

卵殻と卵殻膜が菌を防ぐ機構について

班員 池野 ケイラ文、香川 泰樹、寺井 美優、寺谷 勇磨
担当教諭 井上 翔吾

キーワード： 卵殻膜 卵殻 抗菌作用 化学物質 物理的構造

We researched a physical and chemical mechanism by which eggshells prevent fungus and bacteria from invading the inside of the egg. Eggshell membranes have a mechanism to prevent lactic acid bacteria from invading the interior of the egg. The complex and mesh structure of eggshell membranes, and small holes in the eggshell prevent bacteria from penetrating them.

1 はじめに

卵は生鮮食品の中でも腐りにくい食品である。そこで、私たちは卵が菌をどのように防いでいるのか疑問に思った。卵は卵殻、卵殻膜、卵白によって、菌を防いでいることが知られている。卵白では、抗菌作用があるリゾチームが働いていることが知られている。卵殻膜とは卵の内側にある0.07mmの薄い膜で、外部の微生物から内部を守るものだが、その抗菌作用についての研究は少ない。そこで私たちは、卵殻膜とその外側の卵殻が菌を防ぐ作用をさらに詳しく知りたいと考えた。先行研究では卵が菌を防ぐ仕組みについて卵殻膜はムコ多糖類似物とケラチンからなり、そのうちケラチンはタンパク質分解酵素に対して、高い抵抗性をもつことが分かっている。卵殻膜の構造については、網目状の構造をしていることが知られている。

私たちはこれらの先行研究をもとに卵殻と卵殻膜の抗菌作用を化学的観点、物理的観点から調べるため、ディスク法を用いた実験と電子顕微鏡での観察を行った。

2 材料・方法

I 卵殻膜が持つ抗菌作用

卵殻に含まれる化学物質による抗菌作用を調べるため次の実験を行った。実験では真菌のイースト菌と細菌の乳酸菌を用いた。サブロー寒天培地上にイースト菌、乳酸菌を塗布し、正

方形(1辺5mm)に切った卵殻膜をその表面に等間隔に9個置いた。この寒天培地を36℃でインキュベートし、毎日デジタルカメラで撮影し菌の生え方を観察した。

II 卵殻膜の作用の時間による変化

実験Iと同様の方法で実験を行った。実験IIでは採取後すぐと採取後2週間の卵殻膜を使用し、卵殻膜の作用が時間により変化するかを調べた。実験Iと同様に毎日観察した。

III 卵殻と卵殻膜の電子顕微鏡での観察

卵殻と卵殻膜をそれぞれ内側、外側と、その断面から電子顕微鏡を用いて写真を撮影し観察した。

卵殻と卵殻膜の物理的構造が菌の内部への侵入を防いでいる可能性がある。これを調べるため、電子顕微鏡により撮影を行った。

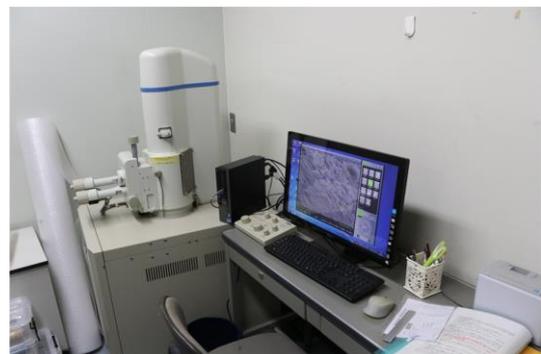


図1 使用した電子顕微鏡

3 結果

I 卵殻膜が持つ抗菌作用

どちらの菌を使用した実験でも、卵殻膜の周りに菌の拡大が止められた場合に見られる阻止円はできなかつた。次に、卵殻膜の作用を調べるために卵殻膜のどれくらいが菌に覆われているか確認し、被度を比べた。イースト菌では卵殻膜上の菌の被度に偏りはなく、膜全体が覆われた場合も多かった(図2)。一方、乳酸菌では卵殻膜上の菌の被度が半分未満のものが多かった(図3)。

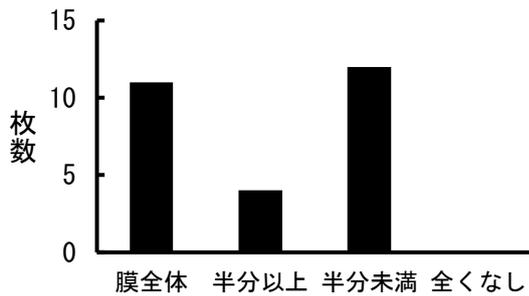


図2 卵殻膜上のイースト菌の被度

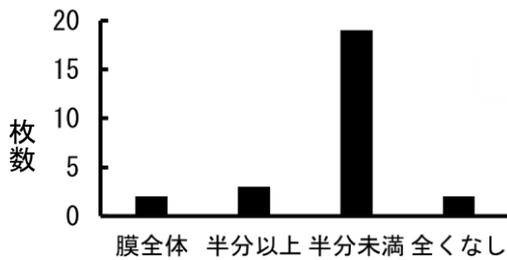


図3 卵殻膜上の乳酸菌の被度

II 卵殻膜の作用の時間による変化

実験Iと同様に阻止円はできなかつた(図4, 5, 6, 7)。イースト菌では新しい膜と古い膜で膜上の菌の被度に差はなかつた(図8)。乳酸菌では、新しい膜より古い膜の上に多くの菌が生え、明らかに卵殻膜の作用が時間によって異なっていた(図9)。

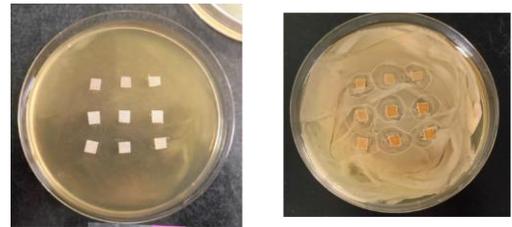


図4 イースト菌(採取後すぐ)の変化

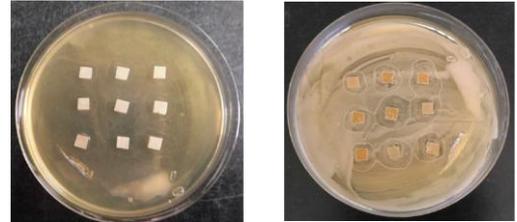


図5 イースト菌(採取後2週間)の変化



図6 乳酸菌(採取後すぐ)の変化



図7 乳酸菌(採取後2週間)の変化

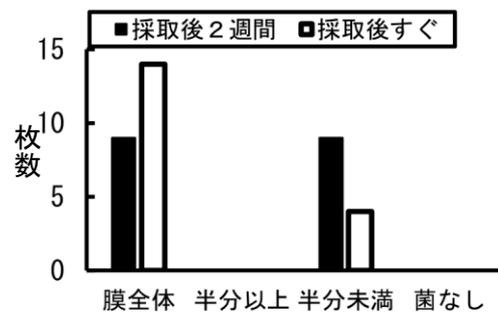


図8 卵殻膜上のイースト菌の被度

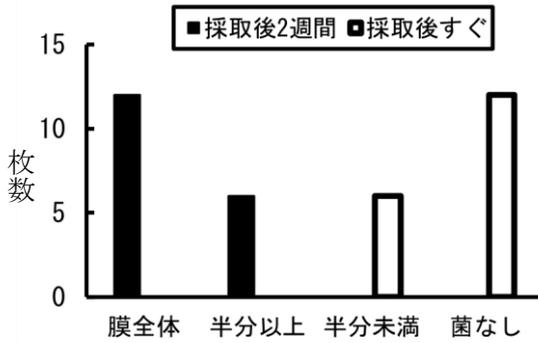


図9 卵殻膜上の乳酸菌の被度

III 卵殻と卵殻膜の電子顕微鏡での観察

卵殻の外側の観察では卵殻に約 $0.2\mu\text{m}$ の小さな穴と約 $0.9\mu\text{m}$ の大きな穴が存在することが分かった(図10)。卵殻の内側の観察では、卵殻膜を卵殻から完全に切り除くことができていなかったため、卵殻膜と同様の構造が見られ卵殻内側の構造を観察することはできなかった。

卵殻膜の外側の観察と内側の観察で卵殻膜は繊維でできた複雑な網目構造をしていることが分かった(図11)。

さらに、卵殻膜の断面の観察からは網目状の構造が何層か重なった構造が確認された(図12)。

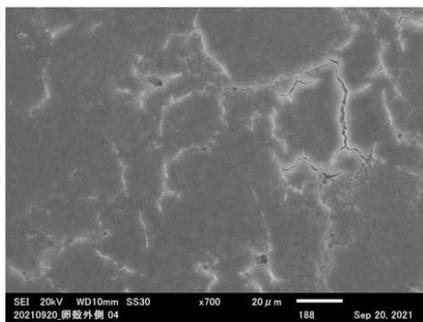


図10 卵殻外側の電子顕微鏡写真

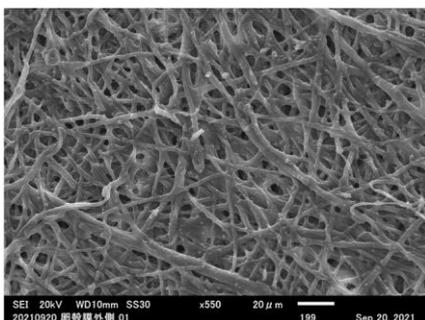


図11 卵殻膜外側の電子顕微鏡写真

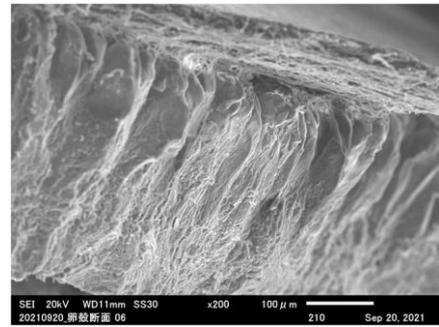


図12 卵殻・卵殻膜断面の電子顕微鏡写真

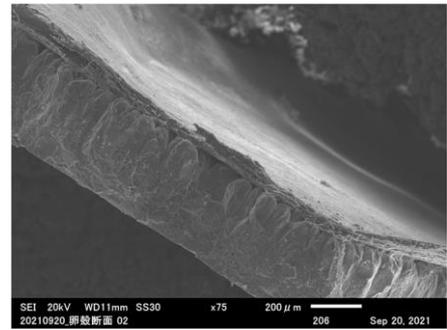


図13 卵殻・卵殻膜断面の電子顕微鏡写真

4 考察

I 卵殻膜が持つ抗菌作用

イースト菌の実験では卵殻膜上の菌の被度に偏りはなかったが、乳酸菌の実験では菌の被度が小さいものが多かった。このことから、卵殻膜は膜外の菌の生育を防ぐ効果を持たないが、膜上の乳酸菌の生育を防ぐと考えられる。先行研究によると、卵殻膜はケラチンとムコ多糖類似物からなる⁽¹⁾。タンパク質を分解して増殖する乳酸菌に対して、タンパク質分解酵素に高い抵抗性をもつケラチンが分解を阻害したため、卵殻膜は乳酸菌の増殖を防いだと考えられる。さらに卵殻膜の周りに多くの乳酸菌が集まっていたが、膜上で乳酸菌は生えていなかったため、卵殻膜上で乳酸菌を防ぐ作用は強いと考えられる。一方で、糖を分解して増殖するイースト菌の生育は防がなかった。これはイースト菌に対する抵抗性を持たない卵殻膜のムコ多糖類似物をイースト菌が分解して増殖したためだと考えられる。

また、卵殻膜上のイースト菌の被度の差から、1つの卵の卵殻膜の中でも効果の強さに差があると考えられる。

II 卵殻膜の作用の時間による変化

イースト菌の実験では採取後すぐの膜と採取後2週間の膜で違いが見られなかったが、乳酸菌を使用した実験では、採取後すぐの膜に比べて、採取後2週間の膜上に多くの乳酸菌が生えていた。このことから、膜上の乳酸菌の生育を防ぐ効果は時間が経つにつれて弱くなると考えられる。

III 卵殻と卵殻膜の電子顕微鏡での撮影

卵の構造の観察で卵殻の穴の大きさは0.2~0.9 μm であった。細菌の大きさは0.5~5 μm なので、卵殻はほとんどの細菌の侵入を防ぐことができていると考えられる。卵殻を通り抜けてきた細菌は、卵殻膜の層状の複雑な網目構造が、内部への侵入を防いでいると考えられる。

5 今後の展望

卵殻膜の膜上の乳酸菌の生育を防ぐ効果が時間によって弱まる原因を調べていきたい。また、イースト菌と乳酸菌に対する効果に違いが生じた原因について考察したが、その考察が正しいのか確かめていきたい。そして、細菌と真菌の間で卵殻膜の効果に差があるのか調べるために、菌の種類を増やして実験をしていきたい。さらに、今回の化学物質の抗菌作用について調べる実験では、卵殻膜についてのみ実験を行った。卵殻の成分の抗菌作用についても調べていきたい。また、今回電子顕微鏡で観察した卵殻は一部を取り出したものであった。卵の部位によって卵殻の構造が異なる可能性もある。今後、卵の様々な部位から卵殻を取り、それらについて電子顕微鏡写真を撮影し、比較したい。今回の実験では、鶏卵のみを使用して実験した。別の動物の卵と比較して、卵の防御メカニズムをさらに探していきたい。

6 謝辞

金沢大学のロバート・ジェンキンス先生には、電子顕微鏡を使う際にお世話になりました。ありがとうございました。

7 参考文献

- (1) 一島英治. 卵にみる生体の防御機構. 1975. 化学と生物. Vol 13 No8. 489-497
- (2) 田中美樹、小西那奈、田原早央莉、松井千佳、小林周平、可知佳晃、谷藤尚貴. 卵殻膜が食品の劣化防止剤に生まれ変わるリサイクル法の開発. 化学と生物. Vol 53 No5. 335-337
- (3) 中島肇. 乳酸菌はミルクのタンパク質をどのようにして利用するのか 日本家政学会誌 2016. Vol 67 No12. 709-713
- (4) 藤田恵理、金野智浩、清水美穂、石原一彦、杉立年弘、三宅淳、吉村浩太郎、谷脇香、桜井隆史、長谷部由紀夫、跡見順子. ホスホリルコリンポリマー上に固定化した加水分解卵殻膜は、ヒト皮膚線維芽細胞に細胞外マトリクス環境を与える. Springer .2011