

# Lactobacillus plantarum 4株のストレス耐性に及ぼす培地の影響

○矢島 冬紗子<sup>1</sup>、杉本 咲<sup>2</sup>、水上 優里奈<sup>2</sup>、佐々木 泰子<sup>2</sup>

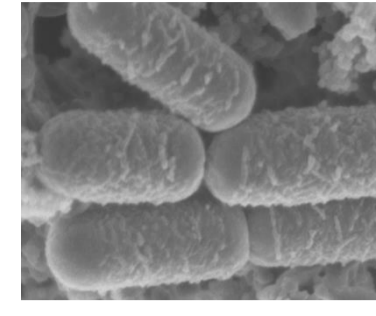
<sup>1</sup> 株式会社ピクルスコーポレーション、<sup>2</sup> 明治大学

野菜の元氣をお届けします。



## 背景・目的

- ▽ *Lactobacillus plantarum* PIC-NBN22 (Pne-12)は、ぬか漬けより単離され、強い酸耐性をもつ株である
- ▽ MRS培地(実験培地)とGYS培地(産業用培地)を用いた人工胃液耐性(対数増殖期: OD<sub>660</sub> = 0.5)において、差が認められた
- ▼ Pne-12を含む*Lactobacillus plantarum* 4株の、培地によって生じるストレス耐性能の差について検討を行った



## 結論

- ① *Lb. plantarum* 4株をGYS培地で培養すると、MRS培地と比較して10~100倍のストレス耐性の増加が観察された
- ② 人工胃液耐性、コール酸耐性、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>耐性は増加し、胆汁耐性、酸素耐性、塩耐性は変化が認められなかった
- ③ 炭素源の量による耐性の増加ではなく、窒素源, その他微量成分の差が原因であることが推定された
- ④ GYS培地(産業用)を使用すると、耐性能の増加が誘導できる可能性が示唆された

## 使用培地

**GYS培地**  
 Glucose (G) 1%  
 Yeast extract (Y) 1%  
 Soy peptide (SP) 0.2%

**MRS培地**  
 Proteose Peptone No.3 (PP) 1%  
 Beef Extract (BE) 1%  
 Yeast Extract 0.5%  
 Dextrose 2%  
 Polysorbate 80 0.1%  
 Ammonium Citrate 0.2%  
 Sodium Acetate 0.5%  
 Magnesium Sulfate 0.01%  
 Manganese Sulfate 0.005%  
 Dipotassium Phosphate 0.2%

## 使用培地・使用菌株

コール酸耐性試験のみ使用

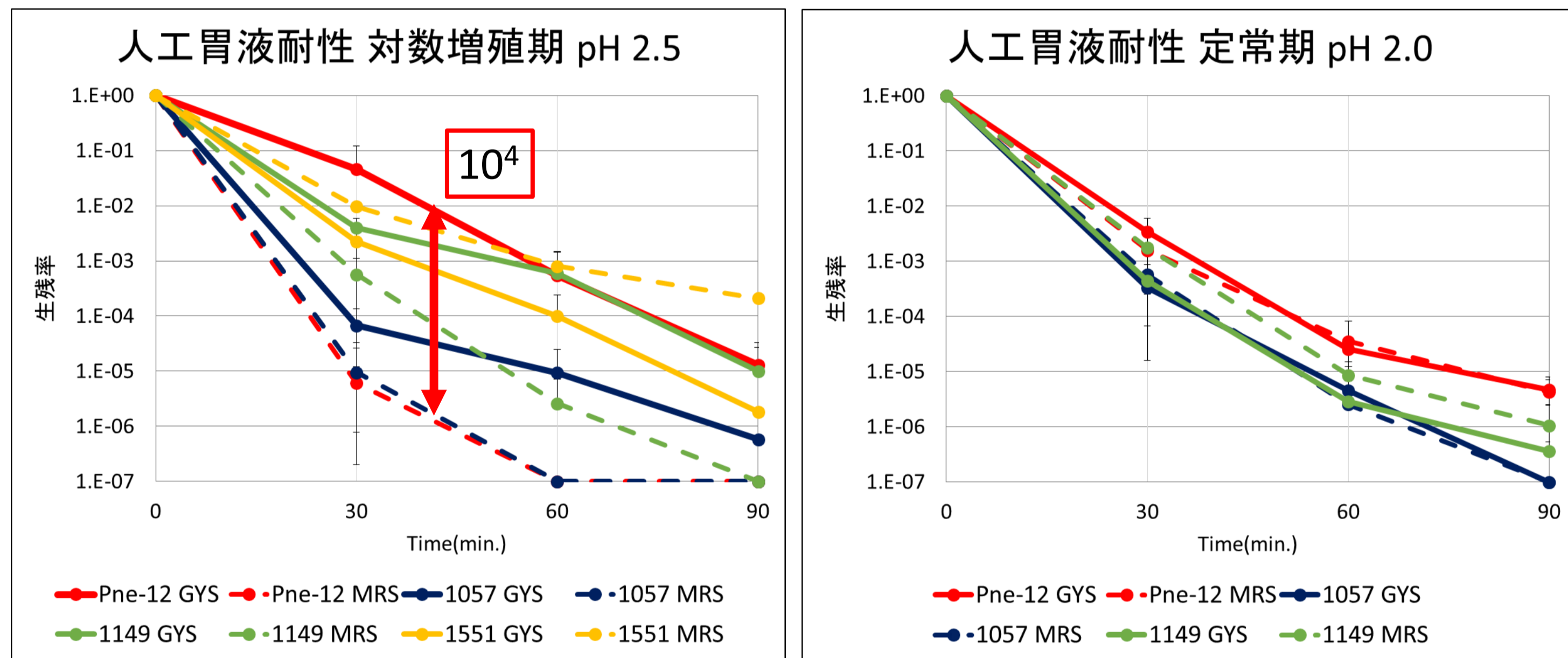
(%)	①(GYS)	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
G	1	2	1	1	1	1	1	1
Y	1	1	0.5	1	1	1	1	1
SP	0.2	0.2	0.2			0.1	0.1	
BE				0.2		0.1		0.1
PP					0.2		0.1	0.1

## 使用菌株

*Lactobacillus plantarum* PIC-NBN22  
 以降 Pne-12  
*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* JCM 1057  
 以降 JCM 1057  
*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* JCM 1149<sup>T</sup>  
 以降 JCM 1149  
*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* JCM 1551  
 以降 JCM 1551

## 結果・考察

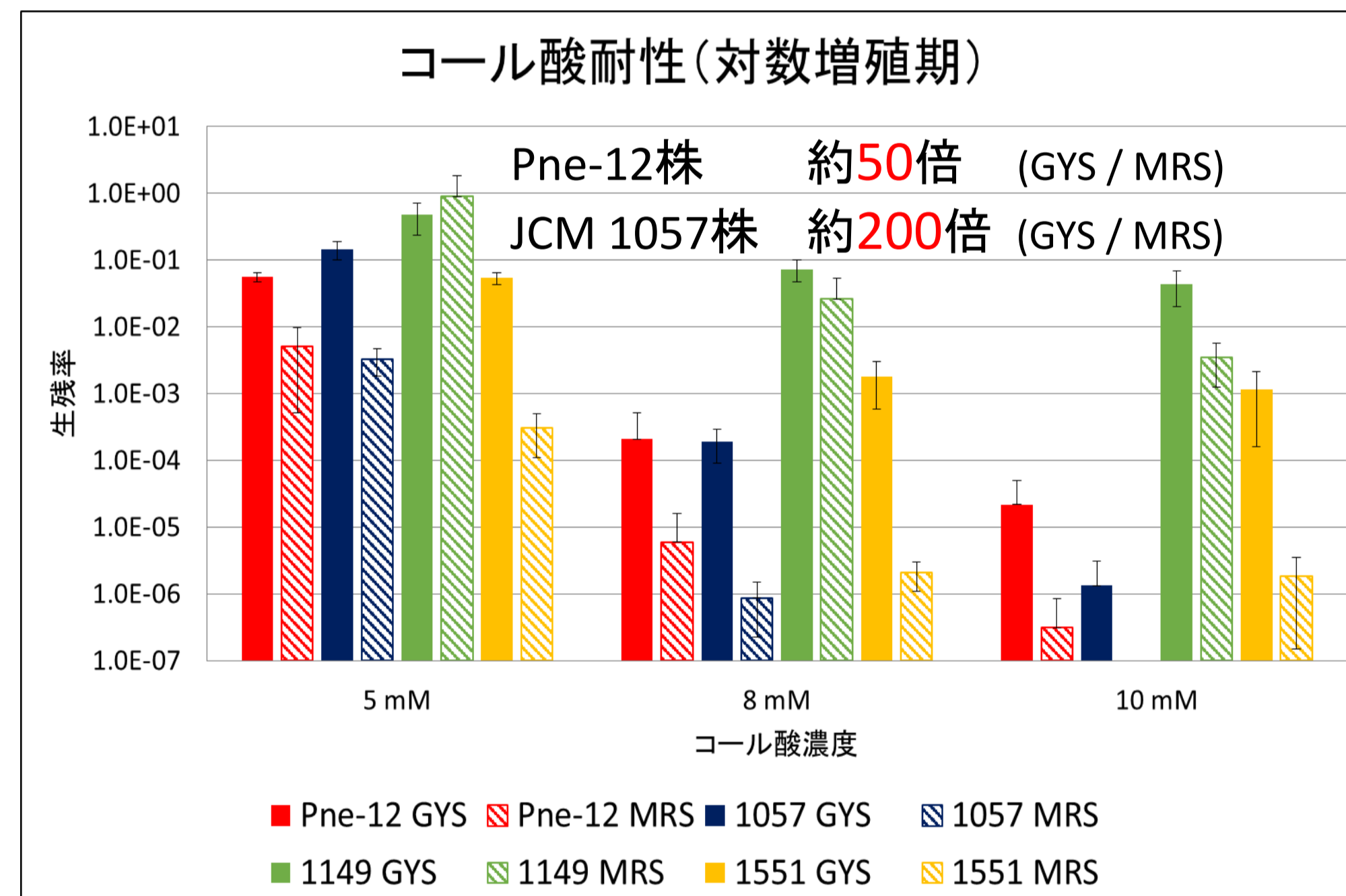
### 人工胃液耐性



対数増殖期でGYS培地で生育した菌は高い酸耐性能を示し、MRS培地と比較して約10<sup>4</sup>の生残率の差が観察された

定常期では人工胃液耐性に培地間、株間の差は観察されなかった

### コール酸耐性



対数増殖期でGYS培地で生育した菌は高いコール酸耐性を示し、MRS培地と比較して、約50~200倍の生残率の差が観察された

定常期では、JCM 1551を除き、培地による耐性の差は観察されなかった

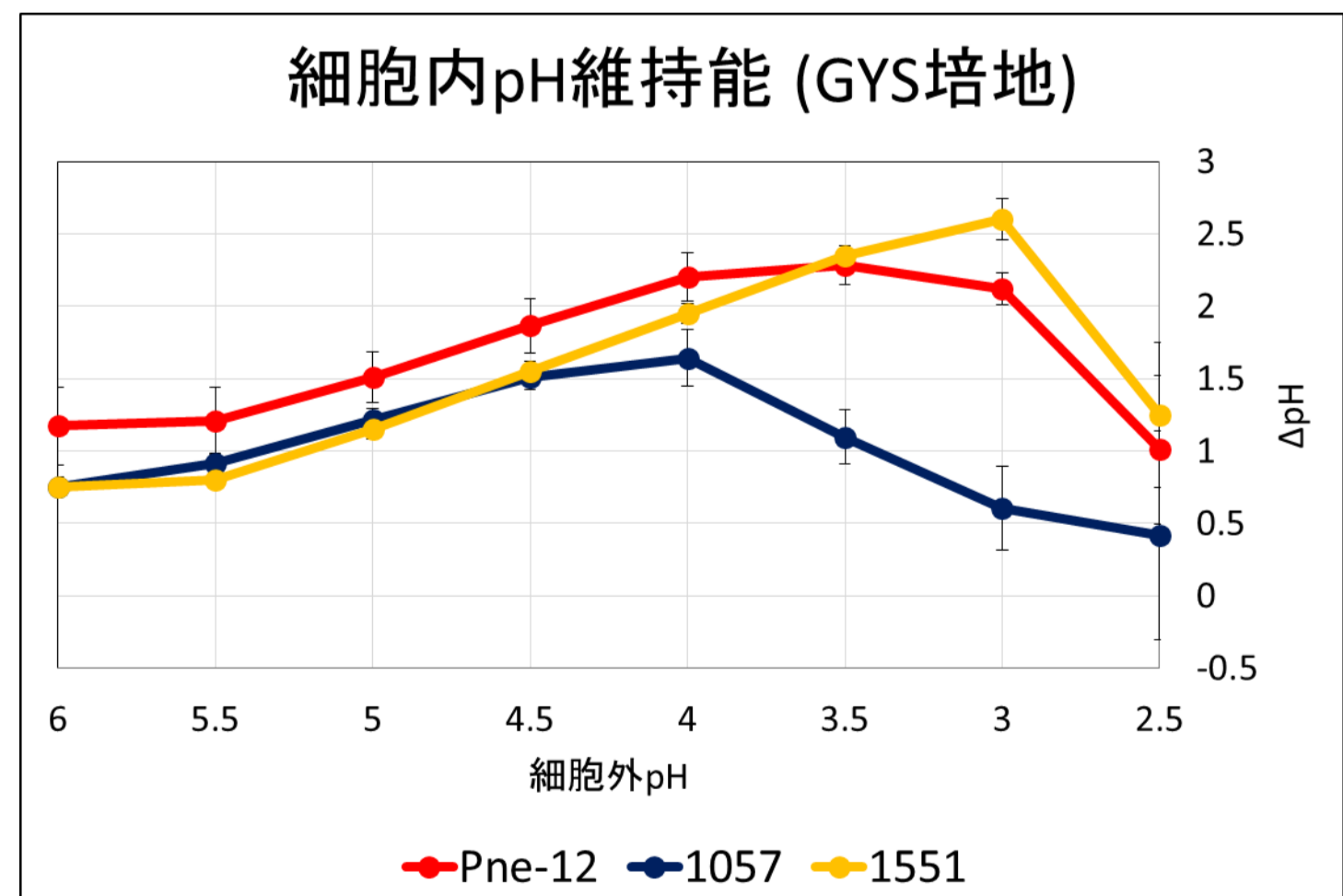
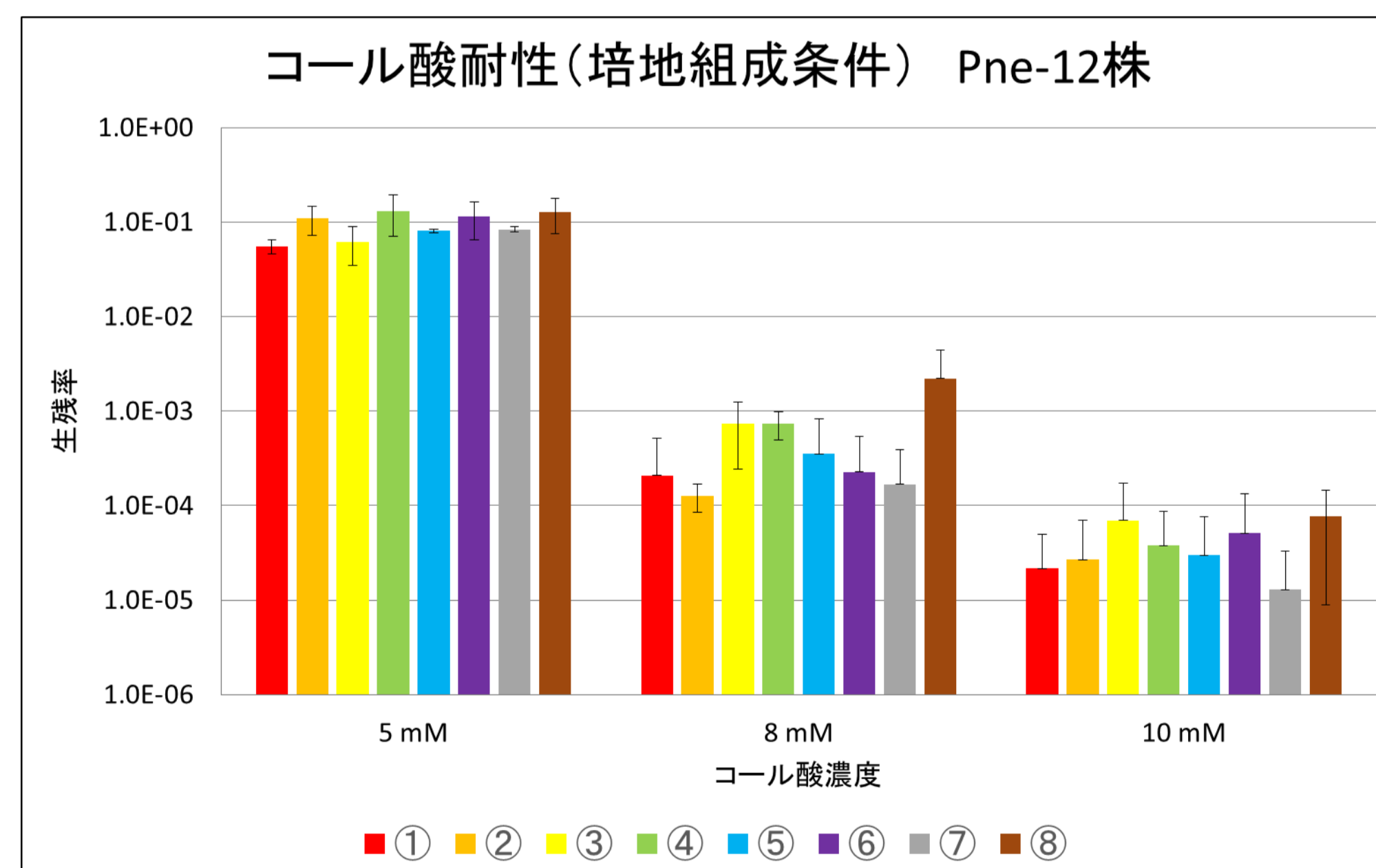


Fig 1. で高い人工胃液耐性を示した株 (Pne-12, JCM 1551):  
 細胞外pH 3.0で細胞内pH 5.1 ~ 5.6  
 $\Delta pH = 2.1 \sim 2.6$

低い人工胃液耐性を示した株 (JCM 1057):  
 細胞外pH 3.0で細胞内pH 3.6  
 $\Delta pH = 0.6$



C源の量やN源の条件(C源の量は統一)を変えても、耐性に顕著な差は観察されなかった

GYS, MRS, GYBP(⑧)培地でコール酸適応が観察された  
 \* コール酸適応: 5 mMで30 min. 処理後、10 mM, 15 mMに調整し、3 h 曝露

細胞内pH維持能と人工胃液耐性に相関が認められた

- ① コール酸耐性増加は炭素源の量の差によるものではないことが示唆された
- ② 窒素源やその他の微量成分が耐性増加の要因である可能性が推定され、今後検討を行う

### H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>耐性

対数増殖期 (*Lb. plantarum* 4株):  
 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>耐性 (50 ~ 100 ppmに3 h曝露) はMRS培地と比較してGYS培地で耐性が約10 ~ 100倍増加

### 胆汁/酸素/塩耐性

対数増殖期 (*Lb. plantarum* 4株):  
 胆汁耐性 (1 g/Lに4 h曝露)、酸素耐性 (振とう培養 3 h)、塩耐性 (5 ~ 10%に24 h曝露) において、株間の差は観察されたが、培地による耐性の差は観察されなかった

### Genome解析

	Pne-12	JCM 1057	JCM 1551	WCFS1
総塩基数 (Mbp)	3,951	4,063	4,718	3,310
推定ORF数	2,420	2,453	2,291	3,013
rRNA数	10	10	10	15

今後、Genome情報を用いたメカニズム解明を目指す