーデンの植物学者であった Carolus Linnaeus (1707~1778) はこの方法を用いることで数多くの生物の分類を行い、二名法を確立した。またドイツ人植物学者の Matthias Schleiden と同じくドイツ人動物学者の Theodor Schwann は、顕微鏡観察で得られた知見をもとに「細胞説」を提唱するに至った。細胞説とは、生命を構成する基本的な単位は細胞であり、生命活動はすべて細胞の機能に基づいているという説である。

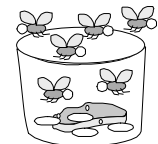
1.4.2 自然発生説の否定

イタリア人医師で詩人でもあった Francesco Redi (1626~1697) は、自然発生説を否定する初めての科学的実験を行った。自然発生説とは、生物は無生物から自然に発生したという説であり、19 世紀後半まで信じられていた。たとえば 17 世紀に出されたハツカネズミを自然発生させるための処方では、「ふたの開いた容器に汗ばんだ下着と小麦の殻をいれて 21 日待つ」となっている。この間に下着からの汗が小麦の殻にしみ込んで、これがハツカネズミに変化するのだと書かれていた。現在では滑稽だが、当時の文化や信仰、特にキリスト教におけるマリア処女懐胎信仰を背景に、自然発生説は根強く信じられていた。

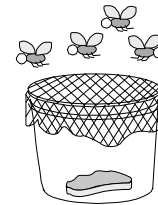
当時、ウジ (ハエの幼虫) は肉が腐敗する際に自然に発生したのと考えられていたが、Redi はハエが産んだ卵が成長してウジになったと考えた。この仮説を検証するため、彼は様々な容器の中に肉を入れてウジの発生を観察した。彼が用意したのは、密閉した容器、ふたのない容器、およびガーゼで覆い空気の出入りを可能にした容器であった (図 1-7)。



(a) コルク栓でふたをした容器



(b) ふたのない容器



(c) ハエが通過できない網でふたをした容器

図 1-7 Redi の実験

実験の結果、ふたのない容器にだけウジが発生した。親ハエが肉に接触できたからである。対照実験区を設定していたことから、最初の現代的な実験と言われている。

ところが Redi の実験にもかかわらず、自然発生説は根強く信奉され続けた。Redi 自身さえも、ある条件を満たせば生物の自然発生が起ると信じていた。また、水に数日間干し草を浸しておく、当時「animalcules」とよばれた微小生物が発生することが顕微鏡により観察されたことから、顕微鏡さえも、かえって自然発生説を肯定してしまった。

1745 年イギリス人聖職者の John Needham は、沸騰した液体培地をフラスコに入れて密閉し、その中で微生物が増殖するかどうかを調べることで、自然発生説の証明を試みた。当時、煮沸により微生物は死滅することが知られていたため、この実験では密栓したフラスコ内の液体培地で微生物の成長が認められたので、自然発生説の支持者がこの論争に勝利

したかのように思われた。

しかし、イタリア人聖職者の Lazzaro Spallanzani は Needham の実験には納得しなかった。Needham の実験では液体培地を沸騰させた後に、大気中に浮遊する微生物が密栓する前に培地に入り込んだために、外界と隔離されたように見える培地の中で微生物の増殖が起こったと考えた。そこで、彼はフラスコに液体培地を入れて密閉し、これを真空状態にしてフラスコ内部から空気を除去した状態で Needham と同様の実験を行ったところ、この条件では微生物の増殖は認められなかった。これに対して自然発生説の支持者たちは、単に自然発生には空気が必要であることを証明した実験にすぎないと反論した。

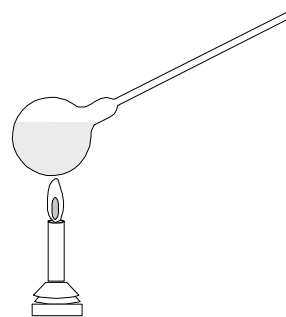
1.4.3 Pasteur の貢献

自然発生に関する論争は、1859年フランス人化学者 Louis Pasteur (ルイ パスツール, 図 1-8) により終止符が打たれた。フランス科学院が、自然発生を証明するか逆に論駁するためのコンテストを行ったとき、Pasteur は Needham と Spallanzani の実験の変法でこのコンテストに挑戦した。彼はフラスコ中で液体培地を沸騰することで微生物を死滅させ、さらに炎の中でそのフラスコの首を熱してS字型に曲げた (図 1-9)。

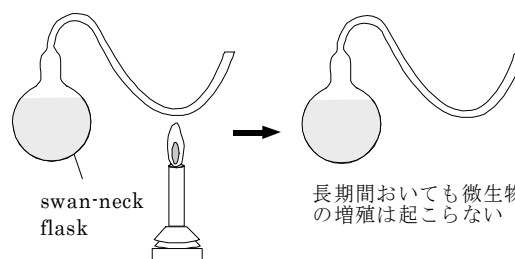


図 1-8 Louis Pasteur (ルイ パスツール)

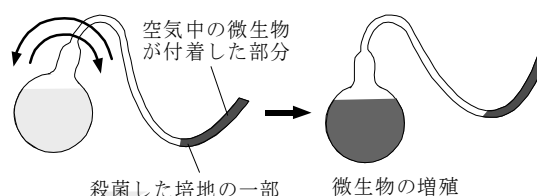
彼は、フラスコの首をS字型に曲げることで、空気中に浮遊する微生物はフラスコ内の培地には到達できないと考えた。予想どおり、いつまでたってもこのフラスコ内では微生物の増殖は起こらなかった。一方、そのフラスコを傾けて、フラスコ内の液体培地の一部をS字型首の中程まで移動させ、またもとに戻すと微生物が増殖し、液体培地がにごり始めた。この実験を通じて Pasteur は自然発生説を否定するとともに、いたるところに微生物が存在することも実証した。



(a) 液体培地を入れて加熱殺菌する



(b) フラスコの首を加熱してS字型に曲げる



(c) フラスコを傾けて首の中程まで培地の一部を移動させ、また元に戻す

図 1-9 Pasteur の swan-neck flask による実験

Pasteur は 19 世紀の偉大な科学者であり、微生物学の発展は彼の貢献によるところが大きい。彼はナポレオン軍の軍曹の息子として 1822 年に生まれた。最初は画家や教師を職業としていたが、化学の研究を行うようになり、その研究が認められフランスの大学教授となった。そこで彼はワイン製造や養蚕に多大な貢献をした。彼は慎重に選別した酵母を用いてワインを醸造すると良質のワインができるが、他の微生物が混入すると酵母と糖の奪い合いになり、ワインの味は油っぽくなったり酸っぱくなったりすることを発見した。これを解決するために、彼は低温殺菌法を提案した。この低温殺菌法は、酸素がない状態で 30 分間、57°C で加熱するというものであり、彼の名前にちなんで「pasteurization」とよばれている。

また、養蚕の研究中に、カイコガ幼虫に感染する 3 種の病原菌を見つけ出し、それぞれが異なる症状を引き起こすことを発見した。この研究から、ヒトでも特定の微生物が病気の原因となると考えるようになった。

BOX 1.1 Pasteur の墓を守った少年

Pasteur は 3 人の娘を亡くしており、自身も脳出血の後遺症によ

る体の麻痺を抱えていたが、ワクチン研究を続けていた。彼のワクチンでもっとも有名なのは狂犬病ワクチンである。彼は狂犬病に感染したウサギから脊髄を取り出し、これを乾燥して狂犬病ワクチンを作り、動物に投与することでその有効性を確認していた。

ある時、狂犬病の犬にかまれた9歳の少年が彼のところへ運ばれてきた。彼は少年の治療を躊躇した。彼は医師ではなく、治療の経験もなかったからである。一晩考えた末、やっとその少年に狂犬病ワクチンを投与することにした。死を宣告されていた少年は、Pasteurのワクチンにより一命を取りとめた。成長したその少年は、第二次世界大戦のときにドイツ兵により殺されてしまった。ドイツ兵は少年にPasteurの墓へ案内するように求めたが、それを拒否したためである。その少年は自分の命と引き替えにPasteurの墓を守ったのである。

1.4.4 Kochの貢献

Robert Koch (ロバート コッホ) は Pasteur と同時代のドイツ人科学者である。彼は 1872 年に医学部を卒業し、内科医として片田舎で働いていた。仕事のために顕微鏡と写真撮影装置を購入したことが契機となり、病原微生物の研究に没頭するようになった。炭疽病は主に家畜で伝染する感染性の高い病気であり、ときに人にも感染して死に至る病気として恐れられていた。彼はこの病気を引き起こすバクテリアを突き止めたのである。

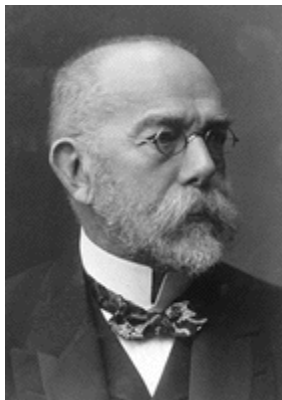


図 1-10 Robert Koch (ロバート コッホ)

この研究を通じて、①バクテリアには活発に分裂している細胞と細胞分裂を休止している細胞(孢子)があること、②試験管内で病原微生物の培養が可能であることを発見した。

しかし、特筆すべきはバクテリア学における研究技法を確立した点にある。彼は各種の微生物の性質を明らかにするためには、どうしてもそれを純粋に培養する必要があることに気が付き、1881年に共同研究者とともに固体培地を用いた平板培養による純粋培養法を考案した。純粋培養とはただ1種類の微生物だけを培養する方法である。

固体培地を調製するために最初はゼラチンが固化剤として用いられたが、ゼラチンは多くのバクテリアの生育適温である37℃では固化しないことやある種のバクテリアはゼラチンを溶解してしまうなどの問題があり、後に寒天を用いる方法に改良された。この寒天平板培養法は、1個の微生物が

分裂を繰り返し肉眼で見えるほどの体積まで増殖しても、その微生物の塊はもとの1個の微生物と同じ性質を持っているという性質を利用したものである。このようにただ1個の細胞から増殖して、目に見えるまでの大きさになった微生物の塊をコロニーとよんでいる。コロニーは微生物の種類や性質により異なった形状を示すので、異なる微生物を肉眼で区別することができる。

1.4.5 Kochの原則

Kochの功績は病原体を証明するための、Kochの原則として今なお受け継がれている。当時、微生物が相次いで発見され培養が可能になると、研究者たちは病原菌の発見を競ったが、たびたび混乱も起こった。そのためKochは病原体を決定するための証明法を1884年に提唱した。これがKochの原則とよばれるもので、次の①~④の条件をすべて満たしたときに、微生物と病気の因果関係が証明できるとした。

- ①その微生物は、その病気の患者に常に見いだされること
- ②その微生物は、その病気の患者から分離され、純粋培養されていること
- ③純粋培養したその微生物を健康な動物に接種すると、病気が再現すること
- ④その菌を接種することで実験的に病気を発症させた動物から、その微生物が再び分離できること

現在では、抗生物質の多用による日和見感染やエイズなど、かならずしもKochの原則に当てはまらない病気もあるが、いずれもKochの功績を減じるものではない。

1.4.6 Kochの現象

Kochは、アレルギー症の基礎となったKochの現象も発見している。彼は結核菌に感染している動物に、再び結核菌を感染させると、皮膚に暗赤色のしこりは出現するが、菌はそれ以上広がらず治癒してしまう現象である。後にこれは、生体防御反応とアレルギー反応とが同時に起こる免疫応答の一つであることがわかった。彼はこの現象を利用して1891年に結核診断のためのツベルクリンを考案した。

1.4.7 微生物研究法の発展

Leeuwenhoekによる顕微鏡、Pasteurによる殺菌法、およびKochによる純粋培養法の発明により、微生物の分離、培養、観察が可能となった。その後も、微生物学は劇的な進歩を遂げた。基礎生物学分野にとどまらず、医学や産業などの応用分野においても、微生物学は多大な貢献をしている。

1897年Buchner兄弟酵母の抽出液(彼らはこれをZymase(チマーゼ)と呼んだ)によるアルコール発酵の実験から、微生物の存在しない発酵現象を報告した。これはPasteurらの「微生物が生きているときだけさまざまな生命現象を引き起こす」とした「生物学派」に対して、「化学学

派」とよばれ両者の間で数々の論争が繰り広げられた。Buchner 兄弟の研究は現在の酵素化学の基礎となるものであった。



図 1-10 Buchner (弟)

- 1928 年 Griffith と Avery 肺炎双球菌の形質転換の発見
- 1929 年 A. Fleming 抗生物質ペニシリンの発見
- 1933 年 Embden, Meyerhoff, Parnas 解糖系中間体の発見
- 1937 年 Krebs クレブス回路の発見
- 1946 年 Beadle と Tatum アカパンカビによる一遺伝子一酵素説の提唱
- 1953 年 Watson と Crick DNA 二重らせん構造の提唱
- 1961 年 F. Jacob と J. Monod オペロンモデルの提唱
- 1963 年 M. Nirenberg 遺伝子暗号の解析 (3 塩基で 1 つのアミノ酸を規定)
- 1970 年 O. H. Smith 制限酵素の発見
- 1985 年 K. B. Mullis PCR (Polymerase Chain Reaction) の発明

1.4.8 微生物研究法の発展

- ジェンナー：天然痘ウイルス
- パスツール：病原微生物の発見
- コッホ：炭疽菌，コレラ菌の培養，結核菌の分離
- 北里柴三郎：破傷風菌の培養，ペスト菌の発見
- 野口英世：梅毒トレポネーマの発見

章末問題問題

1. 細胞中に存在する巨大分子を 4 つあげなさい。
2. 地球上の微生物を絶滅させたらどうなるか述べなさい。
3. 黒死病の原因は何か。次の中から選びなさい。
(a) 天然痘ウイルス (b) 異常な免疫反応 (c) 大気汚染 (d) 宗教的理由による共食い (e) ペスト

4. 古代イスラエルではペストの発生頻度は低かった理由を次から選びなさい。
(a) 有効な抗生物質を使用した
(b) 静菌作用の強い治療薬を服用した
(c) 清潔な生活を送っていた
(d) ペスト感染者に Koch の原則を適用した
5. 微生物学が発達したきっかけは何か。
(a) 自然発生説 (b) 殺菌剤の発見 (c) ワクチン療法
(d) 病気の孢子説の確立 (e) 顕微鏡の発明
6. 高性能な顕微鏡で，はじめて微生物の形態を詳細に研究したのは誰か。
(a) Hooke (b) Leeuwenhoek (c) Semmelweis
(d) Koch (e) Pasteur
7. ウジを使った実験で，自然発生説を否定したのは誰か。
(a) Lister (b) Pasteur (c) Koch (d) Redi
(e) Linnaeus
8. Pasteur がつる首フラスコを使った理由は何か。
(a) フラスコの中で微生物を増殖させるため
(b) 肉片からウジが自然発生するときのハエの役割を研究するため
(c) 培地を殺菌するため
(d) フラスコ内へ空気が入ってくるのを防ぐため
(e) 微生物が培地中に入らないようにするため
9. 正しく組み合わせなさい。
(a) モネラ界 (i) 光合成
(b) 原生動物界 (ii) カビ，酵母
(c) 菌界 (iii) 放線菌，シアノバクテリア
(d) 植物界 (iv) 摂取
(e) 動物界 (v) 微細藻類
10. 五界説の各界とその英語訳を組み合わせなさい。
(a) モネラ界 (i) Kingdom Protista
(b) 原生動物界 (ii) Kingdom Plantae
(c) 菌界 (iii) Kingdom Fungi
(d) 植物界 (iv) Kingdom Animalia
(e) 動物界 (v) Kingdom Monera
11. 病気の頻度や分布を研究している研究者をなんと呼ぶか。また，その英語訳はどれか。
(a) 免疫学者 (i) Mycologist
(b) 生態学者 (ii) Immunologist
(c) 病因学者 (iii) Etiologist
(d) 疫学者 (iv) Epidemiologist
(e) 菌学者 (v) Ecologist
12. 正しく組み合わせなさい。
(a) 多細胞，核あり，菌糸あり (i) algae
(b) 非細胞性，増殖に宿主必要 (ii) bacteria
(c) 光合成能あり，大きな細胞，非病原性 (iii) fungi
(d) 寄生虫 (iv) protozoa
(e) 大きな細胞，単細胞性，核あり (v) virus
(f) 単細胞，核なし (vi) helminthes

第2章 バクテリアの分類

2.1 分類学

分類学 (taxonomy) とは、共通の性状に基づいて生物を階層的にグループ分けすることにより、生物の種を系統的に認識することである。具体的には、①形質の明記、②形質に基づく分類群の決定、③他種との類縁関係にも位置づけ、④学名の決定、という流れになる。

分類は個々の生物を同定 (identification) するために用いられ、それらを表記するために学名が付与される。学名を付与することを命名 (nomenclature) するという。また共通する表現形質の研究や、異なるバクテリアであっても進化の過程が共通であるものどうしの関係を研究するためにも用いられている。

2.1.1 分類階級

生物は、その形態、性状、生化学的性状あるいは分子生物学的性状に基づいて階層的に分類される。最も重要な分類階級は種 (species) であり、これが分類の単位である。同じ種は属 (genus) としてまとめられ、さらに属は科 (family) へとまとめられる。分野により分類階級に多少の差異はある。ヒト、イヌ、オオカミの例を図 2-1 に示した。

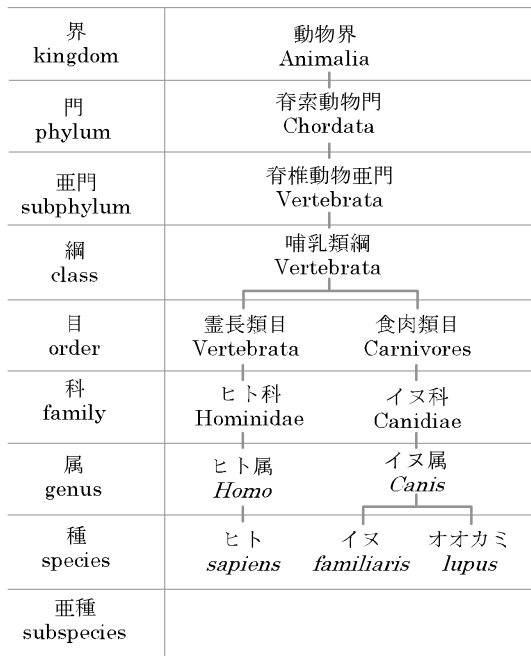


図 2-1 ヒト、イヌ、オオカミの分類階級

この例では、分類階級は上位から界 (kingdom)、門 (division または phylum)、亜門 (subdivision または subphylum)、綱 (class)、目 (order)、科 (family)、属 (genus)、種 (species)、亜種 (subspecies) となっている。このうち

「門」に相当する英語の division は植物の分類に使い、phylum は動物の分類に使用する。

ヒト、イヌ、オオカミとも哺乳類なので、界、門、亜門、綱は共通である。ヒトとイヌまたはオオカミとの違いは、ヒトは霊長類目であり、イヌとオオカミは食肉類目であることなので、両者は目の階級で初めて区別される。ヒトは霊長類目ヒト科ヒト属に属し、その学名は *Homo sapiens* である。イヌとオオカミは分類的にきわめて近縁の生物であり、どちらもイヌ属に分類されている。イヌとオオカミの違いは種の違いであり、イヌの学名は *Canis familiaris*、オオカミの学名は *Canis lupus* である。セントバーナードやチワワというのは系統 (strain) であり、これは種の下に位置する。兄妹交配 (sib mating) など同じ親からでたもの同士の交配を繰り返すことで、他とは顕著に異なる集団が形成されたとき、この集団を系統とよぶ。

微生物も同様に分類階級に基づき分類される。*Treponema pallidum* の分類階級の例を表 2-1 に示した。

表 2-1 バクテリアにおける分類階級の例

分類階級	菌種名 (例)	和名 (例)
界 (kingdom)	Monera	モネラ
門 (division)	Gracilicutes	グラム陰性バクテ
亜門 (subdivision)		
綱 (class)	Scotobacteria	
目 (order)	Spirochaetales	スピロヘータ目
科 (family)	Spirochaetaceae	スピロヘータ科
属 (genus)	<i>Treponema</i>	トレポネーマ
種 (species)	<i>pallidum</i>	パリダム

2.1.2 二名法

同類の種は属にまとめられ、個々の属は異なった性状に基づき分類されている。二名法 (binominal) とはリンネウス (Linnaeus, 1707~1778) が提唱した命名法で、あらゆる生物をラテン語で属名と種名の2語の組み合わせで表現する方法である。種名はその生物の性質を表す形容詞 (specific epithet) である。例えば大腸菌 *Escherichia coli* の属名は、この菌を分離した Escherich にちなんで命名されており、種名の「coli」はこのバクテリアの分離源である結腸 (colon) に由来している。

属名は最初の文字を大文字で書き出す。ラテン語でつづるためイタリック体 (斜字体)、または下線をつけなくてはならない。パン酵母は *Saccharomyces cerevisiae*、または *Saccharomyces cerevisiae* と表記する。また論文などで最

初に登場したときには省略せず書き、その後は属名を1文字ないしは数文字で略記する(例: *S. cerevisiae*)。



図 2-2 Carolus Linnaeus (1707-1778)

表 2-2 微生物の学名の由来 (例)

<i>Entamoeba histolytica</i>	Ent 「腸管」, amoeba 「形, 運動」, hist 「組織」, lytic 「細胞を溶解する」
<i>Haemophilus ducreyi</i>	Hemo 「血液」, phil 「好む」, ducreyi : 発見者の Augusto Ducrey にちなむ
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Saccharo 「糖」, myco 「カビ」, cerevisiae 「ビール」
<i>Staphylococcus aureus</i>	Staphylo 「かたまり」, coccus 「イチゴ」, aureus 「黄金の」
<i>Lactococcus lactis</i>	Lacto 「牛乳」, coccus 「イチゴ」
<i>Shigella etousae</i>	Shigella 「発見者の志賀潔にちなむ」, etousae : <u>E</u> uropean <u>T</u> heater of <u>O</u> peration of the <u>U</u> . <u>S</u> . <u>A</u> rm ^y , 最後の e はラテン語によく見られる綴りにあわせるために追加された

2.1.3 分類方法

生物を分類するためには生物のいろいろな性状を調べ、それぞれの性状について既知の微生物の性状と一致しているか否かを判定しなくてはならない。通常は、生物の特徴を表す記述が対になっており、二者択一を進めていくうちに分類ができるようになっていく。分類の対象の微生物に当てはまる方の記述を選択すると、次の選択に進むようになっていく。このような二者択一を繰り返す、最後にたどり着いたところが、その微生物の名前である。具体例を図 2-3 に示した。より詳細な分類の指標には、色素に対する染色性、代謝反応(特定の糖の資化性やガス発生)、生育温度、コロニーの性状などがある。詳細は次の「2.2 同定に用いる性状」を参照のこと。

1a グラム陽性である →2

1b グラム陽性ではない	→3
2a 細胞は球形である	→グラム陽性球菌
2b 細胞は球形ではない	→4
3a グラム陰性である	→5
3b グラム陰性ではない	→マイコプラズマ
4a 細胞は棒状である	→グラム陽性桿菌
4b 細胞は棒状ではない	→6
5a 細胞は球形である	→グラム陰性球菌
5b 細胞は球形ではない	→7
6a 細胞はこん棒形である	→コリネバクテリア
6b 細胞はいろいろな形をしている	→プロピオン酸菌
7a 細胞は棒状である	→グラム陰性桿菌
7b 細胞は棒状ではない	→8
8a 細胞はらせん形である	→スピロヘータ
8b 細胞はコマ形である	→ビブロイド

図 2-3 バクテリアの分類の例

2.2 同定に用いる性状

肉眼で観察できる大きさの生物を分類する場合には、まず目で見ることでできる構造的な特徴(これを形態という)に基づき同定を行うのが普通である。しかし微生物の場合、顕微鏡でしか観察することができないので形態だけを分類の基準とするのは困難である。とくにバクテリアの場合、形態が類似していても全く異なる分類であることがあるので、形態以外の分類基準も数多く用いられている。以下にバクテリアの分類に用いられる性状を列記した。

- (1) 形態学的特徴: 細胞の大きさと形、細胞の配列(双球、ブドウの房状、塊状、菌糸状など)、および鞭毛、線毛、内生孢子、莢膜の有無。主に属の決定に用いられるが、ときに種の決定にも使われることがある。
- (2) 染色性: グラム染色(陽性、陰性)、抗酸性染色。真性バクテリアを目に分類するときに使われることが多い。
- (3) 増殖性: 液体培養や固体培養での増殖の特徴、コロニーの形状、色調および表面性状、色素生産能。属と種の分類に使われる。
- (4) 栄養: 独立栄養、従属栄養、発酵生成物、エネルギー源、炭素源(単糖類、二糖類、多糖類、多価アルコールなど糖質の分解性)、窒素源、栄養要求性属、種およびこれらより上位の分類に用いられる。
- (5) 生理学的特徴: 生育温度(最適温度と生育温度範囲)、pH(最適 pH と生育 pH 範囲)、酸素要求性(好気性、通性嫌気性、嫌気性)、塩類要求性、浸透圧抵抗性、抗生物質に対する感受性と耐性。属、種およびこれらより上位の分類に用いられる。
- (6) 生化学的特徴: 細胞壁(メナキノン組成、イソプレノイド組成など)、RNA、リボソーム、封入体、色素、抗原などの細胞を構成している物質の性質。属、種およびこれらより上位の分類に用いられる。
- (7) 遺伝学的特徴: DNA 塩基の G+C 含量、DNA 相同性。同一属内、または同一科内での近縁関係の決定に使用。
- (8) 血清学的特徴: 凝集反応、蛍光抗体法。系統および種の識別に用いられる。
- (9) フェージ感受性(phage typing): バクテリオファージに対する感受性。系統の同定と識別に用いられる。
- (10) タンパク質プロファイル(protein profile): タンパク質の二次元電気泳動でのパターン。系統の識別に用いられる。

れる。

このうち(6)の生化学的特徴については、次のような生化学的分析が行われている。

- ① 糖の資化性：微生物をある特定の糖を含有する培地で培養したときの増殖を調べ、さらに発酵生産物やガス発生の状態を記録する。嫌気発酵の場合には、高層培地で穿孔培養を行う。
- ② ゼラチン液化性：ゼラチンを含有する培地に微生物を接種したとき、固化していたゼラチンが室温で溶解するかどうかを調べる。これによりタンパク質分解酵素の産生能を知ることができる。
- ③ デンプン加水分解性：デンプン含有培地で培養後、ヨウ素染色により、デンプン分解酵素の有無を調べる。デンプンが分解されていれば、ヨウ素の紫色が褪色する。
- ④ リトマスミルク：10%スキムミルク水溶液にリトマス指示薬を添加して調製し、微生物を培養したときのpH変動を知ることができる。ラクトースが資化されれば、培養液は酸性となり赤色を呈し、カゼインタンパク質が資化されれば、塩基性となり青色になる。また、カゼインタンパク質の変性やガス発生も観察できる。
- ⑤ カタラーゼ：斜面培地上で増殖している微生物塊に過酸化水素 (H_2O_2) を滴下して、酸素ガスの発生を観察する。酸素ガスが泡状に発生すれば、その微生物はカタラーゼを持っていることになる。カタラーゼは過酸化水素を水 (H_2O) と酸素 (O_2) に分解する酵素である。
- ⑥ オキシダーゼ：寒天平板培地上に増殖している微生物コロニーにオキシダーゼ指示薬を滴下して、オキシダーゼ活性を判定する。指示薬の色が青、紫、あるいは黒色なればオキシダーゼ活性があることを示す。
- ⑦ クエン酸資化性：唯一の炭素源としてクエン酸を培地に加え、この培地に微生物を接種してその増殖を調べる。クエン酸が代謝されると色調が変化する指示薬を加えておく。クエン酸資化性があることは、細胞外のクエン酸を細胞内に取り込むための膜透過酵素が存在することを示している。
- ⑧ 硫化水素：鉄-ペプトン培地で微生物を培養し培地が黒色に変色すれば、硫化水素を発生していることを示している。発生した硫化水素は鉄と反応して黒色の硫化鉄になるためである。
- ⑨ インドール生産能：トリプトファンを含む培地で微生物の培養を行い、インドールの生成を調べる。インドールはトリプトファンの分解生成物であり、トリプトファンからインドールへの分解を触媒する酵素の確認に使用できる。
- ⑩ 硝酸塩還元能：硝酸塩 (NO_3^-) を含む培地で微生物の培養を行い、亜硝酸 (NO_2^-) の生成を調べる。硝酸還元酵素の有無を調べる。
- ⑪ メチルレッド：メチルレッドを含むMR-VP培地で微生物の培養を行う。酸性物質が生じると、メチルレッドが赤色を呈するので、微生物の酸性物質産生能を知ることができる。
- ⑫ Voges-Proskauer 培地： α -ナフトールとクレアチン-KOH を含むMR-VP培地で微生物の培養を行う。チトクロムオキシダーゼが存在していれば、培地は淡紅色に変色する。
- ⑬ フェニルアラニンデアミナーゼ：フェニルアラニンと第二鉄イオンを含む培地で微生物の培養を行う。フェニルピルビン酸が生成すると第二鉄イオンと反応して培地の色が変化するので、フェニ

ルアラニンデアミナーゼの存在が検出できる。

- ⑭ ウレアーゼ：尿素とアルカリ性検出するpH指示薬を含む培地で微生物の培養を行う。ウレアーゼを生産する微生物は、尿素を分解してアンモニアを発生させるので、pH指示薬でこれを検出する。
- ⑮ 特定の栄養素：アミノ酸のシステインやビタミンのナイアシンを含む培地で微生物の培養を行う。特定の栄養素が欠乏した培地で増殖しない微生物は栄養要求性を持っていることがわかる。

すべての試験が用いられることはなく、できるだけ少ない試験でバクテリアを同定することが求められている。感染症の原因菌を同定する場合には、特に緊急を要するため、なおさらである。しかし、文献に記載されていない微生物の同定を行う場合には、様々な試験法が組み合わせられる。

2.3 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology による分類

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology はバクテリア分類の権威ある文献である。すべての原核生物の最新で完全なリストと分類標徴が収載されており、バクテリア分類はこれをもとに行われている。Bergey's Manual of Systematic Bacteriology によれば、バクテリアはすべて原核生物界 (kingdom Prokaryotae) に属し、その下の4つの門 (division) をおいている。この4つの門とは Division I. Gracilicutes (gracilis = thinner, cutis = skin, グラム陰性バクテリア), Division II. Firmicutes (Firms = strong, グラム陽性バクテリア), Division III. Tenericutes (細胞壁欠損菌), Division IV. Mendosicutes (古バクテリア) である。さらにその下の階級として真正バクテリアの6つの綱と古バクテリア1つの綱が設けられている。Woese の分類と比較すると、Division I~IIIはバクテリアドメインに相当し、Division IVはアーケアドメインに相当する。

Division I. Gracilicutes

(グラシリクテス、グラム陰性バクテリア群)

グラム染色は、古くからの分類基準としてバクテリアの分類に用いられてきたが、現在では、グラム陰性バクテリアの意味は異なってきた。すなわち、典型的なグラム陽性バクテリアが含まれる系統 (アクチノバクテリア綱、フィルミクテス綱、デノコッカス-サーマス綱) 以外の系統群に含まれるバクテリアのことを示している。グラシリクテスはバクテリアのうちの大部分の系統を占めている。

I-1. 酸素発生型光合成菌群

光をエネルギー源として増殖するバクテリア。植物、藻類のクロロフィルと類似の光合成色素を介して光合成を行い、炭酸同化を行うとともに酸素を放出する。



I-1-1. 藍バクテリア (シアノバクテリア)

藍藻または原核微細藻類ともよばれる。約160属、1500種以上の

菌種が知られている。菌体内のクロロフィル a とフィコビルリンにより光エネルギーを獲得して光合成反応を行う。海洋、淡水、土壌など水圏や湿潤な環境に生息し富栄養化した湖沼、水溜りに群生している。さらに窒素欠乏の土壌、70 °C 程度のアルカリ性温泉など極限環境下でも生育できるが、酸性には弱く中性以下では生育できない。簡単な栄養要求性の菌で、CO₂ を炭素源、N₂ を窒素源とした無機培地で光を照射すると生育する。大きさは 1 μm 以下のものから 100 μm 程度のものまであり、二分列または多分裂で増殖するが、多様な繊維状の菌形をしている。

①スピリリナ・マジョール (*Spirulina major*) : 分岐のないコイル様の糸状菌形で二分列増殖を行う。滑走運動を行う 1~5 μm で青緑色や紅色の菌群体を呈している。水圏に多く生息しており塩水湖や 50 °C 以上の温泉でも生存している。

②オシラトリア・プリンセプス (*Oscillatoria princeps*) : 分岐のないコイル様の糸状菌形で二分列増殖を行う。菌体は 1~100 μm で明青色から暗紅色まで多彩な色調を呈している。水圏に多く生息しており塩水湖や 56~60 °C の温泉でも生存している。

③アナバエナ・オシラリオイデス (*Anabaena oscillarioides*) : ひも状の菌形で、ヘテロシストと呼ばれる分化した細胞で窒素を固定する。またガス胞が多くの菌種で観察され、淡水中のプランクトンとともに生育している。菌体は 1 μm 以上で群体は形成しない。他に *Aphanizomenon*, *Calothrix* など分岐している菌形の菌種や、水たまりや汚水中にしばしば発生する *Microcystis flosaquae* や *Anabaena flosaquae* などがあふ。これらの中には人や動物に対して神経毒や肝臓障害を引き起こすようなポリペプチド性化合物を生産する菌種も報告されている。分類は群体や胞子様細胞の形成性を標徴として取り上げられている。

I-1-2. プロクロロン

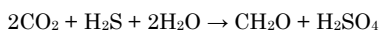
①プロクロロン・ジデムニ (*Prochloron didemni*) : 藍バクテリアとは異なり、菌体内のクロロフィル b のみで光を吸収し光合成反応を行う。フィコビルリンは保持していない。

I-2. 酸素非発生型光合成バクテリア群

水中の嫌気的環境に生息し酸素を発生しない光合成によって嫌気増殖を行う。菌体内にバクテリオクロロフィルとカロテノイド色素があり光エネルギーを獲得する。嫌気的条件下で硫化水素やチオ硫酸などの硫黄化合物、分子状水素または有機化合物を利用して光合成により炭酸同化を行う。0.3~6.0 μm の多様な菌形で多くの菌種は 2 分裂増殖を行うが芽増殖を行う菌種もまれにある。

I-2-1. 紅色硫黄バクテリア

①クロマチウム・オケネイ (*Chromatium okenii*) : 鞭毛をもつ円筒状の菌である。細胞内には光屈折性の小球として原子状の硫黄粒子や、バクテリオクロロフィルのほかカロテノイド類も有しているため赤色、紫色、褐色などにみえる。偏性嫌気性菌で硫化物を電子供与体、CO₂ を炭素源として光合成独立栄養によって増殖する。増殖過程で硫化物を SO₄²⁻にまで酸化するが中間産物の硫黄粒子が菌体内に沈着する。光代謝の特徴はカルビン回路とよばれる光合成経路で CO₂ を同化し ATP を環状光リン酸化反応によって供給する。なおこのときの還元力は逆行電子伝達による。



②チオシスチス・ゲラチノサ (*Thiocystis gelatinosa*) : 菌体に硫黄粒が点在している 3 μm 程度の赤色の球状菌。菌体内にカロテノイドやバクテリオクロロフィル a が存在する。

I-2-2. 紅色非硫黄バクテリア類

①ロドスピリルム・ルブルム (*Rhodospirillum rubrum*) : 淡赤色の

極鞭毛ビブリオ型またはらせん型の菌形をもち、光嫌気条件下で有機化合物を炭素源や電子供与体とする光合成従属栄養によって増殖する。暗条件では好気的にも増殖可能で硫酸塩を唯一の硫黄源とし、またピオチンを発育因子とする。

②ロドシュードモナス・スフェアロイド (*Rhodopseudomonas sphaeroide*) : 球状または桿状の菌形で芽増殖する。

I-2-3. 綠色硫黄バクテリア類

紅色硫黄バクテリアと類似の性質を持っており、いずれも硫化物が豊富な嫌気的な水中に生息している。綠色硫黄バクテリアは紅色硫黄バクテリアよりも嫌気的な環境を好み、いずれも大気中の窒素を固定することができる。

①クロロビウム・リミコーラ (*Chlorobium limicola*) : わん曲またはらせん状菌であるが、運動性がなく連球菌に類似の配列をする。バクテリオクロロフィル c (まれに d) とカロテノイドを光合成色素として使用する。光偏性嫌気条件下で生育する。

I-2-4. 多細胞性糸状綠色硫黄バクテリア

①クロロフレクス・オウランテアカス (*Chloroflexus aurantiacus*) : 糸状で滑走運動をする好熱性、好アルカリ性菌である。クロロソーム存在下で嫌気的に発育する光合成従属栄養または化学従属栄養で増殖する。なお光がなくても生育し、またしばしば藍バクテリアと共存する。

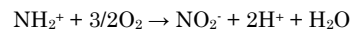
I-3. 化学独立栄養バクテリア群

水圏や土壌中に広く分布しており、増殖に必要なエネルギーを無機化合物の酸化によって得ている菌群である。暗所で無機培地上に増殖可能で、CO₂ を炭素源として無機化合物を基質とした呼吸によって ATP と還元力を獲得する。なお有機化合物を利用せず、さらに阻害的な影響がある菌種もある。

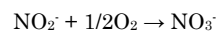
I-3-1. 硝化バクテリア類

亜硝酸を硝酸に酸化したり、またアンモニアを亜硝酸に酸化する菌群である。これらの無機物を酸化して得られるエネルギーによって CO₂ の同化を行い増殖する。これらの菌群は、中性またはアルカリ性で増殖し、硝酸菌と亜硝酸菌の共存でアンモニアは硝酸へと変換される。

①亜硝酸菌 (*Nitrosomonas europaea*) : 汚染されて黒濁したような河川や海洋などの公害地帯、汚水、産業廃棄物処理場などから分離される桿菌。アンモニアを酸化して亜硝酸にするアンモニア酸化菌である。

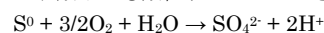


②硝酸菌 (*Nitrobacter winogradskyi*) : 水圏、汚水、土壌中に広く分布している。桿状または楕球状菌で亜硝酸塩に酸化する亜硝酸酸化菌である。



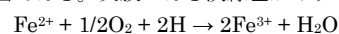
I-3-2. 硫黄酸化菌類

①チオバシラス・チオバルス (*Thiobacillus thioparus*) : 汚泥、土壌、排水溝などの淡水から分離される。鞭毛運動を行う桿菌でチオ硫酸を酸化して硫酸を生成する。硫黄単体、チオ硫酸、ポリチオ硫酸、亜硫酸なども酸化することができる。



I-3-3. 鉄(マンガン)酸化菌類

①シデロカプサ・トレウビ (*Siderocapsa treubii*) : 還元型の鉄の多い淡水中においてプランクトン状で生息し、鉄やマンガンを酸化する菌である。莢膜のある淡緑色かオリーブ色の球状菌である。



②ナウマニエラ・ニュストニカ (*Naumannella neustonica*) : 鉄や

マンガンの多い水中から分離されている。

I-3-4. 磁性バクテリア類

①アクアスピリルム・マグネトタクチウム (*Aquaspirillum magnetotacticum*) : 鉄分の多い河川や汚泥中から分離される。鞭毛のあるらせん状菌で、菌体内には磁性鉄化合物 (Fe_3O_4) を含有するマグネトソームが連鎖して存在している。微好気性菌なので地磁気などの磁性に向かって移動する走磁性をもつ。

②バイロホコッカス・マグネトタクチクス (*Bilophococcus magnetotacticus*) : 微好気的な淡水湖底から分離される直径 $1.5 \mu\text{m}$ 程度の球状菌。菌体内にマグネトソームが存在しており走磁性を示す。

I-3-5. 水素バクテリア類

①ヒドロバクター・テルモフィラス (*Hydrogenobacter thermophilus*) : 電子供与体に水素を使用する化学独立栄養バクテリアである。好気性で $70\sim 80^\circ\text{C}$ で発育する高温菌で、日本各地の温泉土壌から分離されている。

I-4. 滑走性バクテリア群

腐生菌群や糞生菌群が多く腐食性の土壌、動物舎、堆肥、汚水、排水など動物性有機分解物の多い自然環境系で自由生活的な増殖を行う滑走性のバクテリアである。ミクソスポアおよび子実体を形成する粘液バクテリア類と子実体を形成しない菌類とに分類される。

I-4-1. 粘液バクテリア類 (ミクソバクテリア)

①ミクソコッカス・フルブス (*Myxococcus fluvius*) : ミクソスポアおよび子実体を形成する多形菌で、菌体外に多糖性粘液を産生する滑走性バクテリア。有機物の豊富な土壌や堆肥に見出される。偏性好気性はセルロースやタンパク質等の高分子化合物を分解する酵素や、特有のカロテノイド配糖体を産生する。また他の微生物等、他種の生物を分解する。

②シストバクター・フスクス (*Cystobacter fuscus*) : 大腸菌の生育した培地や動物糞塊培地によく生育する微生物分解菌である。カロテノイド配糖体を産生するのでコロニーは黄色か橙色である。セルロース分解性はないが核酸やタンパク質、またデンプン、ゼラチン、Tween 80などを分解できる。そのほかの菌種に *Archngium*, *Chondromyces*, *Melittangium* などがある。

I-4-2. その他の滑走バクテリア類 (子実体非形成菌)

①サイトファガ・ハッチンソニイ (*Cytophage hutchinsonii*) : GC含量が低く ($31\sim 53\%$)、ミクソシストと呼ばれる特有のミクソシストを形成する滑走性バクテリア。土壌中でセルロースや CMC などの高分子を分解する。菌体は短桿菌から糸状菌までさまざま、黄色の桿状菌であり培養過程において菌形が変化し菌体鎖を形成する。水圏に生息する魚病原菌もある。寒天やデンプン、ペクチンなどを分解する菌もある。

②キチノファガ・ピネンシス (*Chitinophaga pinensis*) : キチンや尿素を分解する GC 含量が低く ($31\sim 53\%$)、ミクソシストを形成しない滑走菌。他に *Sporocytophaga* がある。

③リソバクター・エンチモゲネス (*Lysobacter enzymogenes*) : 土壌や汚水由来菌でキチンやゼラチンをはじめとする多くの高分子を分解する。GC 含量が高く ($65\sim 71\%$)、子実体やミクソシストを形成しない。その他 *Beggiatoa*, *Vitreocilla*, *Desulfonema* などがある。

I-5. スピロヘータ群

動物由来および水圏由来が多い菌群でらせん状の菌。ヒトおよび動物由来菌は屈曲性からボレリア、レプトスピラ、トレポネーマの3種に分類される。この菌種にはシロアリやゴキブリの後腸に共生的

に生息しているピロステチナがあり宿主栄養を支援している。

I-6. 好気性桿菌群

I-6-1. 発芽/有柄菌類

①ハイフォミクロビウム・ファシリス (*Hyphomicrobium facilis*) : 生態系に生息する自由生活性の好気性菌である。原則として発芽増殖を行う。形態的な特徴としてプロステカと呼ばれる柄のような突起物を保有している。この菌種には *Prosthecomicrobium*, *Rhodomicrobium*, *Ancalomicrobium*, *Stella*, *Caulobacter* などがある。なお栄養的な増殖態度はさまざま、ハイフォミクロビウムはメタン酸化菌、ロドミクロビウムは紅色非硫黄バクテリアとして有名。

I-6-2. 有鞘バクテリア類

①スフェロチルス・ナタンス (*Sphaerotilus natans*) : 水圏微生物で菌体の周囲に小管状の鞘で包まれた鎖状の菌である。糸状の菌体が房状になり基底吸着器官で基質に着生している。増殖は鞘の開口部から鞭毛菌体が遊離して増殖する

I-6-3. 窒素固定菌類

①アゾバクター・クロオコッカム (*Azotobacter chroococcum*) : 多形菌で非共生的に誘致窒素を固定する土壌バクテリア。その他では *Rhizobium reguminisarum* がエンドウマメの共生根粒菌として知られている。

I-6-4. 好気性桿菌類

①蛍光菌 (*Pseudomonas fluorescens*) : 好気性グラム陰性菌、多くは菌体に極鞭毛をもつ。淡水、海水、土壌などに多く分布しており、多くの食品を腐敗して特有の周期や色素を生成する。一般的に低温で生育し至適生育温度は $25\sim 30^\circ\text{C}$ であるが、 4°C 以下でも生育できる低温バクテリアで、さらにまた -5°C から -1°C で水を凍結させる氷核活性 (Ina+) をもつ氷核菌でもある。本菌以外にも氷核活性は *P. Syringes*, *Erwinia ananas*, *E. herbicola*, *Xanthomonas campestris* などにもあり加熱以外の手段で死滅させても氷核活性は残存している。

②緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) : ヒトの創傷箇所では膿して緑色のピオシアニン色素を産生する。日和見感染の原因菌として知られており、ときには病原性を示す院内感染菌として乳幼児や老人に重篤な病状を示すことで知られている。

③酢酸菌 (*Acetobacter aceti*) : エタノールを酸化して酢酸を産生する菌である。

④アルカリ大便菌 (*Alcaligenes faecalis*) : ヒトの糞便に出現する。運動性はあるが、色素は産生しない。牛乳をアルカリ性にして粘稠な液状に変敗させチーズ表面に増殖する。

I-7. 通性嫌気性菌群

①大腸菌 (*Escherichia coli*) : 通性嫌気性のグラム陰性桿菌で周鞭毛をもつ。動物やヒトの腸管に常在する。大腸菌は非病原性であるが、特定の菌株は病原性を示し食中毒の病原性大腸菌としてほかの大腸菌と区別される。これらの病原性と免疫学的性状のみが普通の大腸菌と異なる。食品が糞便で汚染されていることは食中毒や経口伝染病の原因となるので食品汚染を知るための糞便汚染指標菌として、ヒトの腸管に常在する大腸菌や腸球菌群の検出を行う。

指標菌としての大腸菌群 : 食品衛生上の大腸菌群はバクテリア学的大腸菌とは異なり、コリーエアロゲネス群とよばれる「乳糖発酵性でガス産生を行う通性嫌気性グラム陰性菌」を示している。この性状を保持する菌群には、カタラーゼ陽性で腸管に常在する大腸菌、クレブシエラ、シトロバクターなど以外に土壌、植物にも存在するエンテロバクター、エルビニアなども含まれる。

糞便由来の大腸菌と他の非糞便由来菌を区別するために、IMVIC 試験（イムビック試験）と呼ばれるインドール産生能（I）、メチルレッド反応（M）、Voges-Proskauer 反応（Vi）、クエン酸利用能（C）の試験を行う。また糞便由来の大腸菌 I 型（*E. coli* Type I）の培養温度が 44.5°C±0.5°C で至適条件であることを利用した冷凍食品やカキの食品衛生検査に用いられている EC 試験も行われる。

② 霊菌（*Serratina marcescens*）：好気性のグラム陰性桿菌で球菌に近い微小細菌である。土壌、水中に存在しており炭水化物の食品に付着すること多い。赤色色素のプロジグシオンを産生し、かまぼこ等の食品を赤変させる。タンパク質分解性が強く、食品に激しい腐敗臭を与える。

③ プロテウス菌（*Proteus vulgaris*）：グラム陰性桿菌でヒトの腸管、土壌、水中に存在し、主に動物性食品に付着し腐敗菌として作用する。ウレアーゼ活性が強くゼラチンを液化するとともにインドールを産生する。タンパク質分解性が強く増殖が速く、食品や魚介類を軟化する。

I-8. 偏性嫌気性菌

I-8-1. 桿菌類

バクテロイデスやセレノモナスなどヒトや動物の腸管内に生息する菌が多い。

I-8-2. 球菌類

ベイヨネラ菌群:0.3~0.5 μm の微小な偏性嫌気性菌でヒトや動物腸管や口腔に生息している。

① ベイヨネラ菌（*Veillonella parvula*）：乳酸を発酵してプロピオン酸や酢酸を生成する。果糖以外は糖類を発酵しない。乳酸からガスを発生する。

② アシダミノコッカス菌（*Aciaminococcus fermentans*）：多くの炭水化物を資化できない、さらに乳酸やピルビン酸などの有機酸も利用できない。ただしグルタミン酸などのアミノ酸を主なエネルギー源とする。アミノ酸培地では酪酸や酢酸を生成する。

③ メガスフェラ菌（*Megasphaera elsdenii*）：グルコースや乳酸からプロピオン酸、吉草酸、カブロン酸または分岐有機酸を生成する。

Division II. Firmicutes

(フィルミカス、グラム陽性菌群)

II-1. 球菌群

① 黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）：ヒトや動物の皮膚、鼻腔粘膜、腸管に常在している。正常人の約 50% は鼻前庭部にこの菌を持っている。しかし、これは皮膚感染、肺炎、または食中毒の起原因菌ともなる。その他には表皮ブドウ球菌（*S. epidermis*）や *S. intermedius* などがある。

② ルテウス菌（*Micrococcus luteus*）：汚水、土壌など自然界にも広く分布しているが、ヒトの皮膚にもよく付着している。20~30 °C の中温域で増殖するが 10 °C でも生育可能な菌で、また 5% 食塩でも増殖する好塩菌でもある。動物性食品に付着し、タンパク質分解性が強く、黄色、橙色の色素を産生して腐敗の原因となる。

③ ミクロコッカス・ロゼウス（*M. roseus*）：ベーコン、ハムなどの塩蔵肉製品に付着している。

④ ミクロコッカス・バリアンズ（*M. varians*）：牛乳やチーズなどからしばしば検出される。

⑤ レンサ球菌（*Streptococcus*）：グラム陽性の 1 μm 内外の連鎖状の球菌で、次のようなものがある。

(i) 溶血性レンサ球菌群；ヒトや動物に病原性を示す菌群で、化膿レンサ球菌（*S. pyrogenes*）、ウシ乳房炎菌（*S. agalactiae*）、ウマ腺疫菌（*S. equi*）など

(ii) a 溶血性レンサ球菌群：ヒトの口腔、呼吸器に常在する菌群。血液寒天培地上で緑色溶血帯（a 溶血帯）を作る菌群。肺炎レンサ球菌（溶連菌）（*S. pneumoniae*）など。(iii) 腸球菌群（*Enterococcus*）：ヒトや動物の腸内細菌である。栄養要求が厳密で低温に強いことなどから、大腸菌群とともに糞便汚染指標に用いられる。熱（60 °C、30 分）に抵抗性があり血清学的に D 群に属する。そのほかにフェッカーリスレンサ球菌（*Streptococcus faecalis*）、フェシウムレンサ球菌（*S. faecium*）、ボビス球菌（*S. bovis*）などがある。エ.乳酸球菌群（*Lactococcus*）：乳製品、牛乳など酪農製品にしばしば見出されチーズ、ヨーグルトなど食品工業に用いられている乳酸球菌（*Lactococcus lactis*）、クレモリス菌（*L. cremoris*）などがある。なお乳製品や発酵食品の製造に用いられる類似のグラム陽性菌にはリューコノストク、ペデオコッカス、エロモナスなどがある。

II-2. 桿菌群

① 枯草菌（*Bacillus subtilis*）：グラム染色およびカタラーゼ陽性の好気性有芽胞桿菌で、土壌、空中などの自然環境下に広く分布している。耐熱性芽胞を形成することから、缶・ビン詰食品や包装加熱食品の腐敗菌となる。納豆をつくる納豆菌（*B. natto*）は枯草菌の 1 菌株である。

② セレウス菌（*Bacillus cereus*）のある菌は食中毒菌として知られている。同菌属の炭疽病菌（*B. anthracis*）は病原菌として有名である。

③ 酪酸菌（*Clostridium butyricum*）：嫌気性有芽胞桿菌で糖から酪酸を産生する。土壌中やヒト、動物の腸管内に常在する。加工食品の内部や滅菌の不完全な缶詰などで増殖して腐敗を起こす原因菌となる。クロストリジウムにはスポロゲネス菌（*C. sporogenes*）などの腐敗菌、ボツリヌス菌（*C. botulinum*）、ウェルシュ菌（*C. perfringens*）などの食中毒菌が知られている。

④ コリネバクテリウム（*Corynebacterium*）：多形桿菌で、土壌、水中、ヒトや動物の腸管内などに広く分布している。食品の一次汚染菌として、しばしば出現するが、貯蔵中にほかの増殖力の強力な菌に置き換えられるため腐敗に関与することは少ないともいわれている。なお同属のジフテリア菌（*C. diphtheria*）が食品によって感染することもあり、予防にはホルマリン不活性化外毒素であるトキシノイドをワクチンとして接種する。

⑤ 乳酸菌（*Lactobacillus*）：

II-3. 放線菌類

菌類の中でも細胞壁はカビに近似となり、形態も枝分かれした菌糸ができる。抗生物質をはじめ生理活性物質を産生する菌種が多いので医薬品製造源として重要である。

① アクチノミセス・ピオゲネス（*Actinomyces pyogenes*）：動物皮膚の化膿部から分離される。タンパク質分解性が強い。

② ノカルジア・ファルシニカ（*Nocardia farcinica*）：ヒト菌腫の原因菌。中南米に多い。

③ ストレプトミセス・グリセウス（*Streptomyces griseus*）：ストレプトマイシン生産菌。

Division III. Tenericutes

(テネリクテス、細胞壁欠損菌、マイコプラズマ群)

①マイコプラズマ・ニューモニア (*Mycoplasma pneumoniae*) : ヒトのマイコプラズマ肺炎原因菌。抗生物質が有効である。細胞壁がなくペプチドグリカンの先駆物質を合成している微生物である。細胞は多形態性で目玉焼き状のコロニーを形成する。L型菌に似ているが不可逆的で、コレステロールと長鎖脂肪酸の両方が増殖に必要で、これらは細胞膜構成成分である。rRNA のグアニンとシトシンは 43~48% (グラシリスまたはフィルミカスは 50~54%以下) で、DNA に含まれるグアニンとシトシンも 23~46%である。ゲノムサイズは $0.5\sim 1.0\times 10^9$ ダルトンで他種のゲノムサイズよりも小さい。

Division IV. Mendosicutes

(メンドシクテス, 古バクテリア群)

アセチルムラミン酸を含まない細胞壁でいくつかの形状を持ち、ペプチドグリカン層を持っていない。高分子量タンパク質と複合多糖からなる細胞壁がある。多くは偏性嫌気性であるが好気性菌も存在する。高温の温泉地帯やアルカリ湖、塩湖などの極限環境に生息しており、耐浸透圧微生物や耐圧微生物が多い。古バクテリアは 16S リボソーム RNA (16S rRNA) の塩基配列の比較により明らかにされた。一部のバクテリアは系統発生的に他のバクテリアとかなり異なっていることが明らかになり、他のバクテリアよりも早くから存在したバクテリアの子孫であると考えられたため古細菌 (archaeobacteria) と命名された。これに対して一般のバクテリアを真正バクテリアとよぶ。

真核細胞生物の遺伝子には mRNA を介してタンパク質に発現されないイントロンとよばれる DNA 配列があるが、真正バクテリアにはイントロンは存在しない。しかし古バクテリアはイントロンをもっており、真正バクテリアと真核生物の中間に位置する生物であると考えられるようになってきている。

IV-1. メタン生成古バクテリア群

湖沼の水底や海底の堆積、廃水処理汚泥など嫌気的条件下で有機物が存在するところから分離される。メタン生成菌は有機物を利用して生育する能力を保持しておらず H_2 と CO_2 、ギ酸、酢酸を基質としてメタンを生成する。これらのメタン生成系は 4つのパターンがある。

- (i) $4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$ (最も一般的)
- (ii) $4HCOOH \rightarrow CH_4 + 3CO_2 + 2H_2O$
- (iii) $4CH_3COOH \rightarrow 4CH_4 + CO_2$
- (iv) $4CH_3OH \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 2H_2O$

このようなメタン生成系は有機酸、アルデヒド、エタノールなどが補酵素と結合して反応が進行するがメタン生成菌にのみ存在する補酵素 M および補酵素 F₄₂₀がある。F₄₂₀は紫外線を照射すると青緑色 (420 nm) の蛍光を示し、N-(N-L-ラクチル-γ-L-グルタミン)-L-グルタミン酸側鎖をもつフラビンモノヌクレオチド類縁体である。

①メタノバクテリウム (*Methanobacterium bryantii*) : グラム陽性桿菌、シュードムレインを含有、非運動性。細長く、直線、不定のカギ状、長い桿菌でしばしば細糸状になっている。中温菌でギ酸からメタンを生成しない。なお、その他の菌種にはギ酸からメタンを生成する *Methanobacterium formicicum* がある。

②メタノハロヒラス (*Methanohalophilus zhilimae*) : トリメチルアミンとメタノールを生育基質として 2M 程度の食塩で増殖可能である。

③メタノピルス (*Methanopyrus*) : 85~110 °C で水素と唯一の炭素源である炭酸ガス存在下で生育する。その他 *Methanobrevibacter*, *Methanothermus*, *Methanogenium*, *Methanosarcina*, *Methanolobus* などがある。

IV-2. 硫酸還元性古バクテリア

海底の地熱発現地帯から分離される。

①アーケオグロブス・フルギダス (*Archaeoglobus fulgidus*) : 硫酸塩を還元して硫化水素を発生する。

IV-3. 好塩性古バクテリア群

高度好塩菌で増殖至適濃度は 3~4 M (食塩濃度相当) で、最低要求塩濃度は約 2 M (食塩濃度相当) である。カロテノイド類を細胞質膜に含有するためコロニーは赤色を呈する。

①ハロバクテリウム (*Halobacterium salinarum*) : 好気性のグラム陰性桿菌で極鞭毛を持つ。海水、塩湖に分布し、3.0~5.2 モル食塩含有培地で生育し、また 20~55 °C で培養可能な耐浸透圧菌である。

②ハロコッカス (*Halococcus morrhuae*) : 2.5~4.5 モル程度の食塩でも生育する。

③ナトロコッカス (*Natronococcus occultus*) : アルカリ湖底から分離される好アルカリ性菌で、NaCl 以外にも KCl, LiCl, CsCl などの塩類溶液の高濃度環境下にも増殖可能な古バクテリアの存在も予想されている。

IV-4. 無細胞壁古バクテリア群

細胞壁の存在しない古バクテリアで、細胞膜で外界と接触している。

①サーモプラズマ (*Thermoplasma acidophilum*) : 自然発火した炭坑ばた山から分離された。pH 1~2, 55~59 °C が至適温度。明確な細胞壁を持っていない。

②サーモプロテウス (*Thermoproteus*) : 偏性嫌気性桿菌で、針状の細長い形をしている。

IV-5. 硫黄代謝高度高熱古バクテリア

硫黄を酸化または還元する菌で、至適発育温度は 70~105 °C である。

①テルモコッカス・セラー (*Thermococcus celer*) : イタリア近海の火山地帯海底硫黄熱水穴から分離された。88 °C 以上で生育可能である。

②テルモプロテウス・テクナス (*Thermoproteus tenax*) : 世界各地の pH 1.7~6.5, 100 °C の酸性温泉から分離された pH 5, 90~96 °C で生育する桿状菌である。

③スルホロブス・アシドカルダリウス (*Sulfolobus asido-caldarius*) : 各地の温泉地帯 (pH 5, 60~90 °C) から分離される。培地には寒天の代わりにシュードモナスの産生する多糖体ゲリテが使用される。

Division V. 偏性細胞内寄生菌群

V-1. リケッチア類

①リケッチア・プロワゼキイ (*Rickettsia prowazekii*) : 発疹チフス原因菌。ヒトコロモジラミ間の伝播サイクルをもつ。極めて微小、 $0.5 \times 1.5 \mu m$ の偏性寄生性の多形バクテリア。精製リケッチアは RNA と DNA を 3.5 : 1 の割合で含有。

V-2. クラミジア類

①クラミジア・シッタキ (*Chlamidia psittaci*) : ヒトと鳥類に共通感染症であるオウム病病原体。ウイルスとの中間菌といわれたこともある。増殖サイクルは二つの形態をとる。一つは径 200 nm の球

形の DNA とリボソームが局在する基本小体で、細胞外で感染の機会を待つ。また他は宿主内で二分裂増殖する網様体である。

2.4 分子生物学的な分類

DNA 含量や塩基配列は進化における菌株間の類縁度を調べるための正確な指標であり、従来は GC 含量 (GC content) や DNA 相同性 (DNA homology) の比較が行われていた。近年では 16s リボソーム RNA や、チトクロム c, ATPase, ポリペプチド伸張因子などの保存性の高い分子の DNA 塩基配列が用いられ、系統解析 (phylogenetic analysis) とよばれている。

また、生物を構成しているタンパク質は DNA により規定されているので、タンパク質組成やタンパク質のアミノ酸配列を調べることで、DNA の相同性も知ることができる。タンパク質の一次配列による分類の例はヴォート基礎生化学 p.74~79 を参照のこと。チトクロム c のアミノ酸配列による進化系統樹について述べられている。

2.4.1 菌種間または菌株間の DNA ハイブリダイゼーション

DNA の完全な配列を決定できれば、遺伝子の相同性を検証する必要はない。しかし、DNA の完全な配列決定は時間を要するため、微生物の同定や分類を迅速に行う必要がある場合には不便である。このため、菌種間または菌株間の DNA 相同性の試験は現在でもよく行われている。DNA 間の類似性は DNA の塩基組成、DNA または RNA の配列、および DNA のハイブリダイゼーションにより調べることができる。

具体的には 2 つの異なる菌株の DNA を熱変性させて一本鎖とする。両者を混合し T_m よりも低い温度に保つと、相同性の高い部分が再会合 (annealing) して DNA の雑種が形成される。DNA 同士の相同性は DNA の塩基配列の類似性を反映しており、菌株間の相同性は 70% 以上であり、 ΔT_m は 5°C 以下である。

相同性の測定は、GC 含量が類似している菌株の間で行われる。一方の DNA を標識して溶液中で反応させた後、ヌクレアーゼ S1 で一本鎖 DNA のみを切断し除去するか、ヒドロキシアパタイトカラムに二本鎖 DNA を吸着させることで、一本鎖 DNA と二本鎖 DNA を分離する。また非標識 DNA をメンブランフィルターに固定し、標識 DNA と反応させる方法もある。

2.4.2 DNA の相対的塩基組成

DNA 塩基の相対的な組成により、微生物を分類することができる。DNA には A (アデニン)、T (チミン)、G (グアニン)、C (シトシン) の 4 種類の塩基が含まれている。塩基対形成は A と T または G と C の間でしか起こらない。G と C の含量を測定し、全 DNA 量に対する G+C の比率を求めれば、この G+C の含有量 (%) を 100 から引くことで A+T の含有量も求めることができる。たとえば G+C が 60% であれば、A+T は 40% になる。このように生物の DNA の塩基組成は G+C だけで表すことができ、これを GC 含量

(GC content) とよぶ。DNA の塩基組成は各塩基の相対的な含量しか表しておらず、塩基配列に関する情報は無いことに注意する必要がある。

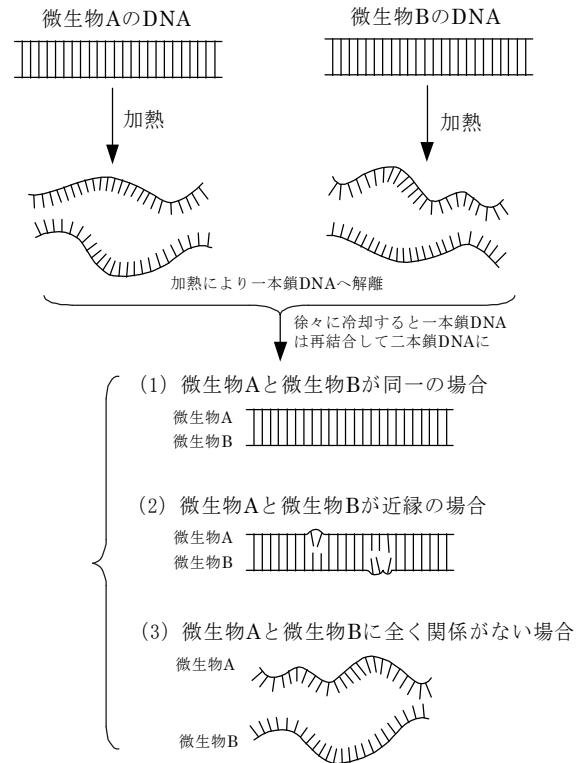


図 2-3 DNA ハイブリダイゼーション

2 種類の生物から取り出した 2 本鎖 DNA をそれぞれ加熱処理することにより 1 本鎖 DNA とし、これらを混ぜ合わせて冷却することで 2 本鎖 DNA に再結合させる (この操作をアニーリング annealing という)。アニーリングの度合いは 2 種類の生物の関係を反映している。2 種類の生物が同一、または DNA の配列の一部が同一でなければアニーリングは起こらない。

バクテリアの GC 含量は、種類により 23~75% ときわめて幅広い値をとる。たとえば *Clostridium tetani* と *Staphylococcus aureus* の DNA 塩基組成は類似しているが、*Pseudomonas aeruginosa* はこれらとは全く違った DNA 塩基組成を持っている。このことから、*C. tetani* と *S. aureus* は互いに近縁であるが、*P. aeruginosa* はそれほど近縁ではないと考えられる。ただし、DNA 塩基組成には塩基配列の情報は含まれていないので、塩基組成が類似しているからといって、必ずしも近縁のバクテリアであるとは限らない。しかし GC 含量が異なっていれば、その二つの微生物は近縁種ではないということはある。

2.4.3 DNA 配列解析

DNA または RNA の配列解析装置も入手しやすくなり、以前よりも簡単に配列解析ができるようになった。PCR と DNA 合成装置により、多数のプローブを容易に調製できるようになった。プローブとは分析対象となっている DNA に対して相補的な塩基配列を持った単鎖 DNA の断片のことである。プローブの標識を行うために蛍光色素や放射性同位元

素が用いられる。このプローブが目的とする DNA の塩基配列を見つけ出すと、相補的に DNA に結合する。相補的に結合したプローブは洗浄しても、洗い流されないで、プローブを標識した蛍光色素または放射性同位元素を検出することにより、特定の塩基配列の有無を明にすることができる。

2.5 16S rRNA による分類

米国の分子生物学者 Woese は 1969 年に、タンパク質合成の場であるリボソームの構成成分のうち 16S リボソーム RNA (16S rRNA) の塩基配列に基づいた生物分類法を提唱し、バクテリアドメイン (Domain Bacteria), アークエアドメイン (Domain Archaea), ユーカリアドメイン (Domain Eukarya) の 3 つのドメイン (domain) に大別した (図 2-3)。従来、「細菌」とよんでいたものが真正細菌 (eubacteria) と古細菌 (archaeobacteria) の 2 つグループに分離された。

2.5.1 16S rRNA が分類に用いられた理由

進化に基づいて生物を分類するには、適切な基準が必要となる。また、すべての生物を比較するためには、普遍的に存在する基準でなければならない。このため、生命活動の根幹にかかわるような部分で比較しなくてはならない。また、異なる生物にあってもその機能は同一でなければならない。機能が異なれば、当然 DNA では塩基配列が全く異なり、タンパク質はアミノ酸配列が異なっていると予想できるので、分類の指標にはできないからである。さらに、配列を比較する部分が比較しやすい配列を持っている必要もある。

rRNA はタンパク質合成に関わる細胞器官なので、進化の過程に基づく分類を行うのに適した分子である。rRNA は進化の歴史においても、古くから存在していたことがわかっており、その機能は生物種が異なっても一定であり、ほとんどの生物に存在している。さらに適度に保存性が高いので、幅広い範囲の生物分類を行うのに都合がよい。rRNA のような巨大な分子では、塩基配列が変化する可能性のある部分多く、系統的な比較を行う上で適している。逆に rRNA の塩基配列の類似性が高ければ、比較している 2 種類の生物の分類学上の距離は近いということができる。生物種ごとに rRNA の塩基配列を決定し、それをもとに分類状の距離を計算することで図 2-4 のような系統樹を作成することができる。

原核細胞生物のリボソームの構造は図 2-5 に示したように、50S サブユニットと 30S サブユニットからなり、50S サブユニットには 5S および 23S の rRNA が含まれており、30S サブユニットには 16S rRNA が含まれている。16S rRNA と 23S rRNA はそれぞれ約 1500 塩基と約 2900 塩基からできており、両者とも高い保存性を有している。また、比較の基準点として都合のよい塩基配列を含んでいる。さらに適当な配列の変異もあり、系統分類に適している。

5S rRNA も系統分類の指標として用いられたことがあるが、約 120 塩基と小さな分子であるため、得られる情報量

に限りがある。また 23S rRNA よりも 16S rRNA の方が実験的に扱いやすかったため、16S rRNA による系統分類が盛んに行われた。

真核細胞生物で、原核細胞生物の 16S rRNA に相当する分子は 18S rRNA である。真核細胞生物の系統分類には、この 18S rRNA の塩基配列が用いられている。

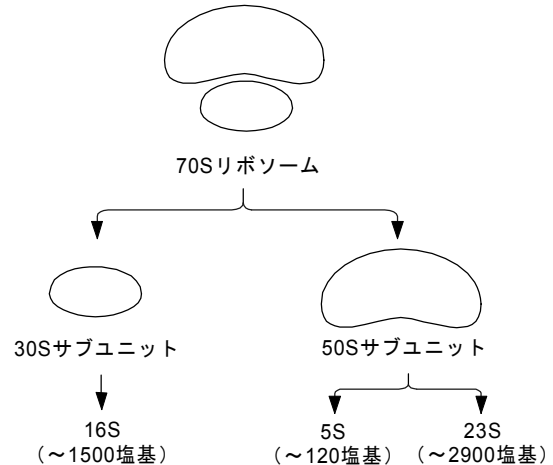


図 2-5 バクテリアのリボソームを構成している rRNA

2-5-2 rRNA の配列決定と細胞進化

現在では rRNA の塩基配列を決定し、それをもとに系統樹を作成するという作業は、当たり前の作業になっており、分子生物学とコンピュータ解析の組み合わせである。

塩基配列の決定を行うには、まず 16S rRNA をコードしている核 DNA を PCR 法により増幅し、得られた PCR 生成物をダイデオキシ法 (Sanger 法) により配列決定を行う。ダイデオキシ法は短時間で分析可能な配列決定法であり、しかも高精度である。PCR プライマーに用いた SSU rRNA の保存性の高い配列に対して相補的な配列を持つオリゴヌクレオチドを化学合成し、これを配列決定に用いる。微生物の培養液から少量でも DNA が得られれば、これを PCR 法により増幅することで大量の DNA を得ることができるので、これを塩基配列決定に供する。

rRNA の塩基配列を分析し、系統樹を作成するには複数のアルゴリズムが報告されている。いずれにしても生の塩基配列のデータを比較しやすいように、シークエンスエディターで適当にそろえる。

最初の真核生物が誕生したところに、この 2 つのグループは分離し、それぞれ独立して進化したものと考えられている。真正バクテリアには大腸菌や黄色ブドウ球菌など身近によく研究されたバクテリアが含まれている。一方の古バクテリアは多様なグループから構成されており、様々な点で真正バクテリアとは異なった特徴を持っている。表 2-3 でバクテリアドメイン、アークエアドメイン、ユーカリアドメインの違いについてまとめた。

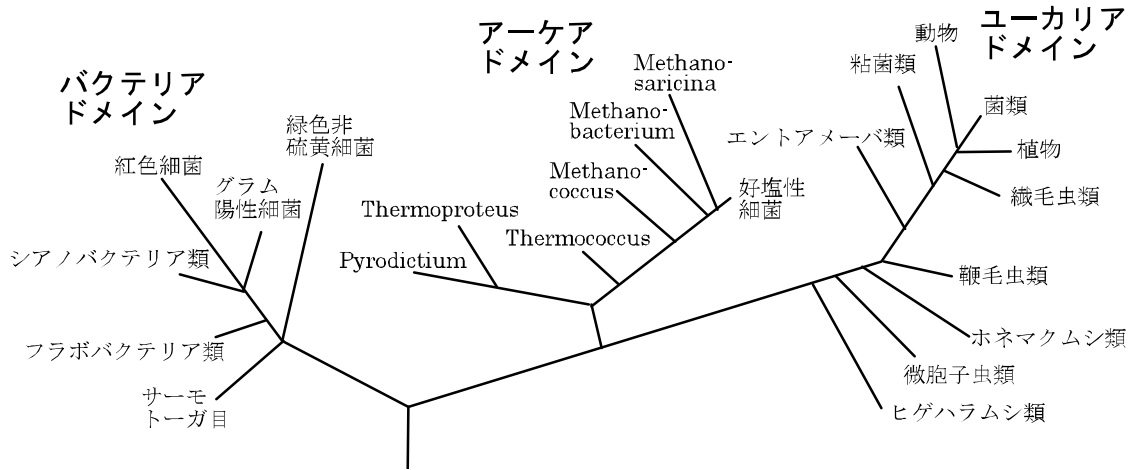


図 2-4 生物の3つのドメイン

古細菌の中には温泉 (*Sulfolobus* 属, *Pyrococcus* 属など) や高塩濃度 (*Halobacterium* 属) のような極限環境下で生育できるものや、メタン生成菌のように特殊な代謝系をもつものが含まれている。バクテリアのタンパク質合成を阻害する物質は、真核生物のタンパク質合成は阻害しないために選択毒性を発揮することとなり、人類に有用であった。しかし、古細菌のリボソームは真正細菌と大きさはほぼ同じであるが、ストレプトマイシン、クロラムフェニコールなどの抗生物質には耐性であり、ジフテリア毒素に対しては感受性であることから、真核生物のリボソームに類似している。

16S または 18S rRNA に見られる特徴的な塩基配列を、アーケア、バクテリア、真核生物のドメイン間で比較すると (表 2-4)、アーケアはバクテリアよりもむしろ真核生物に近いことが分かる。

UCCCCG	1380	>95	0	100
CUCCUUG	1390	>95	0	0
UACACACCG	1400	0	>99	100
CACACACCG	1400	100	0	0

Y; ピリミジン塩基, R; プリン塩基, N; すべての塩基

(a) 系統発生を比較する生物のRNA塩基配列

生物	RNA塩基配列
A	GGUAGACCUGAC
B	CCUAGAGCUGGC
C	CCAAGACGUGGC
D	GCUAGAUGUGCC

(b) 進化における距離 evolutionary distance (E_D)

E_D	E_D の補正值
$E_D A \rightarrow B = 0.25$	0.30
$E_D A \rightarrow C = 0.33$	0.44
$E_D A \rightarrow D = 0.42$	0.61
$E_D B \rightarrow C = 0.25$	0.30
$E_D B \rightarrow D = 0.33$	0.44
$E_D C \rightarrow D = 0.33$	0.44

(c) 系統発生樹

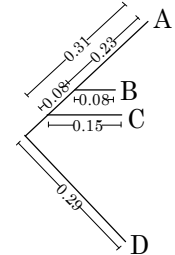


図 2-6 系統樹の作成

表 2-4 生物3ドメインにおける16Sまたは18S rRNA

塩基配列	位置	出現頻度 (%)		
		アーケア	バクテ	真核生物
CACYYG	315	0	>95	0
CYAAAYUNYG	510	0	>95	0
AAACUCAAA	910	3	100	0
AAACUAAAAG	910	100	0	100
NUUAAUUGG	960	0	>95	0
YUYAAUUG	960	100	<1	100
CAACCYYCR	1110	0	>95	0
UUCCCG	1380	0	>95	0

表 2-3 バクテリアドメイン, アーケアドメイン, ユーカリアドメインの比較

	バクテリアドメイン	アーケアドメイン	ユーカリアドメイン
細胞の型	原核細胞	原核細胞	真核細胞
細胞の大きさ	0.5~4 mm	0.5~4 mm	>5 mm
細胞壁	大部分は持っており、ペプチドグリカンを含む	持っているが、ペプチドグリカンは含まない	なし、持っても別の成分により作られている
膜脂質	脂肪酸含有, エステル結合	イソブレン含有, エーテル結合	脂肪酸含有, エステル結合

翻訳開始アミノ酸	メチオニン	ホルミルメチオニン	メチオニン
遺伝物質	小さな環状 DNA, プラスミドを持つ, ヒストンはない	小さな環状 DNA, プラスミドを持つものもあり, ヒストンあり	巨大なひも状 DNA 分子が複数集まり核を形成, ヒストンあり
RNA ポリメラーゼ	単純, 1種類のみ	複雑, 数種類	複雑, 数種類
リボソームの薬剤耐性			
ストレプトマイシン	感受性	耐性	耐性
クロラムフェニコール	感受性	耐性	耐性
ジフテリア毒素	耐性	感受性	感受性
運動性	単純, 鞭毛, ガス胞, 滑走	単純, 鞭毛, 滑走	複雑, 鞭毛, 線毛, 足, ヒレ, 羽
生息場所	広範囲	他の生物がない厳しい環境	広範囲
代表的生物	腸内細菌, シアノバクテリア	メタン生産菌, 好塩性菌, 超高温菌	藻類, 原生動物, カビ, 植物, 動物

2.6 共生進化説

マーギュリス (1970) は、真核生物細胞のミトコンドリアや葉緑体は細胞内に共生した別の細胞に由来すると提唱した。ミトコンドリアは好気性細菌に、また葉緑体は藍藻に近いものと考えた。真核細胞生物の起源を説明するこの仮説を細胞内共生説、または共生進化説とよぶ。

古くから、ミトコンドリアや葉緑体などの細胞器官は、その形態から共生生物に由来するものであるとする考えがあった。これらの細胞器官を囲む生体膜は二重であることが明らかとなり、好気性細菌や藍藻が細胞外から取り込まれ、それらの膜がそのまま残ったと考えると説明しやすいことから、この説が提唱された。さらに細胞器官には独自の DNA が存在し、転写・翻訳機構が原核生物に類似すること、また、より新しい時代に藍藻が細胞内共生したと考えられる生物も存在することなどが明らかにされ、現在では定説となっている。

マーギュリスが提唱した内容は、①細胞小器官のうち、ミトコンドリア、葉緑体、中心体および鞭毛が細胞本体以外の生物に由来すること、②酸素呼吸能力のある細菌が細胞内共生をしてミトコンドリアの起源となったこと、③スピロヘータが細胞表面に共生したものが鞭毛の起源となり、ここから中心体が生じたこと、④藍藻が細胞内共生して葉緑体の起源になったこと、などである。(当初の説では鞭毛も共生由来とされていたが、現在では支持されていない。実際には、鞭毛には DNA は存在していないからである。)

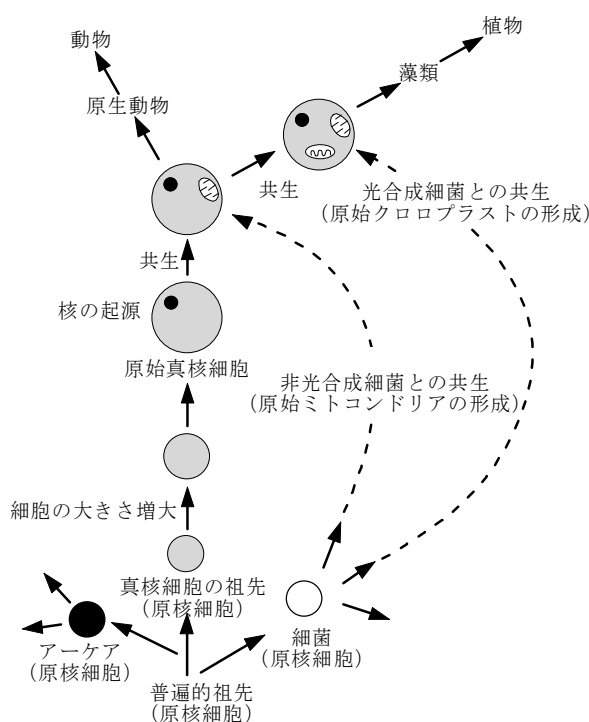


図 2-7 共生進化説

細胞共生説を支持する証拠には様々なものがある。たとえば、葉緑体やミトコンドリアはそれぞれが分裂によって増殖し、しかも独自の遺伝子と遺伝情報翻訳のしくみを持っていることがあげられる。このため、葉緑体やミトコンドリアに由来する生物の形質の中には、メンデルの遺伝の法則に従わない例もあり、これを細胞質遺伝とよんでいる。また、葉緑体のリボソーム RNA は、真核生物細胞の本体のリボソーム RNA と異なり、細菌のリボソーム RNA に近いことも明らかにされた。また、藻類を細胞内共生させる繊毛虫や刺胞動物など、現在の原生物においても共生の例が知られている。さらに、鞭毛虫の一部の鞭毛は、スピロヘータの共生であったことも知られている。

現在では、細胞内共生説はほぼ定説とされている。鞭毛については共生起源の可能性が否定されたが、ペルオキシソームには共生起源の可能性があると示唆されている。また、

真核生物は真生バクテリアより古バクテリアに共通する点が多く、古バクテリアに近い生物に真正バクテリアが細胞内共生したのが真核生物の起源だとする考えが有力である。

原生物の中では、新たな形での細胞内共生の例が多数発見されてきている。藻類の葉緑体は、高等植物よりも複雑な形のものが多い。その中には、二重膜ではなく、三重、あるいは、四重の膜に包まれたものがあり、その中にはっきりと

した核のような構造を持つものまである。これらは、細胞内に葉緑体を持つ真核単細胞生物を、別の真核生物が取り込んだことから生じたものだと考えられるようになった。すなわち、細胞内共生体を持つ細胞を、さらに細胞内共生させているわけである。一部の藻類、原生物には、細胞内共生を繰り返して成立したといわれるものがある。

表 2-5 五界説における各界の特徴

	モネラ界	原生物界	菌類界	植物界	動物界
細胞の型	原核細胞	真核細胞	真核細胞	真核細胞	真核細胞
個体の構成	単細胞性、 ときに細胞塊	単細胞性、 ときに多細胞性	単細胞性、 または多細胞性	多細胞	多細胞
細胞壁	ほとんど持っている	一部に持つものあり	あり	あり	なし
栄養摂取	吸収、光合成を行うものもあり	吸収、経口摂取、光合成するものもあり	吸収	光合成、吸収	経口摂取、中に寄生し宿主から吸収するものあり
生殖	無性生殖、二分増殖	ほとんど無性生殖、有性生殖と無性生殖の両方を行うものあり	有性生殖と無性生殖の両方をおこない、複雑な生活環を持つ	有性生殖と無性生殖の両方を行う	主に有性生殖

章末問題問題

- 生物を分類する学問は、次のうちのどれか。
 - Microbiology
 - Taxonomy
 - Physiology
 - Nomenclature
 - Identification
- 二名法で、はじめの単語は **genera** を示しているが、その次の単語は何を示しているか。
 - Class
 - Family
 - Species
 - Kingdom
 - Division
- 学名表記では文字を斜体 (イタリック) にする。タイプライターのように斜体にできない場合にはどうしたらよいか。
 - すべて大文字で表記する
 - 太文字にする
 - 下線をつける
 - 色を変えて表記する
 - 枠で囲む
- ある種を構成している生物がさらに分類されるとき、種の下分類を何とよぶか。
 - Oder
 - Class
 - Subdivision
 - Subspecies
 - Kingdom
- 原核細胞生物ではないものはどれか。
 - バクテリア
 - シアノバクテリア
 - 藍藻
 - 古バクテリア
 - ゾウリムシ
- 次のアーケアドメインに関する記述で正しくないものは

- どれか。
- 高温強酸性の環境に生育しているものがある
 - 絶対嫌気性である
 - きわめて塩濃度の高い環境に生育しているものがある
 - 細胞壁にはペプチドグリカン層がない
 - 炭素化合物を還元してメタンを生産するものがある
- モネラ界生物にはあつて原生動物界生物にはないものはどれか。
 - RNA
 - リボソーム
 - 細胞壁
 - 膜に結合した核様体
 - DNA
 - Thermophile** な生物が生育できる環境とは、きわめて___が高い環境である。下線部に当てはまるのはどれか。
 - 温度
 - 酸素濃度
 - 窒素濃度
 - pH
 - 塩濃度
 - Halophile** な生物が生育できる環境とは、きわめて___が高い環境である。下線部に当てはまるのはどれか。
 - 温度
 - 酸素濃度
 - 窒素濃度
 - pH
 - 塩濃度
 - DNA 塩基の G-C 含量が 47% の生物は、同時に___を含有している。
 - 53 % A-T
 - 47 % A + 53 % T
 - 53 % A + 47 % T
 - 47 % A-T
 - 47% A + 47 % T
 - 次の細胞器官をコードしている DNA のうち、生物の進化を通じてもっとも保存性の高いのはどれか。

- (a) 鞭毛
 - (b) 線毛
 - (c) 抗生物質耐性
 - (d) 抗原性タンパク質
 - (e) 膜タンパク質
12. 次のバクテリアを分類する基準のなかでもっとも特異的な分類基準はどれか。
- (a) DNA塩基配列分析
 - (b) 生育温度
 - (c) 形態
 - (d) 大きさ
 - (e) 莢膜
13. マイコプラズマが持っていない細胞器官はどれか。
- (a) 細胞壁
 - (b) 細胞膜
 - (c) RNA
 - (d) DNA
 - (e) リボソーム
14. 狂牛病の原因はどれか。
- (a) ウロイド
 - (b) プリオン
 - (c) RNAウイルス
 - (d) プロトン
 - (e) バクテリオファージ
15. 短いDNA断片を増幅する技術を何とよぶか。
- (a) Type and arrangement of nucleic acid
 - (b) DNA hybridization
 - (c) Restriction fragment length polymorphism
 - (d) Cloning
 - (e) Polymerase chain reaction
16. 次の五界説の各生物界名 (i) ~ (v) とその生物界の説明 (a) ~ (e) を正しく組み合わせなさい。
- (i) 動物界
 - (ii) 植物界
 - (iii) 原生動物界
 - (iv) 菌類界
 - (v) モネラ界
 - (a) Multicellular ingestive heterotrophs
 - (b) Multicellular and photosynthetic
 - (c) Usually unicellular eukaryotes absorptive heterotrophs
 - (d) Unicellular prokaryotes
 - (e) Unicellular and multicellular absorptive
17. 16S または 18S rRNA の塩基配列が分類の指標として用いられた理由を述べなさい。