

第 231 回雑誌会

(Oct 13, 2015)

(1) Geographic isolation of *Escherichia coli* genotypes in sediments and water of the Seven Mile Creek – A constructed riverine watershed

Chandrasekaran, R., Hamilton, M. J., Wang, P., Staley, C., Matteson, S., Birr, A. and Sadowsky, M. J.

Science of the Total Environment, **538**, 78-85 (2015).

Reviewed by Y. Ota

淡水中におけるふん便汚染を評価する指標細菌として、大腸菌が用いられている。しかしながら、近年、大腸菌は河川中で生残り、増殖することが報告されている。大腸菌を指標細菌として用いるためには、河川における大腸菌の生残りや増殖に関係する気候的、生物学的要因を把握する必要がある。そこで本研究では、ミネソタ州 Seven Mile Creek (SMC) を対象として、堆積土と河川水中における大腸菌の実態および増殖に影響を及ぼす要因について調査した。試料は、2009 年～2010 年（4 月～10 月）の間に、SMC 流域の上流から下流までの 4 地点において河川水と堆積土を採取し、最確数（MPN）法を用いて各試料中の大腸菌を計数した。また、各試料中における大腸菌の遺伝子型は、Horizontal fluorophore-enhanced rep-PCR（HFERP）を用いて取得し、系統樹解析、MANOVA 分析、およびジャックナイフ分析によって、地点間の類似性を評価した。

各年に採取した堆積土と河川水中の大腸菌数は、夏にかけて増加傾向を示した。また、4 地点のいずれの試料においても、降雨後（2009 年 8 月、10 月）の河川水中の大腸菌数は、降雨前と比較して、有意に高かった（ $P < 0.001$ ）。このことから、河川水中の大腸菌数の変動に、気温と降雨が寄与していることが示唆された。HFERP を用いて、各試料中における大腸菌の遺伝子型の類似度を評価した結果、堆積土中と比較して、河川水中は多様な遺伝子型の大腸菌が存在した。また、2009 年 10 月と 2010 年 4 月に堆積土と河川水から採取した試料における大腸菌の遺伝子型は、高い類似性が認められた。さらに、4 地点においても、大腸菌の遺伝子型は、それぞれ 7.9%、11.3%、16.6%、および 12.3% の割合で一致しており、いずれの地点においても遺伝子型の類似性が認められた。このことから、大腸菌は長期間に渡って堆積土および河川水中に生残すること、河川水による堆積土の流下に伴い、堆積土中の大腸菌も流下する可能性が示唆された。さらに、各年に取得した堆積土と河川水中の大腸菌の遺伝子型は、高い類似性が認められた。以上の結果から、堆積土中において生残していた大腸菌は、降雨によって流下し、河川水に供給されることが示唆された。

(2)カギイバラノリ *Hypnea japonica* (スギノリ目, 紅藻) の生長におよぼす水温, 光, 窒素の種類および濃度の影響

早川 浩一, 田中 優平, 駒澤 一朗
水産増殖 **61** (4), 377-382 (2013).

レビュー：中田 光紀

伊豆諸島八丈島では, 重要な水産資源として紅藻カギイバラノリを漁獲している。しかしながら, 高水温・貧栄養の海況が継続しており, 安定した資源量を得るために, 人為的な手段を講じる必要がある。そこで本研究では, カギイバラノリの養殖技術開発における適正環境条件を把握するため, 室内培養実験によって, カギイバラノリの生長に及ぼす水温, 光強度, および窒素の種類ならびに濃度の影響を調査した。試験は, カギイバラノリの藻体を用いて実施した。水温と光強度の影響は, それぞれ 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 °C の 8 条件と 15, 50, 100, 150, 200, 250, 300 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (明期: 暗期=12L:12D) の 7 条件で検討した。窒素化合物の種別実験は, 硝酸態窒素区, アンモニア態窒素区, および対照区の 3 区で実施した。さらに, 最も良い結果が得られた条件に関して, 最適濃度の検討を行った。なお, 各実験は, 0 日目と 7 日目の湿重量の変化による相対生長速度によって影響を評価した。

水温の影響を検討した結果, 12°C と 30°C の相対生長速度は, それぞれ 0.9 と 5.1% day^{-1} であった。その一方で, 18~27°C の範囲では 8.6~11.5% day^{-1} となり, 八丈島の海水温 (18~26.6 °C) は, カギイバラノリの生長に至適であると判断した。また, 光強度の影響を検討した結果, 光強度 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以上において, 相対生長速度は, 11.2~17.9% day^{-1} であり, 50 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以下の相対生長速度と比較して高い値で算出された。八丈島の光量子密度は, 最低でも 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以上を記録しており, 光強度はカギイバラノリの生長を抑制する因子でないと考えられた。次に, 窒素化合物の種別実験を実施したところ, 3 区の中で最も高い相対生長速度は硝酸態窒素区の 11.0% day^{-1} であった。そこで, 硝酸態窒素濃度を 8 条件 (0, 5, 10, 100, 150, 200, 400 μM) とし, 相対生長速度に最適な濃度を検討した。その結果, 10~400 μM の添加区において, 7.9~10.2% day^{-1} の高い相対生長速度が算出された。しかしながら, 八丈島沿岸域の硝酸態窒素濃度は, 0.6~2.1 μM と報告されており, 低い硝酸態窒素濃度によってカギイバラノリの生長が抑制されている可能性が高い。以上の結果から, 八丈島沿岸域において, カギイバラノリの生長を抑制している因子は, 硝酸態窒素濃度であることが示唆された。

(3)マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計による使用済みコンタクトレンズケースから回収された微生物の迅速分類

角出 泰造, 豊原 恵, 野町 美弥, 角田 真央, 中田 和彦, 石原 康行
日本質量分析学会誌 57(4), 241-248 (2009).

レビュー：松脇 知典

Multipurpose Solution (MPS) は、ソフトコンタクトレンズ (SCL) のケアに必要な機能を 1 本に集約した簡便な消毒法である。しかしながら、SCL ユーザーにおける角膜感染症の事例では、細菌性感染症が多くを占めており、MPS の使用との関連性が指摘されている。一方で、近年、マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析法 (MALDI-TOF MS) は、細菌種を迅速に分類する手法として普及し始めている。そこで本研究では、レンズケースから回収した微生物を MALDI-TOF MS によって分類することを試みた。試料は、16 人の SCL ユーザーから回収したレンズケース中に残っている MPS とし、真菌生育用の SDA/Cm 培地と細菌生育用の SCDA 培地によって培養した。培養後に生育した計 659 株のコロニーを対象として分析した。また、得られた質量スペクトルは Biotyper 2.0 によってデータ解析を行い、分類できなかった菌株は遺伝子解析によって菌種を決定した。

コロニーの質量スペクトルを Biotyper 2.0 によって解析した結果、644 株 (細菌, 634 株; 真菌, 10 株) が種レベルまで分類された。その一方で、分類されなかった 15 株は、遺伝子解析によって科レベルで 1 株、属レベルで 10 株、および種レベルで 4 株分類された。今回の分析では、グラム陽性菌 (12 属, 34 種, 430 株)、グラム陰性菌 (5 属, 9 種, 215 株)、および真核生物 (3 属, 5 種, 14 株) が分類された。その中でも、*Bacillus subtilis* (305 株)、*Pseudomonas monteilii* (100 株)、*Pseudomonas libanensis* (100 株)、*Staphylococcus epidermidis* (39 株)、*Staphylococcus warneri* (25 株)、および *Rothia mucilaginosa* (21 株) が優占種であり、重大な角膜感染症を引き起こす菌種は検出されなかった。*Staphylococcus* 属菌 (*S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. capitis*, および *S. warneri*) は m/z 9600 付近に共通するピークが検出されたが、種に特有のピークも検出され、菌種を明確に分類することができた。*S. epidermidis* は、 m/z 3340, 4814, 5115, 6585, 6685, 8095, 9633, および 10235 にピークが検出された。これらの菌株を遺伝子解析し、データベースと照合したところ、*S. epidermidis* に 99~100% の相同性を示した。以上のことから、MALDI-TOF MS は、迅速かつ正確に微生物を分類することが可能であると示唆された。