

10-199

O

培養併用 *in situ* 蛍光ハイブリダイゼーション法による *Campylobacter jejuni* 及び *Campylobacter coli* の迅速検出

○澤辺 智雄¹、吉澤 愛¹、澤辺 桃子²、大坪 雅史³、伊藤 武⁴

¹北大院水産科学、²函館短大食物栄養、³道工技センター、⁴東京顕微鏡院

【目的】カンピロバクターは食中毒菌として、近年、最も報告例が多い。特に *Campylobacter jejuni* 及び *C. coli* が食中毒の原因として重要である。本菌群の一般的な検出は性状検査によるが、その同定は容易ではなく平均で4~5日を費やす。本研究では *C. jejuni* 及び *C. coli* の検出を迅速化するため、我々が開発した培養併用 FISH 法を本菌の検出に応用した。

【方法】*C. jejuni* 及び *C. coli* を含む 10 種の *Campylobacter* などを供試し FISH プローブの特異性を評価した。カンピロバクターの培養には 5% 脱繊維馬血液を添加したブルセラ寒天培地を用いた。

【結果と考察】高温性カンピロバクター検出プローブとして CP3m、*C. lari* の検出プローブとして LA71 を設計し、それぞれ FITC 及び TAMRA で標識した。また、特異性を高めるため競合オリゴヌクレオチド CompCP3 を設計した。*C. jejuni* 及び *C. coli* の特異検出には CP3m:LA71:CompCP3 を 1:1:5 のモル比で混合した 30% フォルムアミド添加緩衝液を用いることが適していた。このプローブ混合液と 42°C での微小集落形成培養により、生きている *C. jejuni* 及び *C. coli* と *C. lari* を区別して検出することができた。新鮮菌体であれば 12-14 時間で mCCDA 基礎寒天平板培地に直径 50-80 mm の集落を形成した。このデュアルプローブを用いた培養併用 FISH 法により *C. jejuni* 及び *C. coli* の検出を 1 日以内に短縮できた。

sawabe@fish.hokudai.ac.jp

10-200

K

附着性細菌とゴエモンコシオリエビにおける化学独立栄養的共生の証明

○和辻 智郎¹、中川 聡¹、土田 真二²、北田 貢³、高井 研¹

¹JAMSTEC 極限、²JAMSTEC 生態、³新江ノ島水族館

(目的) 微生物が附着するための特殊外部器官を持つ動物が深海底熱水域に棲息するゴカイや巻貝やエビの一部で知られている。また、それらの附着性微生物はいくつかの共通した近縁種で占められていることが近年明らかになってきた。しかしながら、優占種の附着性微生物の分離培養に至っていないために、それらの役割は深海底研究が始まって以来、30 年間謎のままである。そこで、我々は微生物が高密度に附着した腹足剛毛を持つエビ、ゴエモンコシオリエビを研究対象とし、附着性微生物の生理学的役割を調べることを目的とした。

(方法) 化学合成細菌は、熱水に含まれる硫黄化合物や水素などの還元物質を利用して炭酸固定を可能とすることが知られている。そのため、還元物質と ¹³C₂O₂ を添加した人工海水でゴエモンコシオリエビを 48 時間インキュベーションし、その附着微生物が炭酸固定できるかを、炭素安定同位体比分析装置を用いて解析した。また、インキュベーションされた宿主の肉の炭素安定同位体比を解析し、附着微生物が炭酸固定した場合の炭素源を宿主が受け取っているかを調べた。

(結果・考察) インキュベーション前後の附着微生物と宿主の肉の炭素安定同位体比を分析すると、明確に ¹³C₂O₂/¹²C₂O₂ 比が高まることが示された。この結果は、附着性微生物の少なくとも一部は化学合成細菌であり、それら附着微生物によって固定化された炭素の一部は宿主に与えられることを意味する。ゆえに、附着微生物とゴエモンコシオリエビの間には化学独立栄養的共生関係が成立していると考えられた。

watsuji@jamstec.go.jp