

27E-am09S

MALDI Biotyper を用いたラン藻類の分類・同定

○中山 卓真¹, 明壁 博彦¹, 原田 健一^{1,2}, 今西 進¹(¹名城大薬, ²名城大院総合学術)

【目的】湖沼やダムではしばしばラン藻類が大量発生し、異臭や microcystin などの毒素が問題となる。Microcystin は強い肝毒性を有しており、水道水への混入による死亡事例が報告されている。我々は、繁殖しているラン藻類の種を簡便・迅速に判別することができれば、種ごとの対策が容易になるのではないかと考えた。そこで、現在細菌の迅速同定に用いられている MALDI Biotyper を応用し、ラン藻類の同定を試みた (Imanishi *et al.*, RCM, *in press*)。

【方法】ラン藻培養液、もしくは南知多県立自然公園内の池から採取した水、それぞれ 1 mL 使用した。HDMI デジタルマイクロスコープ及び Motic Images Plus 2.3S (島津理化) を用いて細胞数を測定した。13,000 rpm で 2 分間遠心し、沈殿した細胞に水を加えることで 160,000 cells/ μ L に調整した。サンプル 1 μ L を HCCA マトリックスを用いて、MALDI-TOF 型質量分析計 Autoflex Speed 及び MALDI Biotyper Compass (Bruker) で測定を行った。得られたスペクトルは flexAnalysis (Bruker) で解析し、MALDI Biotyper Compass Explorer (Bruker) を用いてライブラリ作成、それによる系統樹解析及び同定を行った。

【結果・考察】*Microcystis* 属 12 種, *Anabaena* 属 7 種, *Pseudanabaena* 属, *Planktothrix* 属及び *Synechocystis* 属各 1 種を測定し、ライブラリを作成した。MBT Compass Explorer を用いて作成した系統樹では、同じ属のラン藻がそれぞれ系統的に近くなった。池の水をサンプルとして測定したところ、得られたスペクトルは *Anabaena* 属のものに近く、顕微鏡で確認した細胞も *Anabaena* 属のものに近い特徴を備えており、MALDI Biotyper の同定能は高いと考えられた。