

原 著

<sup>35</sup>S-Methionine とりこみ後の薄層クロマトグラフィー  
による *Nocardia* 属と *Gordona* 属との区別

東 村 道 雄・水 野 松 司

国立療養所中部病院

受付 昭和 52 年 8 月 4 日

DIFFERENTIATION BETWEEN GENERA *GORDONA* AND  
*NOCARDIA* BY THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY

Michio TSUKAMURA\* and Shoji MIZUNO

(Received for publication August 4, 1977)

Previously, the present authors<sup>1)</sup> reported that the thin-layer chromatography of lipids after uptake of <sup>35</sup>S-methionine be useful for differentiating among mycobacterial species. This technique has been adopted for differentiation between genera *Gordona*<sup>2)</sup> and *Nocardia*.

The method used was the same as used previously for rapidly growing mycobacteria, except for the concentration of <sup>35</sup>S-methionine was 10  $\mu$ Ci/ml (twice) and the temperature used for harvesting the nocardiae was 28°C.

Thin-layer chromatograms of a lipid fraction of the nocardiae showed only one radioactive spot at *Rf* value 0.15 to 0.18 (Fig.1). In contrast to this, those of the gordonae showed usually three spots at *Rf* values 0.15 to 0.18, 0.30 to 0.35, and 1.00 (Fig.1). All strains belonging to the same genus showed similar pattern except for a few strains. Strain 40003 of *G.rhodochroa* and strain 70010 of *G.terrae* showed only one spot at *Rf* value 0.16, and strain 40015 of *G.rhodochroa* and strain 70009 of *G.terrae* a spot at *Rf* value 0.31.

A slight difference between *G.rhodochroa* (previously, this organism had been named as '*Mycobacterium*' *rhodochrous* and recently was transferred to genus *Gordona*<sup>5)</sup>) and other *Gordona* species was observed. *Gordona* strains other than the strains of *G.rhodochroa* showed usually a distinct spot at *Rf* value 1.00 (front), whereas *G.rhodochroa* lacked this (Fig.1).

*G.lentifragmenta* had been named previously *N.rubra*<sup>3)</sup> and recently was transferred from the genus *Nocardia* to the genus *Gordona*<sup>4)</sup>. In the present study, *G.lentifragmenta* showed the same pattern as other species of *Gordona*. The finding supports that the species should be a member of the genus *Gordona*.

In conclusion, thin-layer chromatography using <sup>35</sup>S-methionine is useful for differentiation between the genera *Gordona* and *Nocardia*.

前に, Tsukamura and Mizuno<sup>1)</sup>は, <sup>35</sup>S-methionine とりこみ後の薄層クロマト (thin-layer chromatography) による放射性 spots の分布 pattern が抗酸菌の菌種の

区別に役立つことを報告した。その後, この方法を *Nocardia* 属と *Gordona* 属<sup>2)</sup> に応用したところ, これらの属では菌種特有の pattern はないが, 代りに属特有の

\* From the National Chub Hospital, Obu, Aichi 474 Japan.

pattern があり、近縁のこの2つの属の区別に役立つことがわかった。

### 実験方法

使用した被検株は以下の61株である。

*Nocardia asteroides*: 23007 (M-94), 23009 (M-124), 23032 (M-10)。

*Nocardia farcinica*<sup>39</sup>: 23036 (M-81), 23047 (M-130), 23102 (ATCC 3318)。

*Nocardia brasiliensis*: 23086 (M-204), 23106 (R-887), 23109 (R-1188)。

*Nocardia caviae*: 23035 (M-73), 23078 (M-185), 23113 (R-617)。

*Gordona lentifragmenta* (もとの *Nocardia rubra* で最近 Tsukamura et al.<sup>41</sup> によつて *Gordona lentifragmenta* の名を与えられた): 23002 (M-1), 23022 (M-122), 23024 (M-192)。

*Gordona rhodochroa*<sup>51</sup>: 40001 (ATCC 13808), 40002 (M. Goodfellow, N-30), 40003 (M. Goodfellow, tsu), 40012 (ATCC 25970), 40013 (ATCC 25971), 40015 (ATCC 4001), 40016 (ATCC 4276), 40017 (ATCC 4273), 40019 (ATCC 14341), 40020 (ATCC 14347), 40021 (ATCC 14348), 40022 (ATCC 14349)。

*Gordona bronchialis*<sup>21</sup>: 50003 (ATCC 25592, NCTC 10667), 50006, 50011, 50013, 50017, 50019, 50051, 50093, 50094, 50095, 50096。

*Gordona rubropertincta*<sup>21,51</sup> (*Gordona rubra*<sup>21</sup> は同義語<sup>51</sup>): 60001, 60002, 60003 (ATCC 25593, NCTC 10668), 60004, 60005, 60015, 60016, 60017, 60018, 60020。

*Gordona terrae*<sup>21</sup>: 70001, 70002, 70003, 70004, 70005, 70006 (ATCC 25594, NCTC 10669), 70007, 70008, 70009, 70010。

*Gordona aurantiaca*<sup>61</sup>: 80001 (ATCC 25938, NCTC 10741), 80003, 80004。

菌株番号は国立療養所中部病院研究部における菌株番号である。カッコ内の番号で、Mのつく株は Dr. N. M. McClung, University of South Florida, Tampa, Florida, U. S. A. の番号で、これらの株は京都大学上坂一郎教授から受領した。Rのつく株および ATCC 3318 は Dr. Ruth E. Gordon, Rutgers University, New Brunswick, New Jersey, U. S. A. から受領した。ATCC 株は直接 American Type Culture Collection, Rockville, Maryland, U. S. A. から受領した。M. Goodfellow 株は Dr. M. Goodfellow, University of New Castle upon Tyne, New Castle upon Tyne, England から受領した。他の株は、著者が分離報告したものである。

使用した方法は、前に迅速発育性抗酸菌に使用した方法<sup>12</sup>と同じであるが、*Nocardia* および *Gordona* は予備実験で抗酸菌よりも<sup>35</sup>S-methionine の脂質へのとりこみが少ないことがわかったので、添加する<sup>35</sup>S-methionine 量を抗酸菌の場合の2倍量、10 $\mu$ c/ml とした。また、*Nocardia* では培養温度を28 $^{\circ}$ C とした。

### 実験成績および考察

<sup>35</sup>S-methionine とりこみ後に、脂質を抽出して行なつた薄層クロマト上で、放射性 spots の分布 pattern をみると、*Nocardia* は菌種の如何にかかわらずほぼ一定の

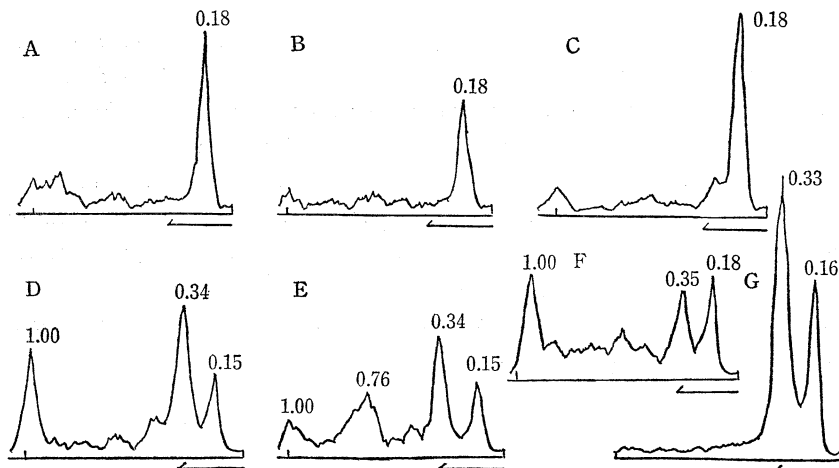


Fig. 1. Distribution of radioactive spots in thin-layer chromatography of nocardiae and gordonae.

(A) *Nocardia asteroides* #23007, (B) *Nocardia brasiliensis* #23086, (C) *Nocardia caviae* #23035, (D) *Gordona bronchialis* #50003, (E) *Gordona terrae* #70004, (F) *Gordona aurantiaca* #80003, (G) *Gordona rhodochroa* #40022.

patternを示した。すなわち、*Rf* 0.15~0.18の場所に1つだけの放射性spotを示した(図1)。一方、*Gordona*は菌種の如何にかかわらず、*Rf* 0.15~0.18 および *Rf* 0.30~0.35の2つの場所に放射性 spots を示した(図1)。

すなわち、*Mycobacterium* 属が菌種によつてほぼ特有の pattern を示したのに対して<sup>1)</sup>、*Nocardia* および *Gordona* では菌種特有の pattern はなく、属特有の pattern がみられた。

例外は、4株だけにみられた。*Gordona* は通常 *Rf* 0.15~0.18 および *Rf* 0.30~0.35 に2つの spots を示したのに対し、*G. rhodochroa* の40003株および *G. terrae* の70010株は *Rf* 0.16 に one spot を示し、*G. rhodochroa* の40015株および *G. terrae* の70009株は *Rf* 0.31 に one spot のみを示した。

なお、*Gordona* は上記の2 spots の他に、通常多少とも front (*Rf* 1.00) にもう1つの spot を示した。*G. bronchialis*, *G. rubropertincta*, *G. terrae*, *G. aurantiaca*, *G. lentifragmenta* の5者は通常この *Rf* 1.00 の spot を示したが、*G. rhodochroa* だけは *Rf* 1.00 に spot を示さなかつた。

*G. lentifragmenta* は、もと *N. rubra*<sup>3)</sup> と命名されて

いたが、最近、Tsukamura et al.<sup>4)</sup> によつて *Gordona* 属に移された。本報で得られた結果は、この菌種が *Gordona* 型の pattern を示すことを示し、先の分類学的研究<sup>4)</sup>と一致する結果が得られた。

## 結 論

<sup>35</sup>S-methionine とりこみ後の脂質の薄層クロマトによつて、*Gordona* 属と *Nocardia* 属を区別することができる。*Gordona* は通常 *Rf* 0.15~0.18, *Rf* 0.30~0.35 および *Rf* 1.00 に3つの spots を示す(*G. rhodochroa* のみは *Rf* 1.00 の spot を欠く)。これに対して、*Nocardia* は *Rf* 0.15~0.18 に one spot のみを示した。

## 文 献

- 1) Tsukamura, M. and Mizuno, S.: Int. J. Syst. Bact., 25: 271, 1975.
- 2) Tsukamura, M.: J. Gen. Microbiol., 68: 15, 1971.
- 3) Tsukamura, M.: J. Gen. Microbiol., 56: 265, 1969.
- 4) Tsukamura, M., Mizuno, S. and Murata, H.: Int. J. Syst. Bact., 25: 377, 1975.
- 5) Tsukamura, M.: Japan. J. Microbiol., 17: 189, 1973.
- 6) 東村道雄・水野松司: 結核, 46: 93, 1971.