

第 236 回雑誌会

(Nov 18, 2015)

(1) Physiological and biochemical response of seaweed *Gracilaria lemaneiformis* to concentration changes of N and P

Jiang, Y. and Yu-Feng, Y.

Journal of Experimental Marine Biology and Ecology **367**, 142-148 (2008).

Reviewed by K. Nakada

紅藻の *Gracilaria lemaneiformis* は、富栄養化した海において、生態系を正常化する生物として知られている。現在、*G. lemaneiformis* の生化学的反応についての研究の多くは、低濃度の N と P の存在下で実施されている。しかしながら、高濃度の N と P の存在下において、*G. lemaneiformis* の生理学的かつ生化学的反応の特徴ならびに耐性を調査した研究例は極めて少ない。そこで本研究では、N/P 濃度をそれぞれ 0/0, 50/3.13, 100/6.25, 200/12.5, 400/25, 600/37.5 $\mu\text{mol/L}$ の 6 条件とし、*G. lemaneiformis* の比増殖率、生化学的特徴、および抗酸化酵素の防御システムについて、それぞれの変化を室内培養で調べた。試験は、約 3 g の *G. lemaneiformis* の藻体を各 N/P 濃度に 15 日間曝露し、培養の 3, 7 および 15 日目に各項目を測定した。比増殖率は、生体重の変化から算出した。生化学的特徴に及ぼす影響は、フィコエリトリン (PE)、クロロフィル a (Chla)、および可溶タンパク質の 3 つの判定指標から評価した。抗酸化酵素の防御システムに及ぼす影響は、スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) の活性、ペルオキシターゼ (POD) の活性、カタラーゼ (CAT) の活性、およびマロンジアルデヒド (MDA) 量から評価した。

G. lemaneiformis の比増殖率を算出した結果、400/25 $\mu\text{mol/L}$ で比増殖率は最大となり、3, 7, および 15 日目での比増殖率は、対照区と比較して、それぞれ 149.62, 116.28, および 98.57% 増加した。ところが、最も高濃度の 600/37.5 $\mu\text{mol/L}$ では、比増殖率が著しく低下し、15 日目の比増殖率は対照区と比較して 252.53% 低下した。比増殖率と同様に、PE と Chla 量についても、全培養期間を通して、N/P 濃度が 400/25 $\mu\text{mol/L}$ のときに、PE と Chla 量が最大となった。抗酸化酵素の防御システムに及ぼす影響を検討したところ、比増殖率、PE、および Chla 同様に、SOD、POD、および CAT の活性は、400/25 $\mu\text{mol/L}$ の N/P 濃度で最大となり、600/37.5 $\mu\text{mol/L}$ では低下する傾向を示した。600/37.5 $\mu\text{mol/L}$ で各指標の値が低下する要因として、*G. lemaneiformis* の最大許容量を超えた N/P 濃度によって、*G. lemaneiformis* の細胞成分が損傷したためと考えられた。一方、MDA 量は、0/0 $\mu\text{mol/L}$ から 400/25 $\mu\text{mol/L}$ にかけて低下し、600/37.5 $\mu\text{mol/L}$ で増加する傾向を示した。以上の結果から、*G. lemaneiformis* の生長に対する N と P の閾値は、それぞれ 50-400 $\mu\text{mol/L}$ と 3.13-25 $\mu\text{mol/L}$ であることが示唆された。

(2) Use of MALDI-TOF mass spectrometry fingerprinting to characterize *Enterococcus* spp. and *Escherichia coli* isolates

Santos, T., Capelo, J. L., Santos, H. M., Oliveira, I., Marinho, C., Goncalves, A., Araujo, J.E., Poeta, P. and Igrejas, G.
Journal of Proteomics **127**, 321-331 (2015).

Reviewed by T. Matsuwaki

腸球菌と大腸菌は、多くの哺乳類、鳥類、爬虫類の腸管内における常在菌であり、ヒトへの感染症を引き起こす原因菌としても知られている。臨床現場における腸球菌と大腸菌の菌種同定試験は、生化学性状試験や分子生物学的手法が用いられる。しかしながら、これらの手法は、煩雑な処理や莫大なコストが必要となることから、迅速かつ低コストな同定技術の開発が望まれている。近年、イオン化飛行時間型質量分析計 (MALDI-TOF MS) は、細菌のリボソームタンパクの質量を測定することで菌種同定を行うことのできる手法として注目されている。そこで本研究では、MALDI-TOF MS を用いて、野鳥から単離した腸球菌と大腸菌を対象として菌種同定試験を行った。試料は、野鳥由来の腸球菌 (*E. faecalis* ; 18 株, *E. faecium* ; 15 株, *E. durans* ; 15 株, *E. hirae* ; 12 株) 合計 60 株と大腸菌 60 株とした。また、菌株は Brain Heart Infusion (BHI) 培地に生育したコロニーを MALDI-TOF MS によって解析し、マススペクトルを取得した。その後、菌種ごとに得られたマススペクトルについてクラスター解析と主成分分析法 (PCA) による統計解析を行い、マススペクトルの類似度を評価した。

すべての腸球菌株で、 m/z 4428 \pm 3 にピークが検出された。その一方で、大腸菌株からは検出されなかった。また、腸球菌を菌種別に見てみると *E. faecalis* , *E. faecium* および *E. hirae* は、種に特有のピークが検出された (*E. faecalis* ; m/z 6077 \pm 2 , 6857 \pm 1 , *E. faecium* ; m/z 6050 \pm 1 , 6888 \pm 2 , *E. hirae* ; m/z 6612 \pm 1 , 6844 \pm 1 および 7974 \pm 2)。しかし、*E. durans* は種に特有のピークは検出されなかった。クラスター解析によってマススペクトルの類似度を評価した結果、大腸菌は、単独のクラスターを形成した。しかし、腸球菌は、異なる菌種を含むクラスターを形成した。また、PCA によってマススペクトルの類似度を評価した結果、腸球菌と大腸菌は、属レベルで分類された。しかし、腸球菌の菌種レベルでは分類されなかった。これは、腸球菌種のマススペクトルの類似度が高かったためと推察された。以上のことから、MALDI-TOF MS は、腸球菌と大腸菌を属レベルで同定することが可能であると明らかになった。