

- 伝的近縁菌株の識別解析、日本薬学会第131年会 (2011, 3)
- 9) 杉浦 友香、廣野 泰亮、室井 正志、棚元 憲一：光散乱エンドトキシン測定法における攪拌回転速度の検討、日本薬学会第131年会 (2011, 3)
- 10) N. Yamaguchi, Y. Uebayashi, M. Torii and M. Nasu: Rapid enumeration of *Legionella pneumophila* in aquatic environment by using a microfluidic device, ASM 2010 General Meeting (2010, 5)
- 11) T. Baba, K. Tani, N. Yamaguchi and M. Nasu: Inactivation of bacteria in aquatic environment by momentary decompression following high pressurization, ASM 2010 General Meeting (2010, 5)
- 12) T. Ichijo, Y. Izumi, N. Yamaguchi and M. Nasu: Rapid detection of respiratory active *Mycobacteria* by multicolor imaging, ASM 2010 General Meeting (2010, 5)
- 13) T. Ichijo, Y. Izumi, N. Yamaguchi and Masao Nasu: Rapid enumeration of respiratory active *Mycobacteria* with fluorescent double staining, ISME-13 (2010, 8)
- 14) T. Ichijo, T. Baba, N. Yamaguchi and M. Nasu: Estimation of abundance of bacteria on Asian dust by quantitative PCR, ISME-13 (2010, 8)
- 15) N. Yamaguchi, Y. Uebayashi, M. Torii and M. Nasu: Rapid monitoring of *Legionella pneumophila* in aquatic environment by using a microfluidic device, ISME-13 (2010, 8)
- 16) 一條 知昭, 和泉 陽子, 中本 小百合, 山口 進康, 那須 正夫: Auramine O-CTC 二重染色法の呼吸活性をもつ MAC (*Mycobacterium avium complex*) の迅速検出への応用、フォーラム2010: 衛生薬学・環境トキシコロジー (2010, 9)
- 17) 一條 知昭, 馬場 貴志, 山口 進康, 那須 正夫: 黄砂とともに飛来する細菌の現存量、フォーラム2010: 衛生薬学・環境トキシコロジー (2010, 9)
- 18) 山口 進康, 石原 理絵, 大野 愛子, 那須 正夫: 粘着集菌シートを用いた国際宇宙ステーション日本実験棟「きぼう」における細菌モニタリング、フォーラム2010: 衛生薬学・環境トキシコロジー (2010, 9)
- 19) 馬場 貴志, 谷 佳津治, 山口 進康, 那須 正夫: 連続的な加圧・減圧処理による細菌の不活化、日本温泉科学会第63回大会 (2010, 9)
- 20) 馬場 貴志, 谷 佳津治, 山口 進康, 那須 正夫: 連続的な加圧・減圧処理による細菌の不活化、第100回日本食品衛生学会学術講演会 (2010, 9)
- 21) 山口 進康, 那須 正夫: 細菌迅速検出法の現状と課題、日本防菌防黴学会第37回年次大会 (2010, 9)
- 22) 馬場 貴志, 谷 佳津治, 山口 進康, 那須 正夫: 連続的な加圧・減圧処理による細菌の不活化、日本防菌防黴学会第37回年次大会 (2010, 9)
- 23) N. Yamaguchi, T. Ichijo, Y. Himesawa, K. Enoki, M. Saraya, T. Baba and M. Nasu: Abundance and population structure of

- bacteria on Asian dust determined by PCR-based approaches, 4th International Symposium on Environment of Rim of the Japan/East Sea (2010, 10)
- 24) 山口 進康, 松川 周平, 新留 洋子, 那須 正夫: マイクロチップ電気泳動を用いた水環境中の細菌群集プロファイリング、日本微生物生態学会第26回大会 (2010、11)
- 25) 馬場 貴志, 一條 知昭, 更家 信, 榎木 香奈美, 山口 進康, 那須 正夫: 黄砂とともに飛来する細菌の多様性、日本微生物生態学会第26回大会 (2010、11)
- 26) 一條 知昭, 馬場 貴志, 姫澤 由佳, 山口 進康, 那須 正夫: 黄砂とともに飛来する細菌の現存量、日本微生物生態学会第26回大会 (2010、11)
- 27) 山口進康, 稗田はつき, 一條知昭, 那須正夫: 国際宇宙ステーションから回収した機器における細菌の現存量、第27回宇宙利用シンポジウム (2011、1)
- 28) N. Yamaguchi, T. Ichijo and M. Nasu: A new sampling device, “microbe-collecting adhesive sheet”, for sampling microbial cells on solid dry surfaces, *Geobiology in Space Exploration* (2011, 2)
- 29) 高木 達也, 川下 理日人, 白国優子, 平井 啓, 服部 千鶴子, 岡本 晃典, 藤原 拓也, 山口 進康, 那須 正夫: サリドマイド安全使用のための薬剤管理に関する調査 —その2—、日本薬学会第131年会 (2011、3)
- 30) 白國 優子, 藤原 拓也, 須磨 一夫, 平井 啓, 服部 千鶴子, 岡本 晃典, 川下 理日人, 山口 進康, 那須 正夫, 高木 達也: 要管理医薬品の回収・指導に関する調査、日本薬学会第131年会 (2011、3)
- 31) 山口 進康, 石原 理絵, 大野 愛子, 那須 正夫: 粘着集菌シートを用いた国際宇宙ステーション「きぼう」の細菌モニタリング、日本薬学会第131年会 (2011、3)
- 32) 山口 進康, 井口 洋平, 那須 正夫: マイクロ流路システムを用いた水環境中の細菌の迅速モニタリング、日本薬学会第131年会 (2011、3)
- 33) 山口 進康, 稗田 はつき, 一條 知昭, 那須 正夫: 国際宇宙ステーション内で使用されていた画像変換システム内部における細菌現存量、日本薬学会第131年会 (2011、3)
- 34) 一條 知昭, 和泉 陽子, 中本 小百合, 山口 進康, 那須 正夫: 住環境における非結核性抗酸菌の動態解明、日本薬学会第131年会 (2011、3)
- 35) 馬場 貴志, 姫澤 由佳, 一條 知昭, 山口 進康, 那須 正夫: レーザー顕微鏡を用いた黄砂粒子に付着している微生物の可視化、日本薬学会第131年会 (2011、3)
- 36) 一條 知昭, 馬場 貴志, 迫谷 有希子, 谷 佳津治, 山口 進康, 那須 正夫: 黄砂現象に伴って移動する細菌の現存量、日本薬学会第131年会 (2011、3)
- 37) 馬場 貴志, 更家 信, 一條 知昭, 山口 進康, 那須 正夫: 黄砂現象に伴って移動する細菌の多様性、日本薬学会第131年会 (2011、3)

- 38) 馬場 貴志, 榎木 香奈実, 一條 知昭,  
山口 進康, 那須 正夫: 増殖活性にも  
とづいた黄砂現象に伴って移動する  
細菌の系統解析、日本薬学会第 131 年  
会 (2011、3)
- 39) 藤村 真穂, 吉岡 靖雄, 山下 浩平,  
東阪 和馬, 森下 裕貴, 藩 慧燕, 小  
椋 健正, 鍋師 裕美, 吉川 友章, 伊  
藤 徳夫, 馬場 貴志, 山口 進康, 那  
須 正夫, 堤 康央: 黄砂の健康リスク  
評価を目指した免疫毒性学的解析、日  
本薬学会第 131 年会 (2011、3)
- 40) 杉浦 友香, 廣野 泰亮, 室井 正志,  
棚元 憲一: 光散乱エンドトキシン測  
定法分析法バリデーション、日本防菌  
防黴学会第 38 回年次大会 (2011、8)
- 41) 室井 正志, 島 圭介, 中川 恭好,  
棚元 憲一: マトリックス支援レーザ  
ー脱離イオン化質量分析法による遺  
伝的近縁菌株の識別解析、日本防菌防  
黴学会第 38 回年次大会 (2011、8)
- 42) Masashi Muroi and Ken-ichi Tanamoto:  
IRAK-1-mediated negative regulation of  
Toll-like receptor signaling,  
International Union of Microbiological  
Societies 2011 Congress (2011, 9)
- 43) Sugiyama, K., Kinoshita, M., Minai, Y.,  
Muroi, M., Tanamoto, K. and  
Sugita-Konishi, Y: Trichothecene  
mycotoxins inhibit MyD88-independent  
pathways of Toll-like receptors, 9th Joint  
Meeting of ICS-ISICR (2011, 10)
- 44) 北島孝明, 室井正志, 山下直美,  
棚元憲一: ダニアレルゲンの自然免疫  
応答に及ぼす影響、第 85 回日本細菌  
学会総会 (2012, 3)
- 45) 林原 紀明, 田村 直樹, 渡辺 恵,  
室井 正志, 畑尾史彦 瀬戸泰之 棚  
元 憲一: ミクログリア細胞における  
Toll-like receptor の発現及び炎症性応  
答、第 85 回日本細菌学会総会 (2012, 3)

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

添付資料1

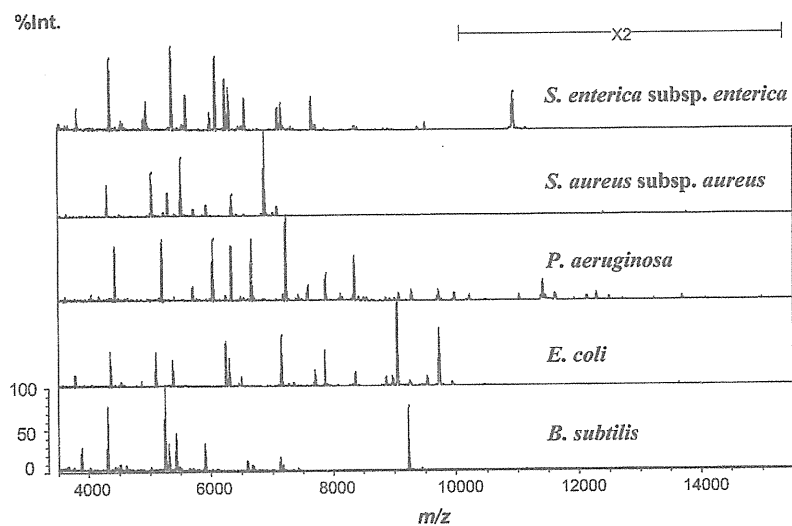


図1 *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*: NBRC 3134)、*Escherichia coli* (*E. coli*: NBRC 3972)、*Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*: NBRC 13275)、*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (*S. aureus*: NBRC 13276)、*Salmonella enterica* subsp. *enterica* (*S. enterica*: NBRC 100797)から得られた MALDI spectra

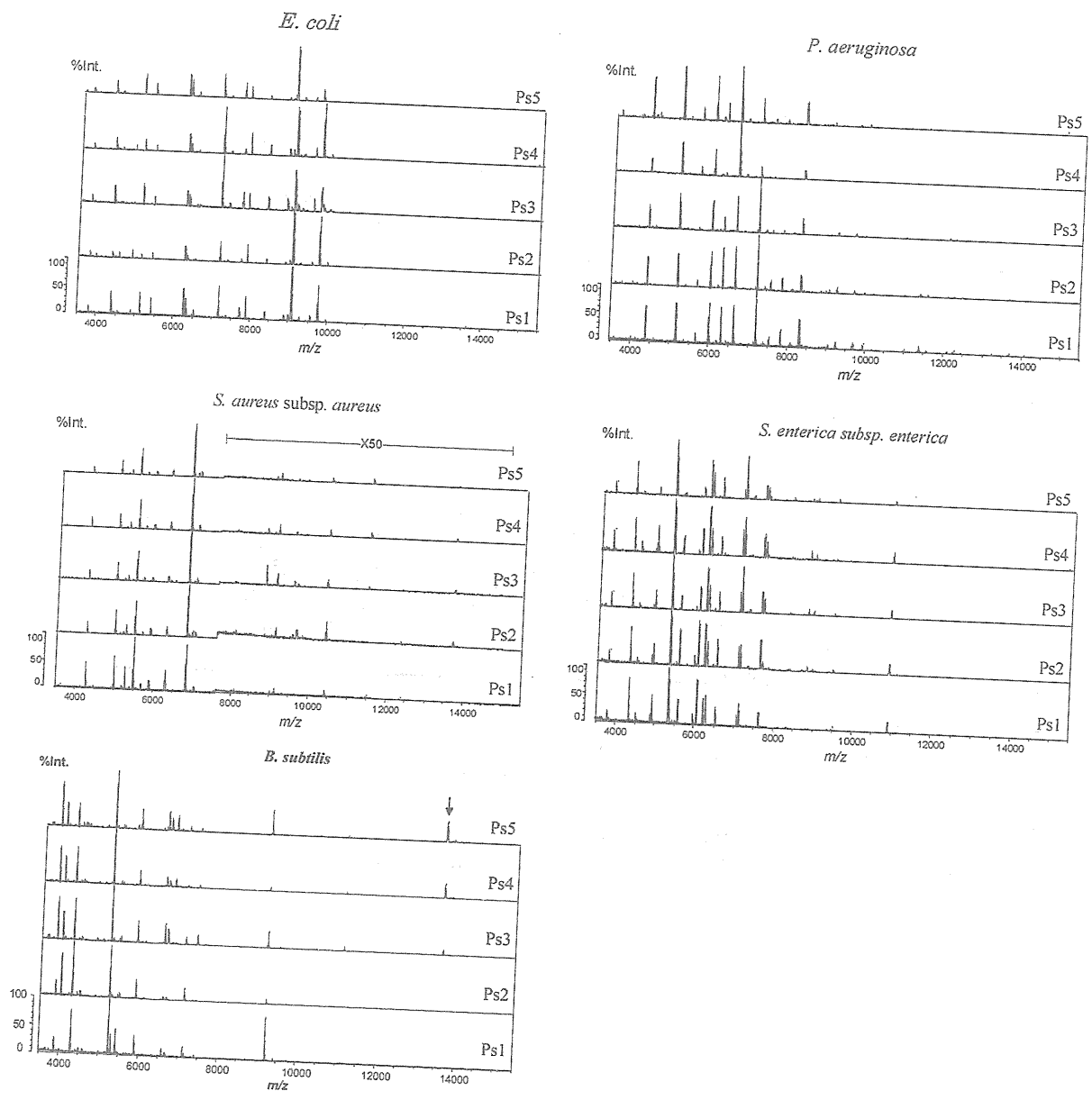


図2 MALDI spectra に与える継代 (Ps) の影響

*E. coli*

Ps1		Ps2		Ps3		Ps1-6	
平均値(m/z)	標準偏差	平均値(m/z)	標準偏差	平均値(m/z)	標準偏差	平均値(m/z)	標準偏差
6256.16	0.48	6256.95	0.34	6256.28	0.72	6256.33	0.34
7272.76	0.59	7274.12	0.58	7272.46	0.24	7272.86	0.64
8326.18	0.58	8327.16	0.42	8325.89	0.41	8326.18	0.52
9739.69	0.76	9740.93	0.66	9739.90	0.52	9739.94	0.49
11184.63	0.91	11186.30	1.13	11185.56	0.88	11185.20	0.64
Ps4		Ps5		Ps6			
平均値(m/z)	標準偏差	平均値(m/z)	標準偏差	平均値(m/z)	標準偏差		
6256.50	0.27	6256.03	0.59	6256.08	0.55		
7272.87	0.28	7272.46	0.33	7272.48	0.60		
8326.23	0.34	8325.78	0.41	8325.81	0.59		
9739.72	0.39	9739.77	0.43	9739.63	0.71		

*B. subtilis*

Ps1		Ps2		Ps3		Ps1-6	
平均値(m/z)	標準偏差	平均値(m/z)	標準偏差	平均値(m/z)	標準偏差	平均値(m/z)	標準偏差
5257.32	0.78	5257.89	0.60	5257.51	0.83	5257.57	0.28
6601.84	0.90	6602.11	0.54	6601.58	0.90	6601.75	0.35
9210.83	1.73	9211.47	0.71	9210.79	0.88	9211.00	0.45
11145.74	1.84	11146.57	0.71	11145.24	1.23	11145.61	0.77
-	-	13675.62	1.82	13671.70	1.57	13672.30	2.03
Ps4		Ps5		Ps6			
平均値(m/z)	標準偏差	平均値(m/z)	標準偏差	平均値(m/z)	標準偏差		
5257.90	0.86	5257.55	0.96	5257.25	0.37		
6602.13	1.06	6601.64	0.88	6601.22	0.31		
9211.62	1.44	9210.87	1.16	9210.42	0.39		
11146.36	1.98	11145.22	1.37	11144.51	0.57		
13672.62	2.76	13671.27	1.78	13670.30	0.75		

図3 *m/z* 値の繰り返し再現性および継代による再現性 (1-6 継代のサンプルをそれぞれ9回の測定を行った)

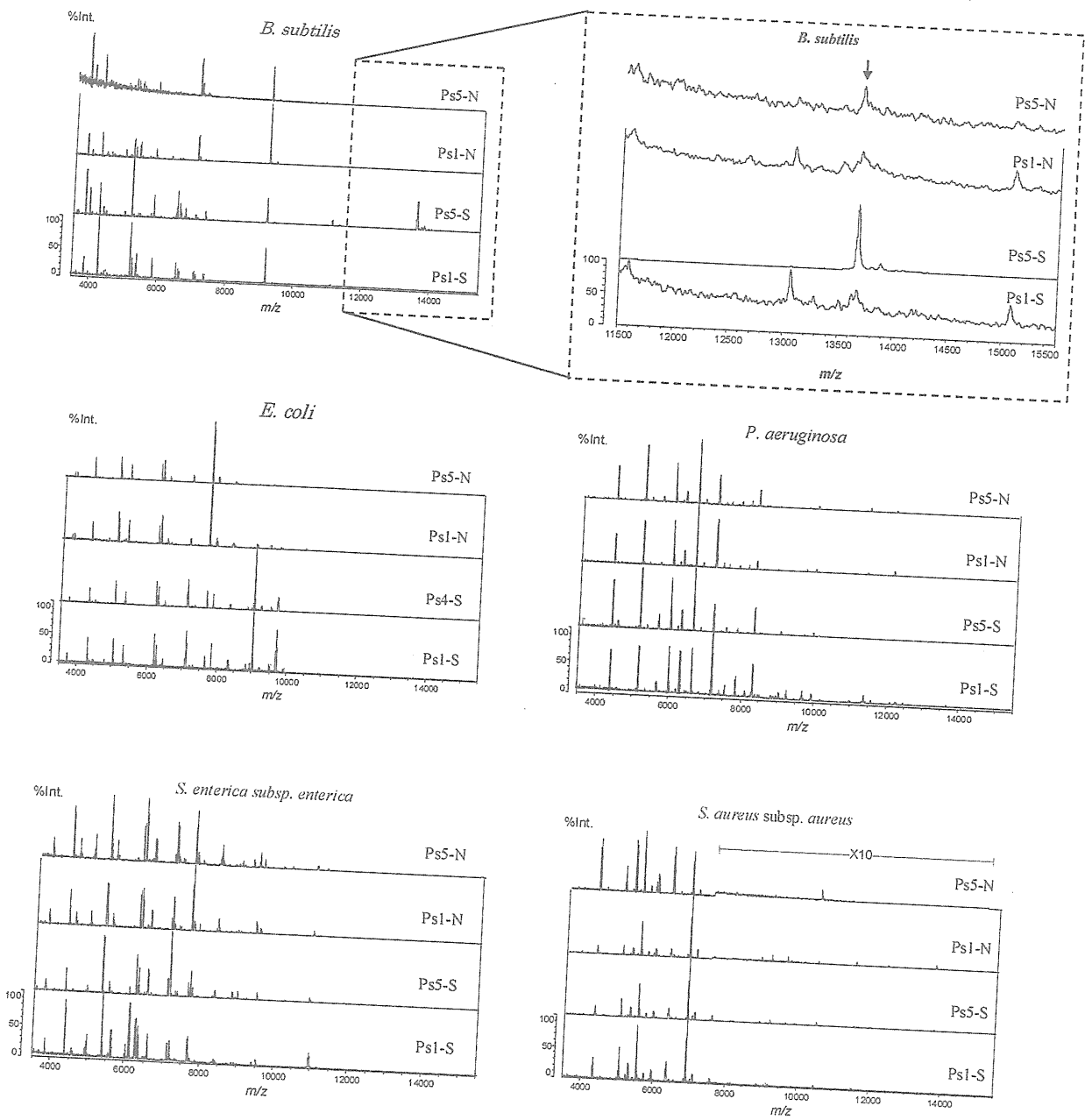


図 4 MALDI spectra に与える培地の影響 (N: Nutrient broth; S: SCD)

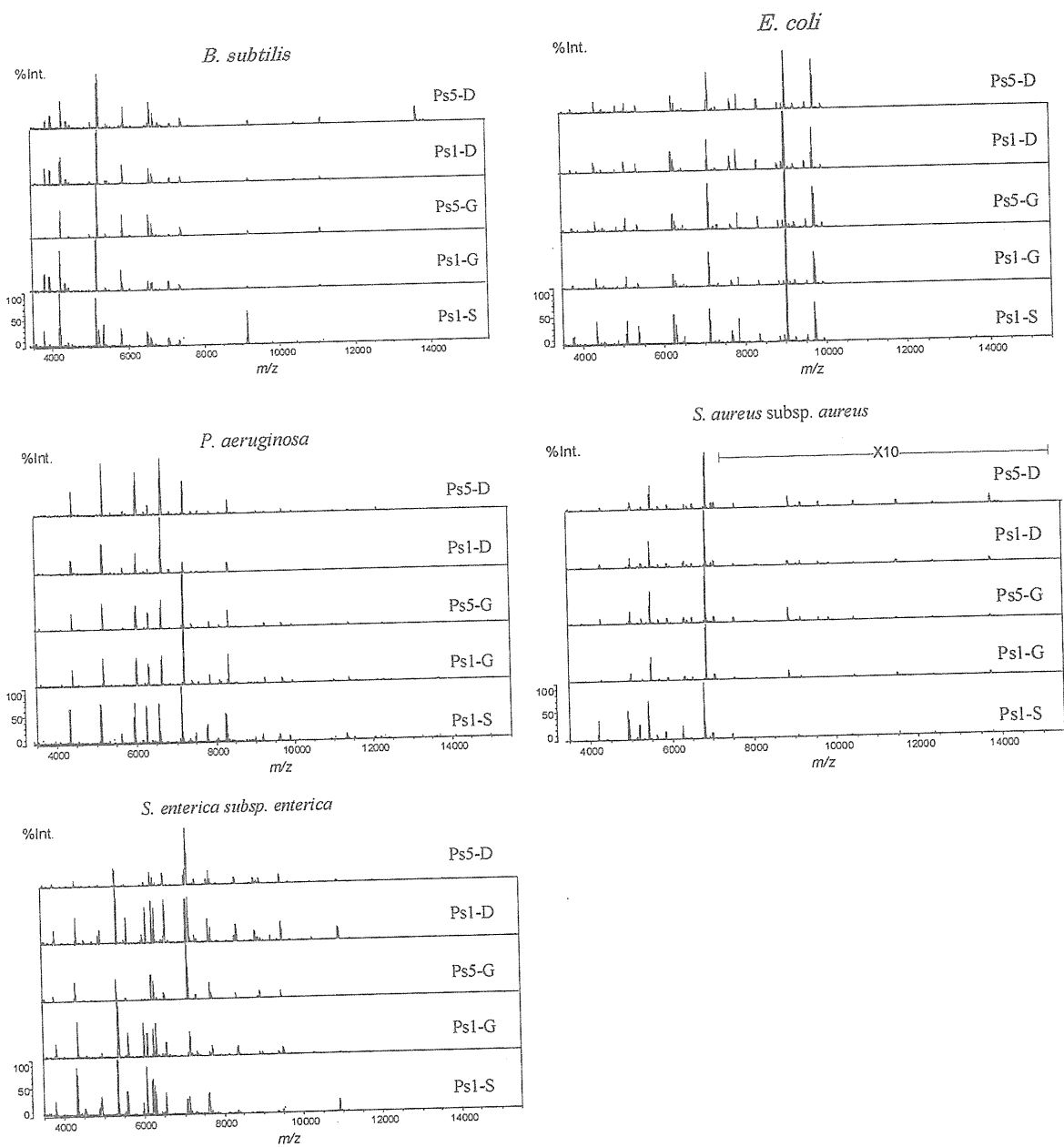
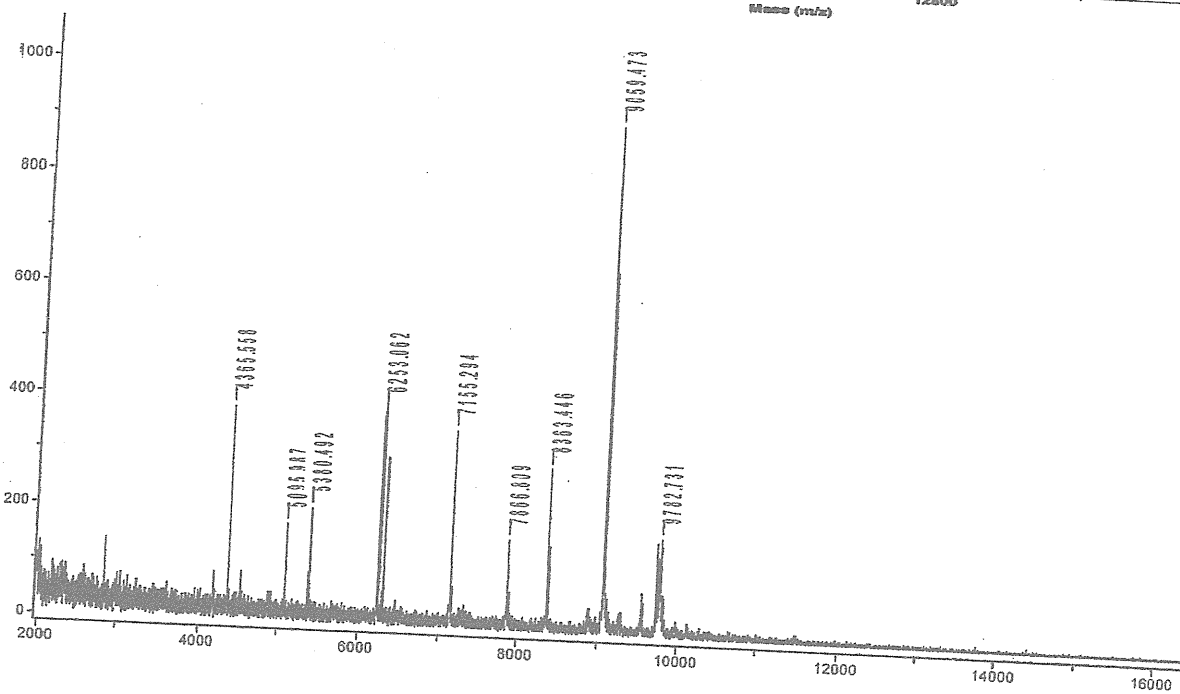
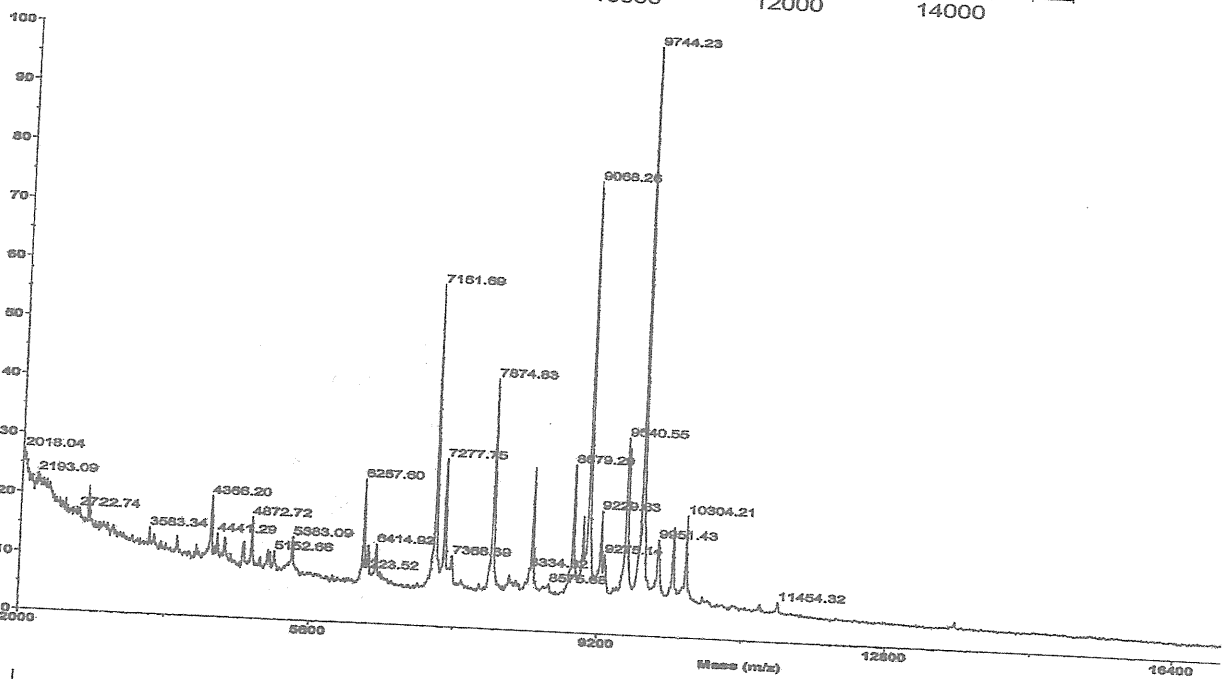
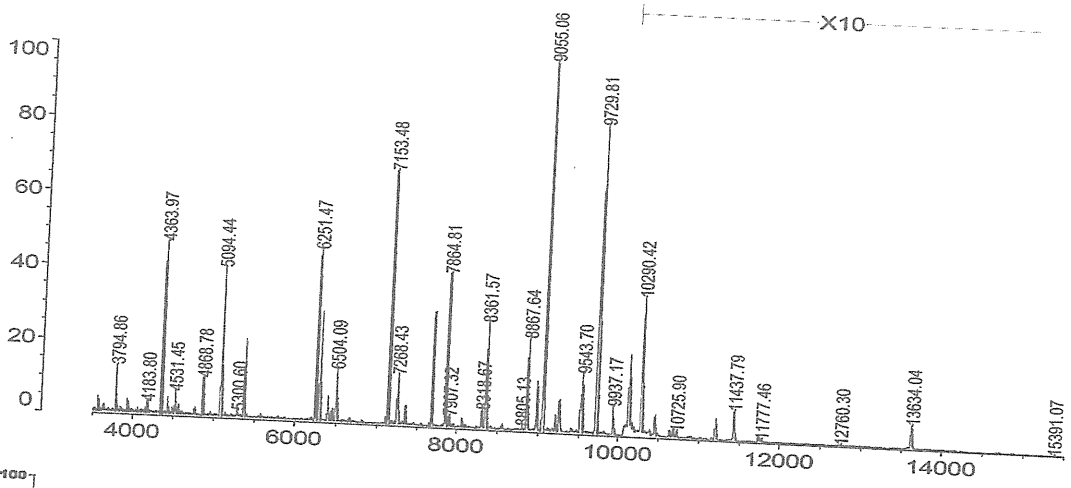


図5 MALDI spectra に与える保存法の影響

SCD 液体培地+12% glycerol (G)または SCD 液体培地+8% DMSO (D)を用いて凍結保存した1継代目 (Ps1) と5継代目 (Ps5) を融解し、それぞれ SCD 培地で培養した





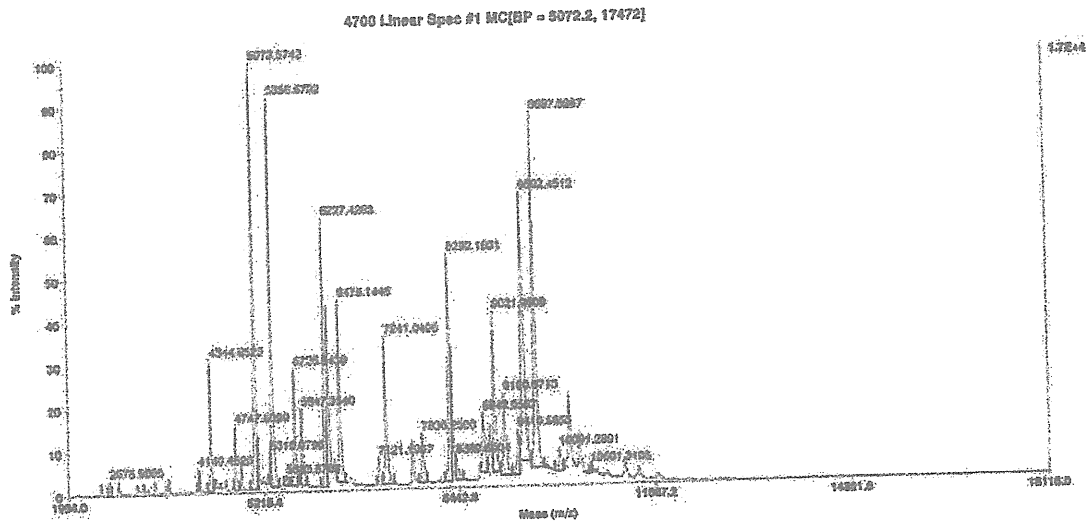


図6 *Escherichia coli* (*E. coli*: NBRC 3972)から得られたMALDI spectra。A: A 研究所、B: B 研究所、C: C 研究所、D: D 研究所でのマススペクトルプロファイル。

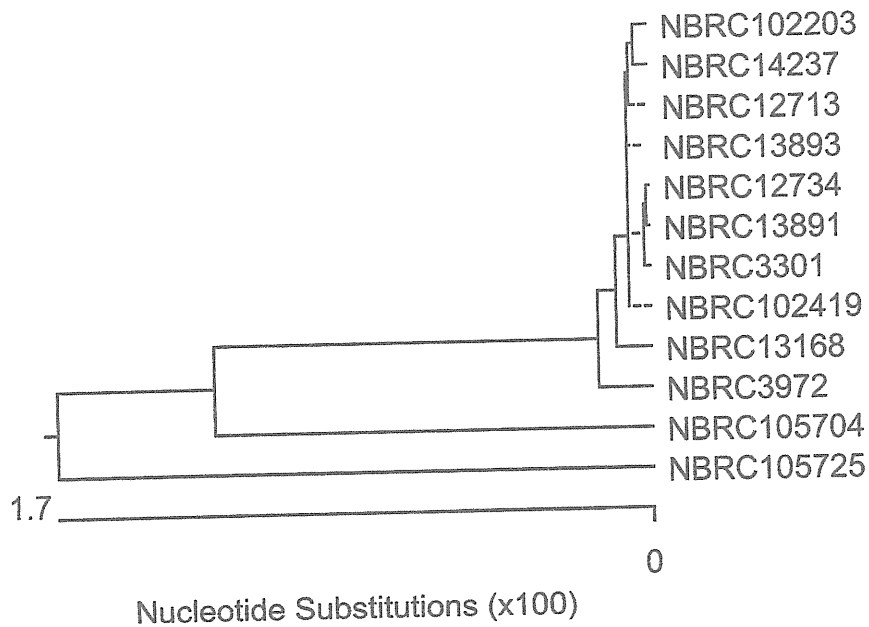


図7 *E. coli* (NBRC 3301, NBRC 3972, NBRC 12713, NBRC 12734, NBRC 13168, NBRC 13891, NBRC 13893, NBRC 14237, NBRC 102203), *E. blattae* (NBRC 105725), *E. fergusonii* (NBRC 102419), および *E. hermanii* (NBRC 105704)の16S rRNA 配列 (1467 bp) の系統樹解析。

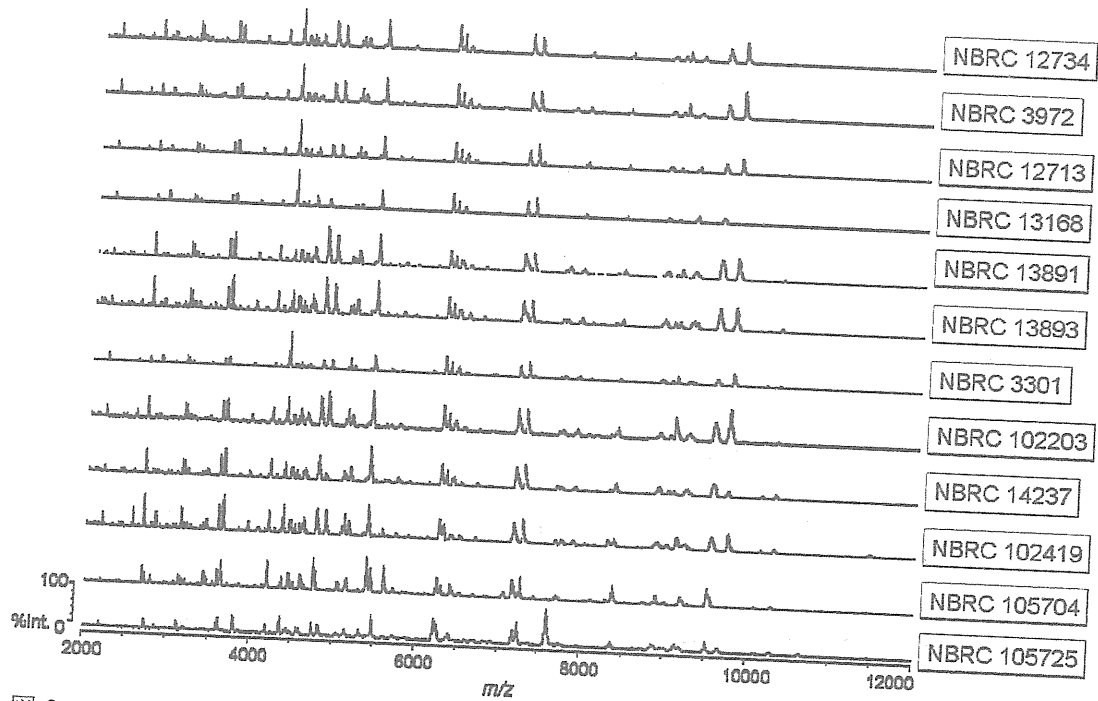


図 8 *E. coli* (NBRC 3301, NBRC 3972, NBRC 12713, NBRC 12734, NBRC 13168, NBRC 13891, NBRC 13893, NBRC 14237, NBRC 102203), *E. blattae* (NBRC 105725), *E. fergusonii* (NBRC 102419), および *E. hermanii* (NBRC 105704) から得られたマススペクトルプロファイル。

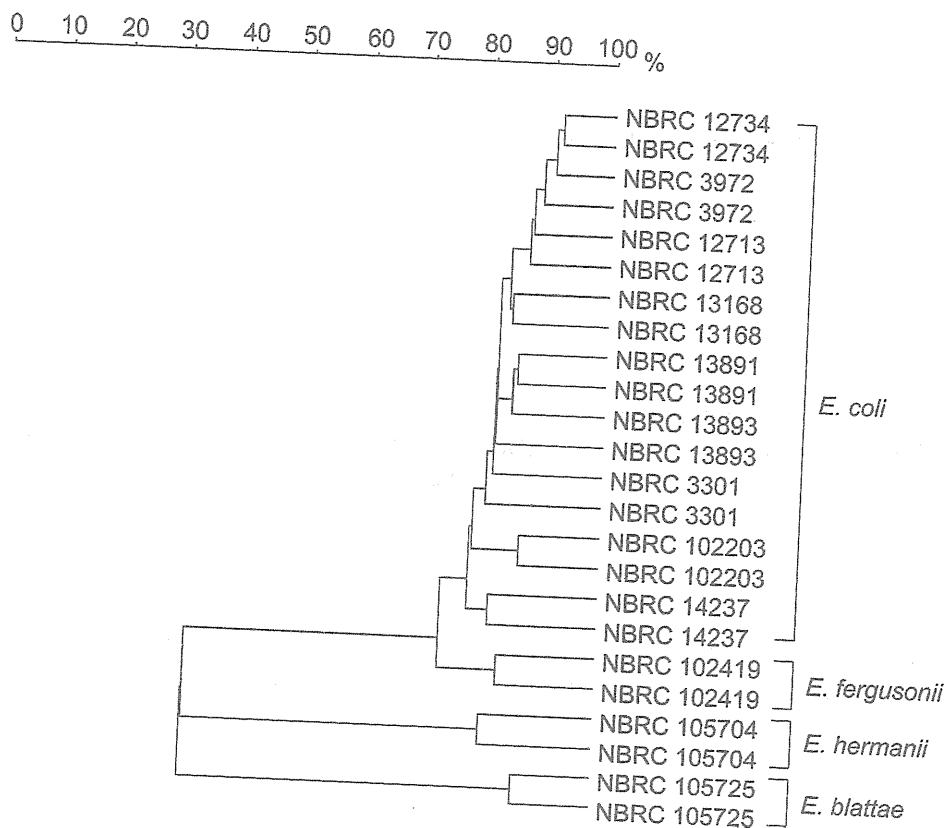


図 9 マススペクトルプロファイルのクラスター解析。それぞれの菌株の解析は duplicate で行った。

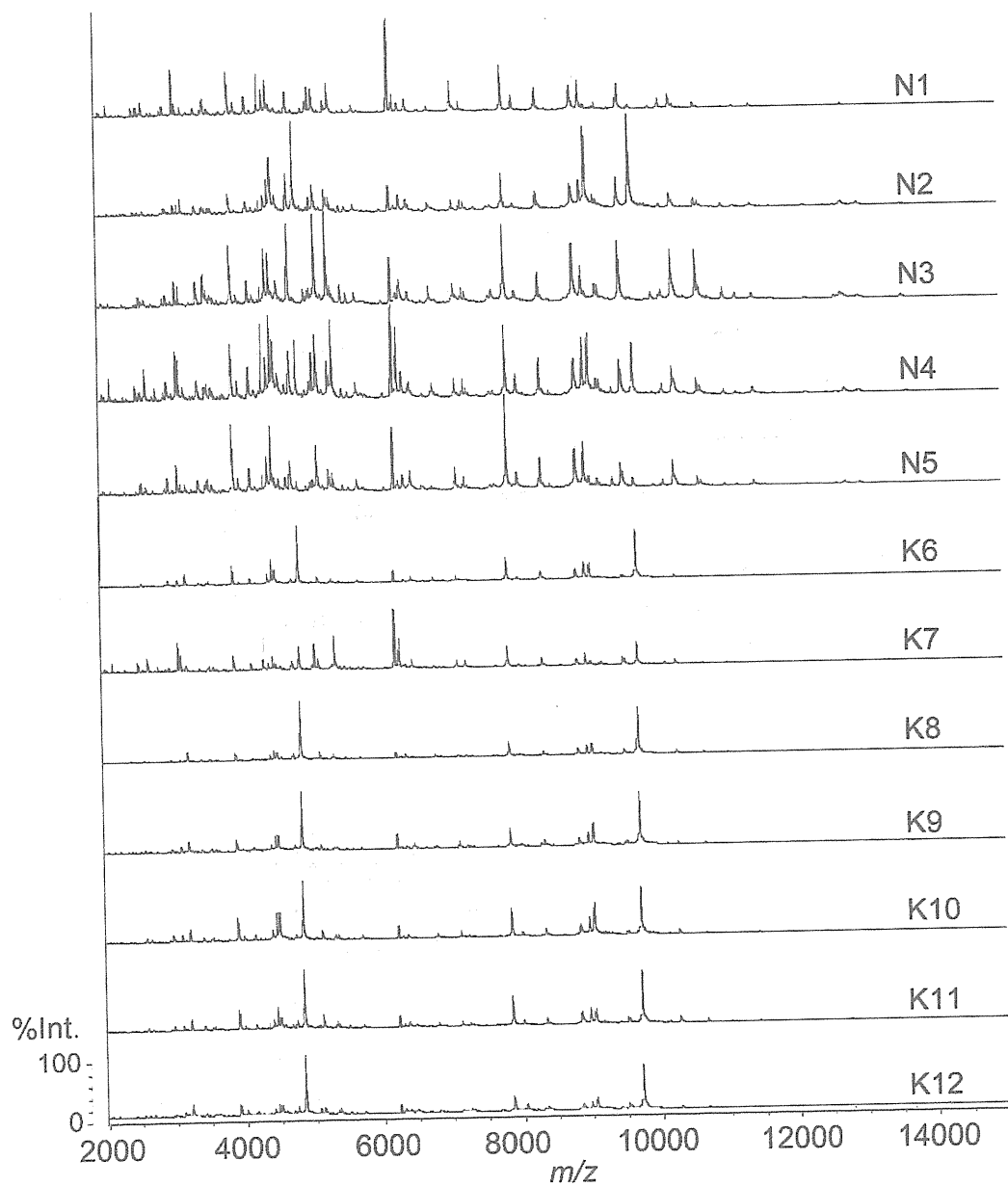


図 10 *Escherichia coli* NIHJ 株 (N1) またはこれから作成した薬剤耐性株 (N2-N5) および *Escherichia coli* K-12 株 (K6) またはこれから作成した薬剤耐性株 (K7-K12) から得られた MALDI spectra。

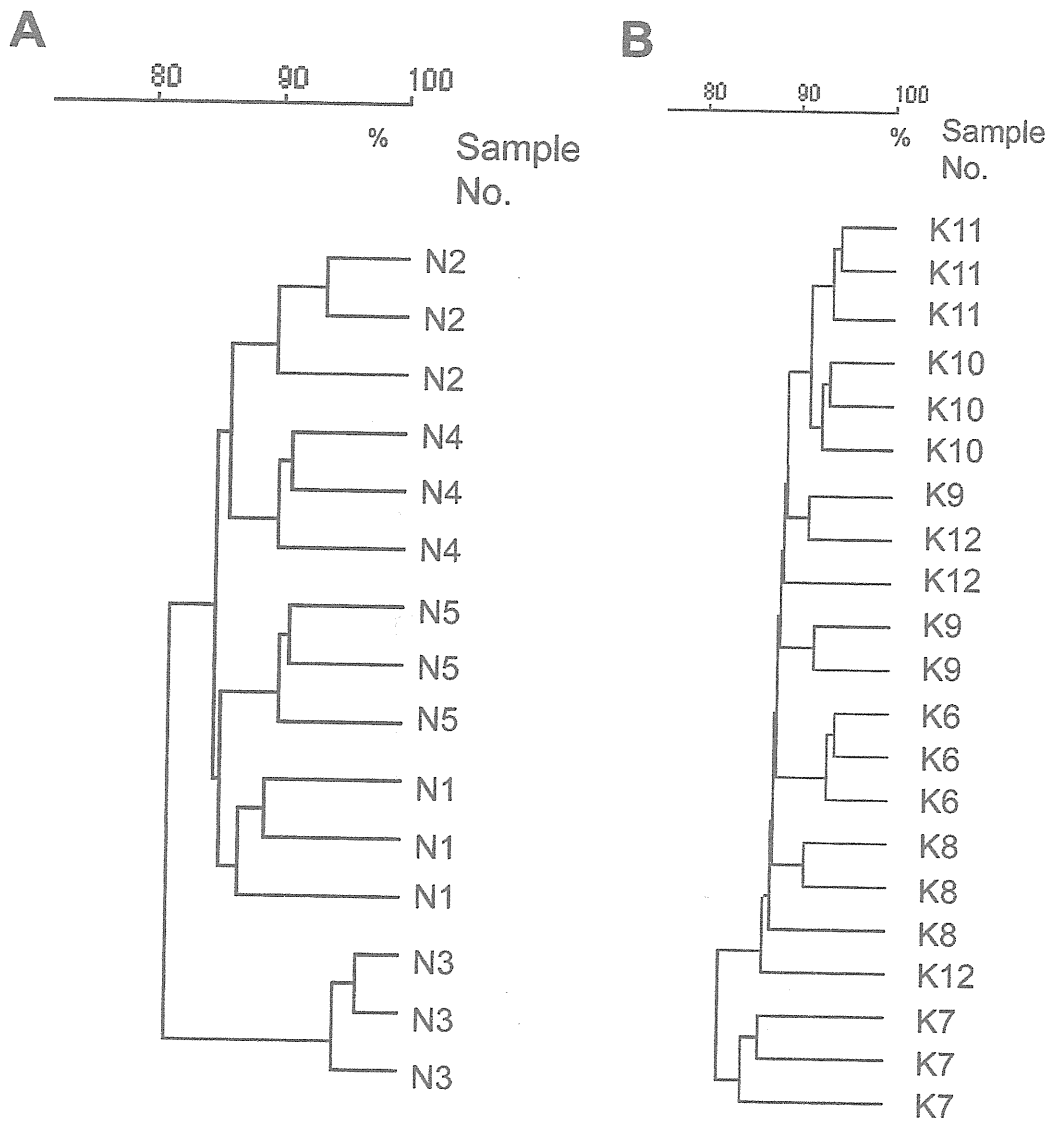


図 11 *Escherichia coli* NIHJ 株 (N1) またはこれから作成した薬剤耐性株 (N2-N5) および *Escherichia coli* K-12 株 (K6) またはこれから作成した薬剤耐性株 (K7-K12) から得られた MALDI spectra の系統樹解析。

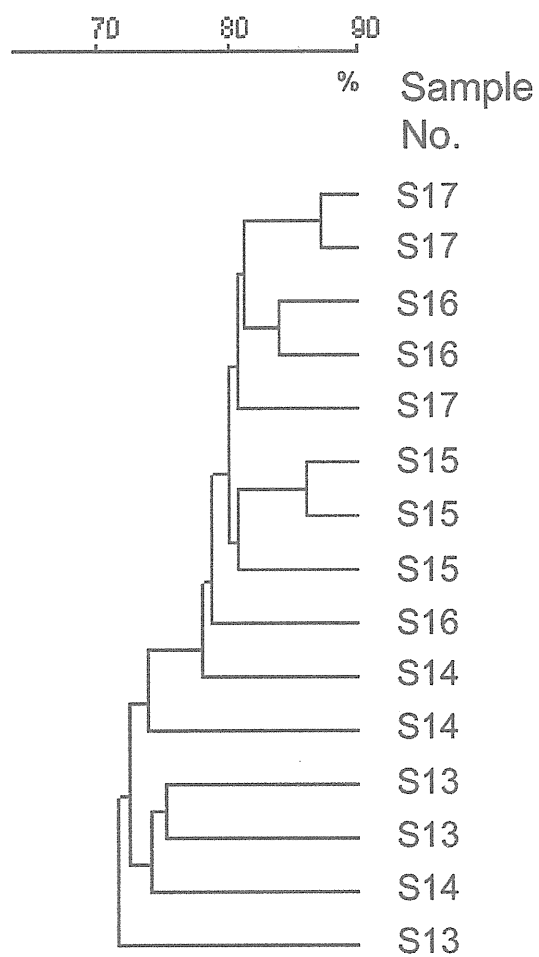


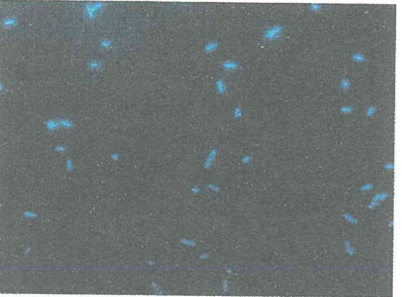
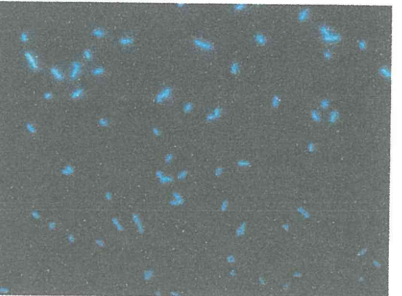


図 12 *Staphylococcus aureus* Smith 株 (S13) またはこれから作成した薬剤耐性株 (S14-S17) から得られた MALDI spectra の系統樹解析。

画像	計数值 (0.1×0.1mm <sup>2</sup> あたり)	ろ過量 (mL)	細菌数 (cells/mL)
	4.95	1 10 100 200 500 1000	$1.03 \times 10^5$ $1.03 \times 10^4$ $1.03 \times 10^3$ $5.20 \times 10^2$ $2.10 \times 10^2$ $1.03 \times 10^2$
	25.8	1 10 100 200 500 1000	$5.42 \times 10^5$ $5.42 \times 10^4$ $5.42 \times 10^3$ $2.71 \times 10^3$ $1.08 \times 10^3$ $5.42 \times 10^2$
	55.1	1 10 100 200 500 1000	$1.16 \times 10^6$ $1.16 \times 10^5$ $1.16 \times 10^4$ $5.30 \times 10^3$ $2.32 \times 10^3$ $1.16 \times 10^3$
	76.2	1 10 100 200 500 1000	$1.60 \times 10^6$ $1.60 \times 10^5$ $1.60 \times 10^4$ $8.00 \times 10^3$ $3.20 \times 10^3$ $1.60 \times 10^3$

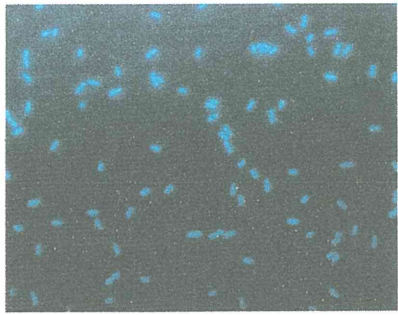
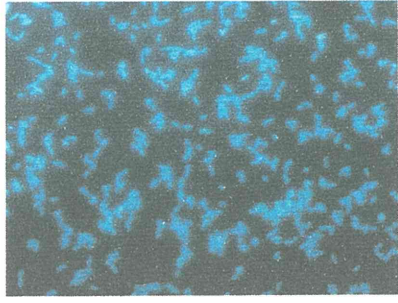


	109.0	1	$2.29 \times 10^6$
		10	$2.29 \times 10^5$
		100	$2.29 \times 10^4$
		200	$1.15 \times 10^4$
		500	$4.58 \times 10^3$
		1000	$2.29 \times 10^3$
	162.9	1	$3.42 \times 10^6$
		10	$3.42 \times 10^5$
		100	$3.42 \times 10^4$
		200	$1.71 \times 10^4$
		500	$6.84 \times 10^3$
		1000	$3.42 \times 10^3$

図 13 標準菌株（大腸菌）を用いた蛍光顕微鏡目視計数値と画像中の細菌数の関係

画像	計数値 ( $0.1 \times 0.1 \text{mm}^2$ あたり)	ろ過量	細菌数 (cells/ml)
	9.8	1	$2.06 \times 10^5$
		10	$2.06 \times 10^4$
		100	$2.06 \times 10^3$
		200	$1.03 \times 10^3$
		500	$4.12 \times 10^2$
		1000	$2.06 \times 10^2$
	29.5	1	$6.20 \times 10^5$
		10	$6.20 \times 10^4$
		100	$6.20 \times 10^3$
		200	$3.10 \times 10^3$
		500	$1.24 \times 10^3$
		1000	$6.20 \times 10^2$



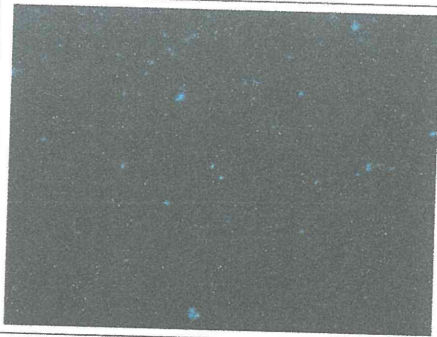
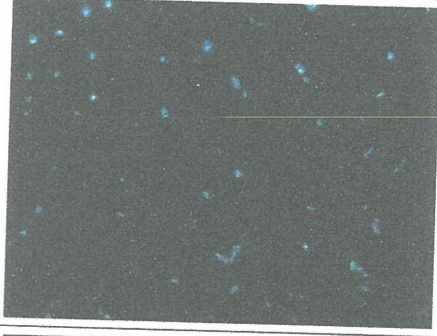
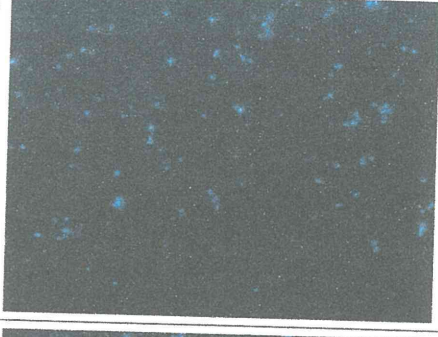
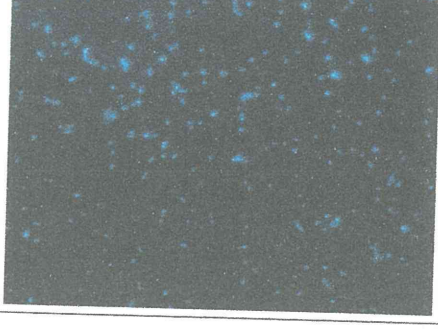
	48.2	1 10 100 200 500 1000	$1.01 \times 10^6$ $1.01 \times 10^5$ $1.01 \times 10^4$ $5.05 \times 10^3$ $2.02 \times 10^3$ $1.01 \times 10^3$
	75.3	1 10 100 200 500 1000	$1.58 \times 10^6$ $1.58 \times 10^5$ $1.58 \times 10^4$ $7.90 \times 10^3$ $3.16 \times 10^3$ $1.58 \times 10^3$
	112.0	1 10 100 200 500 1000	$2.35 \times 10^6$ $2.35 \times 10^5$ $2.35 \times 10^4$ $1.18 \times 10^4$ $4.70 \times 10^3$ $2.35 \times 10^3$
	169.0	1 10 100 200 500 1000	$3.54 \times 10^6$ $3.54 \times 10^5$ $3.54 \times 10^4$ $1.17 \times 10^4$ $7.08 \times 10^3$ $3.54 \times 10^3$

図 14 水環境中の細菌を用いた蛍光顕微鏡目視計数値と画像中の細菌数の関係

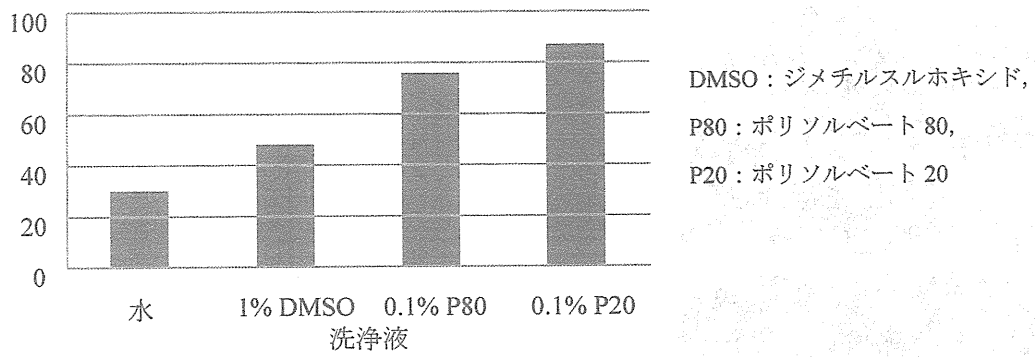


図 15 洗浄液の検討

表 1

MALDI-TOFMS peaks obtained from *E. coli*

Peak	A研究所	B研究所	C研究所	D研究所
1	3795.1 ± 0.909			
2	3935.6 ± 0.665			
3	4364.5 ± 0.969	4364.3 ± 1.323	4365.4 ± 0.468	4344.8
4	4438.0 ± 1.267			
5	4531.6 ± 0.433			
6	4774.9 ± 0.560			
7	4868.2 ± 0.536			
8	5095.3 ± 1.038			
9	5379.3 ± 0.954			5073.7
10				5356.8
11				5727.2
12	6252.8 ± 1.222	6255.6 ± 1.416	6253.9 ± 0.530	5847.6
13	6312.9 ± 1.295		6314.2 ± 0.674	6227.5
14	6505.1 ± 0.977			6478.3
15		7125.1 ± 2.616		
16	7154.8 ± 1.557	7160.1 ± 1.307		
17	7269.2 ± 1.077	7275.8 ± 0.977		
18	7362.2 ± 2.437			7241.4
19	7702.6 ± 1.502			
20	7866.0 ± 1.465			
21	8072.9 ± 2.382			
22	8321.7 ± 3.457			
23	8362.7 ± 1.610	8369.8 ± 1.448		8292.7
24	8868.9 ± 1.847	8877.0 ± 1.285		8842.4
25	8985.7 ± 1.945	8994.8 ± 1.950		
26	9056.7 ± 2.044	9066.9 ± 0.906	9059.9 ± 0.517	9022.1
27		9227.9 ± 0.930		9191.4
28	9264.0 ± 1.913	9273.8 ± 1.310		
29	9545.1 ± 2.324	9554.3 ± 2.446		
30	9731.3 ± 1.999	9742.3 ± 1.120		
31	9939.0 ± 1.979			9697.8

Values are mean  $m/z$  values ± S.D.

表 2

MALDI-TOFMS peaks obtained from <i>B. subtilis</i>				
Peak	A研究所	B研究所	C研究所	D研究所
1				2731.9
2	3144.2 ± 0.319			
3	3215.4 ± 0.918	3323.2 ± 2.158		
4	±			
5	3675.8 ± 0.343			
6	3890.8 ± 0.673			3869.9
7	4022.0 ± 0.829			4001.9
8	4308.0 ± 0.225	4308.8 ± 1.088	4306.4 ± 0.541	4286.7
9	4438.2 ± 1.095			
10	4514.8 ± 0.702			
11	4619.3 ± 0.317			
12	5017.6 ± 1.346			
13	5254.6 ± 0.382	5257.2 ± 0.946	5254.0 ± 0.391	
14	5311.9 ± 0.495			
15	5443.3 ± 0.221			
16	5497.5 ± 0.620			
17	5716.5 ± 1.198			
18	5901.0 ± 0.454	5902.1 ± 3.089	5900.6 ± 0.454	
19				6483.3
20	6597.7 ± 1.243	6601.8 ± 1.202	6596.7 ± 0.493	6567.8
21	6678.6 ± 0.942		6676.7 ± 0.795	6649.7
22	6698.5 ± 1.516	6701.1 ± 2.796	6697.6 ± 0.804	
23	7138.9 ± 1.254			
24	7176.9 ± 1.230			
25	7425.5 ± 1.487	7434.8 ± 1.940		
26		7694.9 ± 2.511		
27		7733.1 ± 1.174		7719.5
28	9232.9 ± 2.945	9210.4 ± 1.220	9202.2 ± 0.866	
29	9440.4 ± 3.922	9444.7 ± 1.351		
30				9840.9
31				9867.5
32				9957.3
33		10449.5 ± 1.720		10413.8
34		11147.2 ± 1.224		

Values are mean  $m/z$  values ± S.D.