

酵母の分類と同定

理化学研究所
○菅原秀明、宮崎 智

Classification and Identification of Yeasts

The Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN)
Hideaki SUGAWARA and Satoru MIYAZAKI

Microorganisms have played an important role in the chain of energy and chemical conversion on the planet and increase the awareness of the public in the age of the global environment of the planet. Classification and identification of microorganisms have been our basic intellectual activities and increase the necessity in the age of biodiversity. Therefore we developed an information-base which supports them. Yeasts were chosen as a model microorganism in the development. The information-base is an interactive system in which users are able to infer a taxonomic structure of yeasts and assignment of newly found strain to a taxonomic group.

1. はじめに

1992年6月にリオデジャネイロで地球サミット（国連環境開発会議）が開催され、地球環境の保全と利用について膨大な議論が行なわれた。その機会に生物多様性の重要性も広く一般に認識されて、その後多くの国際機関や政府で生物多様性の調査研究が始まることとなった。

生物多様性の研究は、環境に生息する全ての生物の実態を把握することから始まりまた実態を把握することこそが目標でもある。この研究の過程で得られる混沌としたデータを情報さらに知識として再利用するために必須の課題がある。分類学である。分類学においては新規生物の同定と命名ならびに分類体系の更新が行なわれる。仮に塩基配列を超高速に決定できる時代になっても生物群を階層的に分類することなくしては生物に関する知識の伝達は著しく困難となろう。また、大量の生物が分離されてくる生物多様性の時代にあっては、分類学者の知的作業を支援する情報システムが必要となる。そこで、我々は酵母をモデル生物として同定と分類を支援する情報ベースを試作した。

2. 分類・同定という知的作業

生体内も含めて地球環境に生息する微生物の規模については所説ある。酵母の場合にはこれまでにおよそ12,000種類が同定されているが、一説では1,500,000種類程度が生息している。すなわち、現在の分類体系は母集団の1%足らずをもとに構築されていることになる。したがって、その分類体系も新たな酵母の集団が発見されるに

したがって相当ダイナミックに変わることになる。

酵母の分類体系は基本的には植物の命名規約に準じた命名に集約される。酵母を系統保存しているJapan Collections of Microorganismsのカタログを開くと、例えば、*Saccharomyces cerevisiae*の項にJCM番号で1499、1817、1818などの菌株の特徴がそれぞれ順に掲載されている。カタログをさらに見ていくと、*Saccharomyces exiguus*という項が出てくる。これら2つの項に現われた*Saccharomyces*は属名であり、それに続く*cerevisiae*や*exiguus*と組になって種名を構成する。種名が分類体系の基本単位の一つであるが、それはあくまでも概念であり、実態はJCM番号が付けられている菌株である。分類学とは、菌株を階層的にグルーピングして種から属、属からさらに上位の分類群に命名することとも言える。新たな酵母の発見や新たな測定技術の開発によってこのグルーピングが絶えず見直されることになる。

グルーピングは菌株の似ている度合いを目安として行なわれる。例えば生理学的性質や生化学的性質などの表現形質のデータに基づいて定義した類似度や、DNAやRNAの配列データに基づいて定義した遺伝学的距離が、その目安として使われる。同定も同様の目安を元に菌株を既存の分類単位に割り当てる作業である。

3. 酵母情報ベース

酵母情報ベースは、第2項で述べた図1にまとめた知的作業を計算機上に実現したものである。様々なデータ源からデータを獲得して、自分なりのデータベースを作り上げ、更新する。その中の部分集合を対象として、表現形質に基づく数値分類や、配列データに基づく進化を論ずる。その結果、分類体系の変更が必要になったら、データベースの中の分類に関するデータを書き換える。菌株を環境やヒトから分離したときには、既知の微生物と比較して同定を行なう。同定が不成功に終わった場合は、実験をやり直すか、分類体系の見直しを行なう。すなわち酵母情報ベースはその分類学的実験を支援するシステムである。

酵母情報ベースのデータ項目の一部とサンプルデータを図2に示す。図2の他に重要なデータはリボソームのRNA配列データである。酵母のデータの特徴は、図2の中のCarbon Assimilation（炭素源）を始めとしてデータ項目が増減など変動することと、データとしてコード、数値、文字列が混在していることである。したがって、スキーマからその上に構築されるインターフェースまでを柔軟かつ容易に改変できるようなデータ管理が求められる。ここでは、データ項目自体をリレーショナルデータベース管理システムの一つのテーブルに持たせることを試みたが、さらに新しい発想によるデータ管理が望まれる。

同定と分類体系の検討のためには、多変量解析と確率論に基づいた種々の解析手法を順次モジュールとして追加してきている。分類体系の解析結果は、表現形質による分類についても塩基配列による分類について、樹状図としてディスプレイ上に表現して、利用者が結果を容易に比較検討できるようにした。

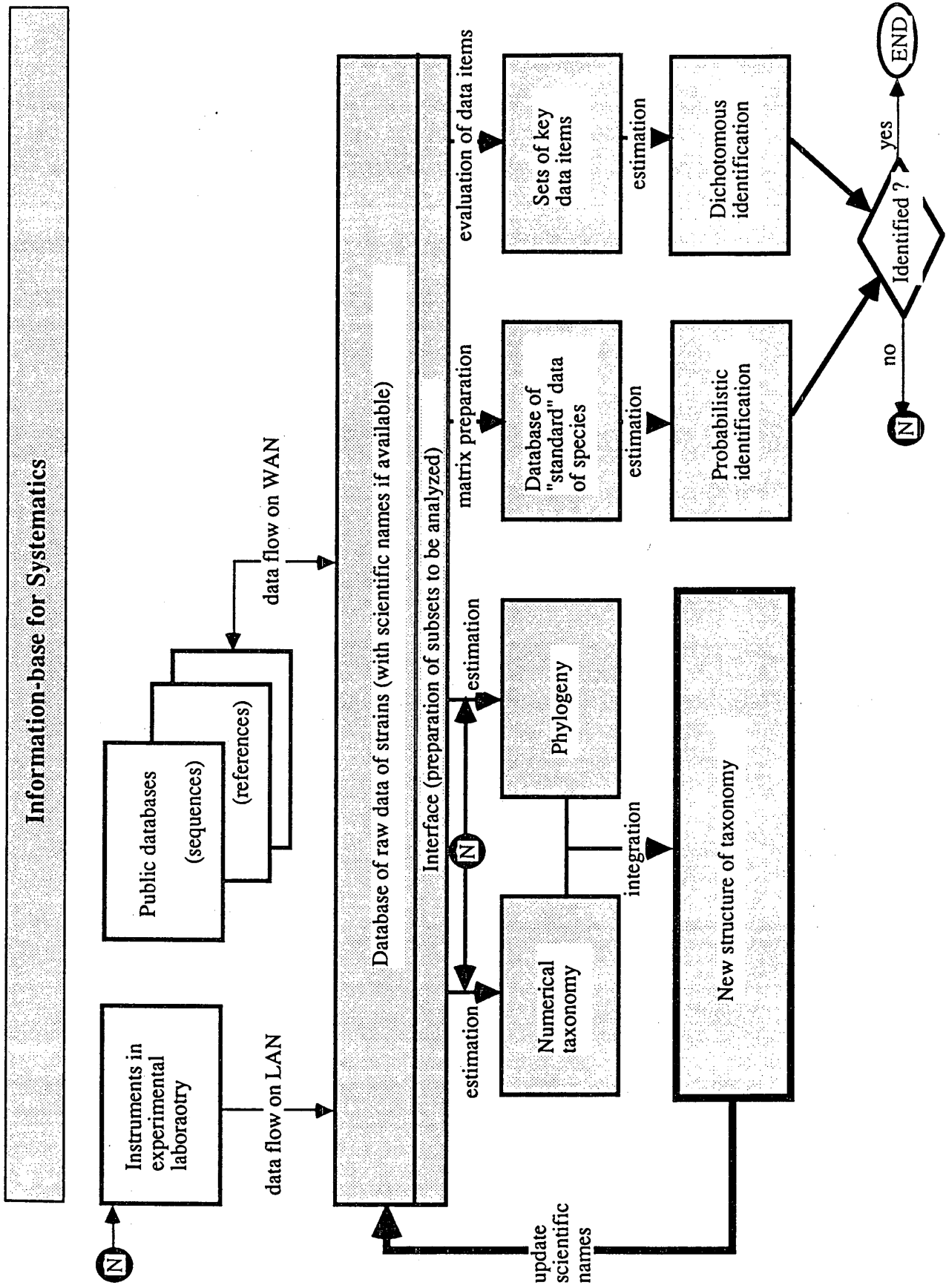


図1 酵母情報ベースの機能

Name: Sporobolomyces		yuccicola		
# B-74	Y #	JCM# 6251	Other#	
Colonies: hyaline		INPUT/UPDATE:		

<p>Carbon Assimilation</p> <p>Date 1986. 7. 18 Temperature 17 C Method</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td style="width: 10px;">+</td><td>1. D-Glucose</td></tr> <tr><td>D</td><td>2. D-Galactose</td></tr> <tr><td>DW</td><td>3. L-Sorbose</td></tr> <tr><td>-</td><td>4. Sucrose</td></tr> <tr><td>-</td><td>5. Maltose</td></tr> <tr><td>+</td><td>6. Cellobiose</td></tr> <tr><td>+</td><td>7. Trehalose</td></tr> <tr><td>DW</td><td>8. Lactose</td></tr> <tr><td>-</td><td>9. Melibiose</td></tr> <tr><td>-</td><td>10. Raffinose</td></tr> <tr><td>-</td><td>11. Melezitose</td></tr> <tr><td>-</td><td>12. Inulin</td></tr> <tr><td>-</td><td>13. Sol. starch</td></tr> <tr><td>D</td><td>14. D-Xylose</td></tr> <tr><td>-</td><td>15. L-Arabinose</td></tr> <tr><td>-</td><td>16. D-Arabinose</td></tr> <tr><td>-</td><td>17. D-Ribose</td></tr> <tr><td>-</td><td>18. L-Rhamnose</td></tr> <tr><td>-</td><td>19. Ethanol</td></tr> <tr><td>+</td><td>20. Glycerol</td></tr> <tr><td>-</td><td>21. Erythritol</td></tr> <tr><td>D</td><td>22. Ribitol</td></tr> <tr><td>-</td><td>23. Galactitol</td></tr> <tr><td>DW</td><td>24. Mannitol</td></tr> <tr><td>D</td><td>25. Glucitol</td></tr> <tr><td>-</td><td>26. α-Me-gluc</td></tr> <tr><td>-</td><td>27. Salicin</td></tr> <tr><td>-</td><td>28. Glucono-δ-lactone</td></tr> <tr><td>-</td><td>29. 2-Ketogluconic acid</td></tr> <tr><td>-</td><td>30. 5-Ketogruconic acid</td></tr> <tr><td>-</td><td>31. DL-Lactic acid</td></tr> <tr><td>S</td><td>32. Succinic acid</td></tr> <tr><td>DW</td><td>33. Citric acid</td></tr> <tr><td>-</td><td>34. Inositol</td></tr> <tr><td>-</td><td>35. D-Glucuronic acid</td></tr> <tr><td>-</td><td>36. D-Galacturonic acid</td></tr> <tr><td>-</td><td>37. C.Methanol</td></tr> <tr><td>-</td><td>38.C.Hexadecane</td></tr> <tr><td>-</td><td>C.Arbutin</td></tr> <tr><td>-</td><td>C.Xylitol</td></tr> <tr><td>-</td><td>C.Arabinitol</td></tr> <tr><td>-</td><td>C.Glucosamine</td></tr> <tr><td>-</td><td>C.Propylene glycol</td></tr> </table>	+	1. D-Glucose	D	2. D-Galactose	DW	3. L-Sorbose	-	4. Sucrose	-	5. Maltose	+	6. Cellobiose	+	7. Trehalose	DW	8. Lactose	-	9. Melibiose	-	10. Raffinose	-	11. Melezitose	-	12. Inulin	-	13. Sol. starch	D	14. D-Xylose	-	15. L-Arabinose	-	16. D-Arabinose	-	17. D-Ribose	-	18. L-Rhamnose	-	19. Ethanol	+	20. Glycerol	-	21. Erythritol	D	22. Ribitol	-	23. Galactitol	DW	24. Mannitol	D	25. Glucitol	-	26. α-Me-gluc	-	27. Salicin	-	28. Glucono-δ-lactone	-	29. 2-Ketogluconic acid	-	30. 5-Ketogruconic acid	-	31. DL-Lactic acid	S	32. Succinic acid	DW	33. Citric acid	-	34. Inositol	-	35. D-Glucuronic acid	-	36. D-Galacturonic acid	-	37. C.Methanol	-	38.C.Hexadecane	-	C.Arbutin	-	C.Xylitol	-	C.Arabinitol	-	C.Glucosamine	-	C.Propylene glycol	<p>N-Assimilation</p> <p>Date 1986. 8. 29 Temperature 17 C</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td style="width: 10px;">+</td><td>1. Ammonium Sul.</td></tr> <tr><td>+</td><td>2. Nitrate</td></tr> <tr><td>+</td><td>3. Nitrite</td></tr> <tr><td>-</td><td>4. Ethylamine-HCl</td></tr> <tr><td>DW</td><td>5. L-Lysine</td></tr> <tr><td>-</td><td>6. Cadaverine</td></tr> <tr><td>-</td><td>7. Creatine</td></tr> <tr><td>-</td><td>8. Creatinine</td></tr> </table> <p>Vitamins required</p> <p>Date 1986. 7. 30 Temperature 17 C Thiamine</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td style="width: 10px;"></td><td>1. V.Basal medium</td></tr> <tr><td></td><td>2. -V.Biotin</td></tr> <tr><td></td><td>3. -V.Pant</td></tr> <tr><td></td><td>4. -V.Floic acid</td></tr> <tr><td></td><td>5. -V.Inositol</td></tr> <tr><td></td><td>6. -V.Niacin</td></tr> <tr><td></td><td>7. -V.PABA</td></tr> <tr><td></td><td>8. -V.Pyrid</td></tr> <tr><td></td><td>9. -V.Riboflavin</td></tr> <tr><td></td><td>10. -V.Thiamine</td></tr> <tr><td></td><td>11. +V.All vitamins</td></tr> </table> <p>Fermentation</p> <p>Date</p> <p>Temperature</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td style="width: 10px;"></td><td>1. Glucose</td></tr> <tr><td></td><td>2. Galactose</td></tr> <tr><td></td><td>3. Sucrose</td></tr> <tr><td></td><td>4. Maltose</td></tr> <tr><td></td><td>5. Lactose</td></tr> <tr><td></td><td>6. Raffinose</td></tr> <tr><td></td><td>7. Melibiose</td></tr> <tr><td></td><td>8. α-Me-glucoside</td></tr> <tr><td></td><td>9. F.Trehalose</td></tr> <tr><td></td><td>10. F.Cellobiose</td></tr> <tr><td></td><td>11. F.Melezitose</td></tr> <tr><td></td><td>12. F.Inulin</td></tr> <tr><td></td><td>13. F.Starch</td></tr> </table>	+	1. Ammonium Sul.	+	2. Nitrate	+	3. Nitrite	-	4. Ethylamine-HCl	DW	5. L-Lysine	-	6. Cadaverine	-	7. Creatine	-	8. Creatinine		1. V.Basal medium		2. -V.Biotin		3. -V.Pant		4. -V.Floic acid		5. -V.Inositol		6. -V.Niacin		7. -V.PABA		8. -V.Pyrid		9. -V.Riboflavin		10. -V.Thiamine		11. +V.All vitamins		1. Glucose		2. Galactose		3. Sucrose		4. Maltose		5. Lactose		6. Raffinose		7. Melibiose		8. α-Me-glucoside		9. F.Trehalose		10. F.Cellobiose		11. F.Melezitose		12. F.Inulin		13. F.Starch	<p>GC%</p> <p>45.83+/-C Tm HPLC</p> <p>Quinone:</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td style="width: 10px;"></td><td style="width: 10px;">%</td><td>Q-1u(H2)</td></tr> <tr><td>0.7</td><td>%</td><td>Q8</td></tr> <tr><td>98.7</td><td>%</td><td>Q9</td></tr> <tr><td>0.6</td><td>%</td><td>Q10</td></tr> </table> <p>Whole cell sugar</p> <div style="border: 1px solid black; height: 50px;"></div> <p>Cell wall sugar</p> <div style="border: 1px solid black; height: 50px;"></div> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td style="width: 100px;">Growth at</td><td style="width: 10px;">-</td><td style="width: 10px;">25</td></tr> <tr><td></td><td>-</td><td>30</td></tr> <tr><td></td><td>-</td><td>35</td></tr> <tr><td></td><td>-</td><td>37</td></tr> <tr><td></td><td>-</td><td>42</td></tr> <tr><td>24-25</td><td></td><td>Max growth temp.</td></tr> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td style="width: 10px;">+</td><td>DBB</td></tr> <tr><td>+</td><td>Urease</td></tr> <tr><td>-</td><td>Lipase</td></tr> <tr><td>-</td><td>Gelatin Liq.</td></tr> <tr><td>-</td><td>Prod. of starch</td></tr> <tr><td>-</td><td>Prod. of FR</td></tr> <tr><td>-</td><td>Prod. of Acid</td></tr> <tr><td>-</td><td>50% Glucose</td></tr> <tr><td>-</td><td>60% Glucose</td></tr> <tr><td>-</td><td>0.1% Cyclo.</td></tr> <tr><td>-</td><td>0.01% Cyclo.</td></tr> <tr><td>-</td><td>Prod. Ester</td></tr> <tr><td>-</td><td>Mod. osm</td></tr> <tr><td>-</td><td>10% NaCl + 5% Glucose</td></tr> </table>		%	Q-1u(H2)	0.7	%	Q8	98.7	%	Q9	0.6	%	Q10	Growth at	-	25		-	30		-	35		-	37		-	42	24-25		Max growth temp.	+	DBB	+	Urease	-	Lipase	-	Gelatin Liq.	-	Prod. of starch	-	Prod. of FR	-	Prod. of Acid	-	50% Glucose	-	60% Glucose	-	0.1% Cyclo.	-	0.01% Cyclo.	-	Prod. Ester	-	Mod. osm	-	10% NaCl + 5% Glucose
+	1. D-Glucose																																																																																																																																																																																																																	
D	2. D-Galactose																																																																																																																																																																																																																	
DW	3. L-Sorbose																																																																																																																																																																																																																	
-	4. Sucrose																																																																																																																																																																																																																	
-	5. Maltose																																																																																																																																																																																																																	
+	6. Cellobiose																																																																																																																																																																																																																	
+	7. Trehalose																																																																																																																																																																																																																	
DW	8. Lactose																																																																																																																																																																																																																	
-	9. Melibiose																																																																																																																																																																																																																	
-	10. Raffinose																																																																																																																																																																																																																	
-	11. Melezitose																																																																																																																																																																																																																	
-	12. Inulin																																																																																																																																																																																																																	
-	13. Sol. starch																																																																																																																																																																																																																	
D	14. D-Xylose																																																																																																																																																																																																																	
-	15. L-Arabinose																																																																																																																																																																																																																	
-	16. D-Arabinose																																																																																																																																																																																																																	
-	17. D-Ribose																																																																																																																																																																																																																	
-	18. L-Rhamnose																																																																																																																																																																																																																	
-	19. Ethanol																																																																																																																																																																																																																	
+	20. Glycerol																																																																																																																																																																																																																	
-	21. Erythritol																																																																																																																																																																																																																	
D	22. Ribitol																																																																																																																																																																																																																	
-	23. Galactitol																																																																																																																																																																																																																	
DW	24. Mannitol																																																																																																																																																																																																																	
D	25. Glucitol																																																																																																																																																																																																																	
-	26. α-Me-gluc																																																																																																																																																																																																																	
-	27. Salicin																																																																																																																																																																																																																	
-	28. Glucono-δ-lactone																																																																																																																																																																																																																	
-	29. 2-Ketogluconic acid																																																																																																																																																																																																																	
-	30. 5-Ketogruconic acid																																																																																																																																																																																																																	
-	31. DL-Lactic acid																																																																																																																																																																																																																	
S	32. Succinic acid																																																																																																																																																																																																																	
DW	33. Citric acid																																																																																																																																																																																																																	
-	34. Inositol																																																																																																																																																																																																																	
-	35. D-Glucuronic acid																																																																																																																																																																																																																	
-	36. D-Galacturonic acid																																																																																																																																																																																																																	
-	37. C.Methanol																																																																																																																																																																																																																	
-	38.C.Hexadecane																																																																																																																																																																																																																	
-	C.Arbutin																																																																																																																																																																																																																	
-	C.Xylitol																																																																																																																																																																																																																	
-	C.Arabinitol																																																																																																																																																																																																																	
-	C.Glucosamine																																																																																																																																																																																																																	
-	C.Propylene glycol																																																																																																																																																																																																																	
+	1. Ammonium Sul.																																																																																																																																																																																																																	
+	2. Nitrate																																																																																																																																																																																																																	
+	3. Nitrite																																																																																																																																																																																																																	
-	4. Ethylamine-HCl																																																																																																																																																																																																																	
DW	5. L-Lysine																																																																																																																																																																																																																	
-	6. Cadaverine																																																																																																																																																																																																																	
-	7. Creatine																																																																																																																																																																																																																	
-	8. Creatinine																																																																																																																																																																																																																	
	1. V.Basal medium																																																																																																																																																																																																																	
	2. -V.Biotin																																																																																																																																																																																																																	
	3. -V.Pant																																																																																																																																																																																																																	
	4. -V.Floic acid																																																																																																																																																																																																																	
	5. -V.Inositol																																																																																																																																																																																																																	
	6. -V.Niacin																																																																																																																																																																																																																	
	7. -V.PABA																																																																																																																																																																																																																	
	8. -V.Pyrid																																																																																																																																																																																																																	
	9. -V.Riboflavin																																																																																																																																																																																																																	
	10. -V.Thiamine																																																																																																																																																																																																																	
	11. +V.All vitamins																																																																																																																																																																																																																	
	1. Glucose																																																																																																																																																																																																																	
	2. Galactose																																																																																																																																																																																																																	
	3. Sucrose																																																																																																																																																																																																																	
	4. Maltose																																																																																																																																																																																																																	
	5. Lactose																																																																																																																																																																																																																	
	6. Raffinose																																																																																																																																																																																																																	
	7. Melibiose																																																																																																																																																																																																																	
	8. α-Me-glucoside																																																																																																																																																																																																																	
	9. F.Trehalose																																																																																																																																																																																																																	
	10. F.Cellobiose																																																																																																																																																																																																																	
	11. F.Melezitose																																																																																																																																																																																																																	
	12. F.Inulin																																																																																																																																																																																																																	
	13. F.Starch																																																																																																																																																																																																																	
	%	Q-1u(H2)																																																																																																																																																																																																																
0.7	%	Q8																																																																																																																																																																																																																
98.7	%	Q9																																																																																																																																																																																																																
0.6	%	Q10																																																																																																																																																																																																																
Growth at	-	25																																																																																																																																																																																																																
	-	30																																																																																																																																																																																																																
	-	35																																																																																																																																																																																																																
	-	37																																																																																																																																																																																																																
	-	42																																																																																																																																																																																																																
24-25		Max growth temp.																																																																																																																																																																																																																
+	DBB																																																																																																																																																																																																																	
+	Urease																																																																																																																																																																																																																	
-	Lipase																																																																																																																																																																																																																	
-	Gelatin Liq.																																																																																																																																																																																																																	
-	Prod. of starch																																																																																																																																																																																																																	
-	Prod. of FR																																																																																																																																																																																																																	
-	Prod. of Acid																																																																																																																																																																																																																	
-	50% Glucose																																																																																																																																																																																																																	
-	60% Glucose																																																																																																																																																																																																																	
-	0.1% Cyclo.																																																																																																																																																																																																																	
-	0.01% Cyclo.																																																																																																																																																																																																																	
-	Prod. Ester																																																																																																																																																																																																																	
-	Mod. osm																																																																																																																																																																																																																	
-	10% NaCl + 5% Glucose																																																																																																																																																																																																																	

図2 酵母のデータ項目 (表現形質)