

バクテリアコロニーパターンのマテリアルデザインとしての利用法

How to use bacterial colony patterns as material design

杉浦真也¹, Matthew Waldman¹, 岩崎秀雄², 山岡潤一¹

Sugiura Masaya¹, Matthew Waldman¹, Iwasaki Hideo², I Yamaoka Junichi¹

¹慶應義塾大学大学院 メディアデザイン研究科, ²早稲田大学 理工学術院

¹Keio University, ²Waseda University

【要約】

バクテリアはマクロで観察できるレベルのフィルムを形成することで、有利な生育環境を獲得してきた。その中でも本研究では瑠璃色を呈する鉄バクテリアの仲間と運動機能遺伝子を欠損させたシアノバクテリアを使用して、バイオデザインの領域で表現の拡張を検討した。鉄バクテリアは鉄を酸化する度合いを検討することで金箔、虹箔の変化を色味の表現として提案している。運動性欠損株であるシアノバクテリアは運動性による軌跡を辿った染色とパターンの形成を抗生物質で制御することを検討している。また、今回はバクテリアの色味や模様、染色方法を検討した後の操作として、吸水性素材への転写技術を加えることでデジタル制御を検討したいと考えている。今後は、微生物を利用したパターンの制御を行い、新たなマテリアルデザイン領域として研究を進めていきたいと考えている。

キーワード: バイオデザイン, バクテリアアート, バイオインク, バイオマニュファクチャリング, DIY バイオ

【Abstract】

Bacteria have acquired an advantageous growth environment by forming films that can be observed macroscopically. Among these, in this study, we used a member of the iron bacterium that exhibits a lapis lazuli color and a cyanobacterium in which a motor function gene has been deleted, and examined the expansion of expression in the area of biodesign. By examining the degree to which iron bacteria oxidizes iron, we are proposing changes in gold leaf and rainbow leaf as color expressions. We are investigating the use of antibiotics to control the staining and pattern formation of motility-deficient cyanobacteria that follow motility trajectories. In addition, after considering the color, pattern, and dyeing method of the bacteria, we would like to consider digital control by adding transfer technology to water-absorbing materials. In the future, we would like to control patterns using microorganisms and advance our research as a new area of material design.

Keywords: Biodesign, Bacteriaart, Bioink, Biomanufacturing, DIYbiology

1. 序論

微生物のコロニーパターンは高度機能生物の細胞移動などのモデルとして研究されていることが多く、流体力学的側面から、物理計算予測の分野でも注目されてきた。例えば、近年では粘菌のコンピュータのようなライフラインへの応用例などが有名である。このように微生物が環境に適用する形が、人間社会にも模倣されることで、デザインの側面と数理的モデルでの応用研究が進んでいる。今回は生物システムの自立性(バクテリアの滑走性)を活用して、従来の素材よりも低コストで GHG 排出量を抑えることを目的としている。また、バイオマテリアルの工業化を行うため、バイオインク(バクテリアが代謝産物)がメディウムとして拡張性を持っていることの基礎実験を行った。

研究概要としては、コロニーパターンの行動制御を外部刺激により行うことで、バイオマテリアルへの転用を実

践した。今回、バクテリアは鉄バクテリアとシアノバクテリア(ILC1693)の2種を使用する。

まず、一つ目に使用する鉄バクテリアは二価の鉄イオン(Fe²⁺)を酸化して得られるエネルギーを利用して生育活動を行う化学合成栄養細菌である。生息地としては、鉄分が富んだ土壤に広く分布している。また、鉄バクテリアは酸化皮膜を作るが、その主成分は水酸化第二鉄(Fe(OH)₃)であり、空気調の酸素が溶け込むなどの特定の条件下で生成される。また、酸化皮膜は時より油膜と似た見た目であるため、混同してしまう。沖縄県衛生環境研究所の環境科学班らは「酸化皮膜には、一度、膜が壊れると直ぐに元には戻らない。油の臭いはしない。」¹⁾と主張している。今回使用する鉄バクテリアは神奈川県厚木市愛名緑地で採取した鉄バクテリアである。また今回このバクテリアを選定した理由としては、光の反射角度によって確認できる瑠璃色や金色の輝きを保存し、バイオイン

クとしての工業化を考えることができたためである。二つ目に紹介する運動性シアノバクテリア(ILC1693 株)は早稲田大学院岩崎秀雄研究室の櫛田ら²⁾が解析したものであり、野生株の遺伝子欠損株である。この株は野生株と比べて運動機能が強く、コロニーの成長をマクロな視点で観察できる。通常、コロニーパターンのマクロ的視点で用いられるバクテリアとしては枯草菌の仲間などが代表例ではあるが、今回は ILC1693 株を使用した。その理由としては、ILC1693 株は独特な運動性を示すからである。岩崎ら³⁾によると Disk, Comet, Bundle の三つの行動パターンが読み取られると言われている。今回、この動きのパターンの種類を明条件下における照度変化や油脂成分におけるバクテリアの軌跡の変化の検討を考えている。このように、今回はバクテリア自体の動きやバイオフィルムに着目し、それらを素材として転用することの取り組みと、バイオマテリアルとして保存と実装に向けた萌芽的取り組みの研究を行った。

2. 関連研究

まず、コロニーパターンの研究についてまとめる。

Eshel Ben-Jacob ら⁴⁾は細菌が環境変化に適用するために複雑な増殖パターン形成に関して記載されたものである。この論文ではコロニーパターン形成の研究でのモデルとして枯草菌の仲間を使用するが、今回は光に走行性のあるシアノバクテリアを使用している。そのため、枯草菌の仲間の菌糸によるパターン形成だけでなく、シアノバクテリアは3つの形態考慮しながらパターンの変化を追っている。

次に、アートプロジェクト分野では今回使用する2種類のバクテリアに分けて紹介する。

鉄バクテリアの分野では AZU KIMURA の Landscape of Iron⁵⁾で酸化皮膜を染めた実験が行われている。このアートワークでは、鉄バクテリアが産生する酸化皮膜をから培養して画用紙に染色することを目的ではなく、未だに酸化皮膜の生成培養は理学的研究の観点から見ても行われていない。

シアノバクテリアの分野では岩崎秀雄の Culturing <Paper>cut⁶⁾が代表例である。このアートプロジェクトは論文自体にシアノバクテリアを培養して染めたものであり、意図的な形やパターンを出すことを目的として生やし

たものではない。また、Eve Frankel ら⁷⁾は、バクテリアアートは「芸術の普遍言語」を通じて、抽象的な科学概念を含む多くの社会的概念や先入観に疑問を投げかけができるアートワークであることを示唆している。そこでは、歴史的事例と実験プロトコル、科学と芸術の人為的分離についての議論が展開されているが、バクテリアをメディウムとして利用するためのデザインの様式の方法を提案しているものではない。

最後にデザイン研究の分野をあげる。Claretta J. Sullivan ら⁸⁾は、*Cellulophaga lytica* という細菌を用いて、自己印刷のフォトニックインクとしての可能性を探っている。この論文との差異はこの論文で使用している細菌が持つ特性を二分した形のバクテリアで研究している。*Cellulophaga lytica* という滑走運動性を持つ細菌は、自己集合して多結晶構造を持つバイオフィルムを形成し、きらびやかな輝きを示すことが報告されている。今回使用する鉄バクテリアが産生する酸化皮膜の反射特性と滑走運動性を持ったシアノバクテリアに特性が似ている。

3. システム構成

3-1 鉄バクテリア

鉄バクテリアは神奈川県厚木市の愛名緑地の沼地で採取した。(Fig. 1) 今回、鉄バクテリアの具体的な菌種名を特定はしていないが、島田らの論文⁹⁾から推測すると *Leptothrix ochracea* 属であると考えられる。



Fig. 1 写真1は愛名緑地の沼地、写真2はミネラル成分を計測した。

鉄バクテリアの染色実験では、酸化皮膜を水圧転写で画用紙に染めた。(Fig. 2)

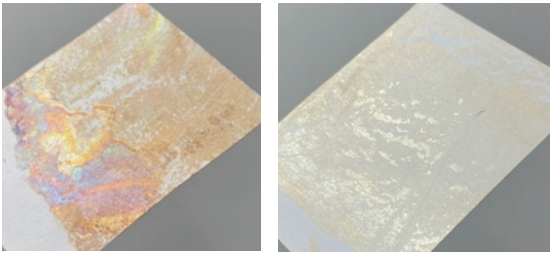


Fig. 2 酸化皮膜を水圧転写で染めた様子

次に、バイオマテリアルの工業化に向けて、鉄細菌が産生する酸化皮膜の生成法を検討した。(Fig. 3)

今回、鉄細菌が形成する酸化皮膜を人工的に作り出すことを目標とした。そのため、鉄細菌の酸化皮膜形成を行うための培地の組成を紹介したい。酸化皮膜の生成を検討する中で、pH の最適化、温度の最適化、光照射条件、条件の切り替え(1日～2日程度振盪させ十分に菌が生育した後、静置培養に切り替えて皮膜形成させる)などを培養条件とした。実際にミネラル分や pH 濃度を検討するべく、水質試験紙でテストした結果鉄成分が多く検出できた。その後、沼地から採取した沼 20g、沼水 10g、二価の鉄 32.5ml を混合し、1週間静置後、酸化皮膜の形成を確認した。



Fig. 3 酸化皮膜生成槽

3-2 シアノバクテリア

シアノバクテリアを植菌する培地(BG-11)を岩崎秀雄研究室で作成した。BG-11の組成は以下の図の通りである。培地作成後、シアノバクテリアを希釈した液体培地から 50 μ l を寒天培地上に添加し、コンラージ棒で塗り広げた。その後、寒天培地上に蒸気滅菌した油取りがみを添付した。その後は、2週間(25°Cの明条件下)静置させた。シアノバクテリアの染色実験では、培地(BG-11)を岩崎秀雄研究室で作成した。BG-11の組成は以下の図の通りである。培地作成後、シアノバクテリアを希釈した液体培地から 50 μ l を寒天培地上に添加し、コンラージ棒で塗り広げた。その後、寒天培地上に蒸気滅菌した油取り紙を添付した。その後は、25°Cの明条件下で静置させた。2週間後、シャーレ内の油取り紙を取り出すと、培地上

には細菌が繁殖していなかった。仮説上では細菌が油取り紙上を滑走せず、油取り紙と培地の境界部分に向かって繁殖すると考えていた。結果として、油取り紙上は染色され、染色の度合いを以下の3つの写真で示した。染色の結果から、油取り紙に BG-11 を染み込ませてからシアノバクテリアで染める実験を行った。結果としては油取り紙上でもシアノバクテリアが滑走し、染色された。(Fig. 4)



Fig. 4 シアノバクテリアの染色度合い(左から 1, 2 枚目: 染色の確認をした様子。左から 3, 4 枚目: 油取り紙の内外で染色の濃度変化を観察した様子)

次にシアノバクテリアの模様を制御する実験を行った。先行研究で、シアノバクテリアは赤色光と緑色光のバランスを感知して効率よく光合成を行う「補色純化」という機能があることが知られている。今回、滑走性のシアノバクテリアを使用することで特定の波長による逃避行動が見られると考えたため、一枚のシャーレに赤色光、緑色光を照射し、滑走運動性を観察した。すると、シアノバクテリアは赤色光から遠ざかるように緑色光の方へと滑走性を示した。また、コントロールのシャーレと比較した時、模様がひび割れたような動きのパターンを形成していた。比較面積は以下に示す。(Fig. 5)

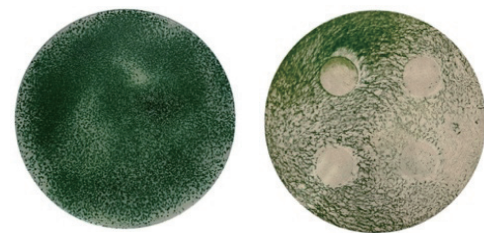


Fig. 5 左図は通常の ILC1693 のコロニーパターン

右図はシャーレの左側に赤色光、右側に緑色光を照射した。

最後に、紫外線による生育実験を行った。シャーレ全体を培養後、紫外線を 1 日照射した。照射理由としては、紫外線照射により、運動機能を欠損させたシアノバクテリアの作成が可能かを試した実験である。照射後は、光合成色素が抜けて黄変した。1週間経過後、緑色の光合成色素が再生し、少し違った緩やかな Bundle が確認された。この理由として考えられることは、紫外線を 1 日照射

したことで、シャーレ内の温度が上昇し、湿度が高まることで、培地が液状化したため動きが緩やかになったのではないかと考えている。(Fig. 6)

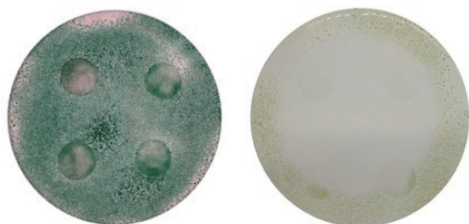


Fig. 6 紫外線照射後の経時的変化(写真1は2週間,明条件下で培養,写真2は紫外線を1日照射)

4. 考察と展望

微生物が環境に適用するための自律性を活用することで、バクテリア素材の需要が高まるだろう。しかし、バクテリア素材は外部環境に曝すことでコンタミネーションを引き起こし、素材自体が劣化してしまう。そのため、バクテリア素材を工業化させるには有機物を新たに保存できる方法(Fig. 7)などの提案も必要であると感じている。以下に示したシアノバクテリアは約2年間冷凍保存しているものだが、シアノバクテリアの色味やパターンなどは失われていない。また、今回使用した鉄バクテリアであれば、コンタミネーションを引き起こしても酸化皮膜を保存することができるため、バクテリアの酸化物をメインとして素材を展開する方法も可能だと考えている。今後は、微生物の環世界を人間社会で体現できるようなバイオマテリアルの開発と実装を考えている。近い未来の環境は多種の生物が設計し実装されたものが多く存在しているかもしれない。私たちは他種の環境適応性を感覚的に享受することで、機能的価値を見出し利用することができるかもしれない。それは、他種の環世界を洞観することで機能性と感覚の内面的繋がりによる萌芽的な研究になるだろう。



Fig. 7 約2年間冷凍保存しているシアノバクテリア

参考文献

1. 沖縄県衛星環境研究所 環境科学班, 「水たまりに油膜??実は鉄の酸化皮膜!!」衛環研ニュース(25),2013
2. 榎田和花奈, 戸井田一磨, 山本宏輝, 藤田祐一, 下川卓志, 岩崎秀雄, 「糸状性シアノバクテリア *Leptolyngbya boryana* の滑走運動とコロニーパターンに関する新規遺伝子の道程と解析」日本ゲノム微生物学会年会要旨集(15),2021,p44
3. 岩崎秀雄, 「シアノバクテリアのマクロなコロニーパターンの構築原理」科学研究費助成事業 研究成果報告書,2015
4. Eshel Ben-Jacob, Ofer Schochet, Adam Tenenbaum, Inon Cohen, Andras Czirók & Tamas Vicsek, “Generic modelling of cooperative growth patterns in bacterial colonies” *Nature* (368),1994,p46-49
5. AZU KIMURA, “Landscape of Iron”2022
6. 岩崎秀雄, “Culturing <Paper>cut”文化庁メディア芸術祭,2013
7. Eve Frankel, Jasmine Temple, Eliz Dikener, Mehmet Berkmen, “Bridging the gap with bacterial art” *FEMS Microbiology Letters*(370),2023, fnad025
8. Claretta J. Sullivan, Kennedy Brown, Chia-Suei. Hung, Joseph Kuo-Hsiang Tang, Mark DeSimone, Vincent Chen, Pamela F. Lloyd, Maneesh Gupta, Abby Juhl, Wendy Crookes-Goodson, Milana Vasudev, Patrick B. Dennis & Nancy Kelley-Loughnane “Iridescent biofilms of *Cellulophaga lytica* are tunable platforms for scalable, ordered materials” *Nature*(13192), 2023
9. 島田 武典, 本田 数博, 「愛名緑地ビオトープの鉄細菌による赤褐色沈殿物の観察」*神奈川自然誌資料* (29),2008,p61-64