
受賞総説

Cytophaga 類縁細菌群の分類学的研究

(平成 16 年度日本微生物資源学会奨励賞受賞)

中川恭好

独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジー本部
生物遺伝資源部門 (NBRC)

〒 292-0818 千葉県木更津市かずさ鎌足 2-5-8

Taxonomic Studies of *Cytophaga*-like Bacteria

Yasuyoshi Nakagawa

Biological Resource Center (NBRC)

Department of Biotechnology, National Institute of Technology and Evaluation,

2-5-8 Kazusakamatari, Kisarazu-shi, Chiba 292-0818, Japan

Cytophaga 類縁細菌群は細菌の phylum の 1 つである cytophaga-flavobacteria-bacteroides (CFB) phylum に属する菌群であり、主要な属として *Cytophaga* 属, *Flavobacterium* 属, *Flexibacter* 属および *Microscilla* 属が知られている。表現性状に基づく分類がきわめて困難で、*Flavobacterium-Cytophaga* complex と呼ばれていたこの菌群の分類体系を構築するために 16S rDNA 塩基配列に基づく系統解析を行った。またこの菌群の多様性を明らかにするため、未知種の分離を試みた。その結果、*Cytophaga* 属, *Flavobacterium* 属, *Flexibacter* 属および *Microscilla* 属それぞれは系統的にきわめて異質な菌株から構成される分類群であることが明らかとなった。そして *Cytophaga* 属と *Flavobacterium* 属については、系統関係に基づいた大規模な再分類がなされ、それらの分類学的混乱はおおむね解決されてきた。*Flexibacter* 属および *Microscilla* 属については、さらに表現型を含む分類学的知見を収集し、今後再分類を行わなければならない。また分離株の系統解析結果からはその多くが新種あるいは新属として分類されるべきであると考えられ、CFB phylum にはまだ多くの未知分類群が存在することが明らかとなった。

1. はじめに (研究の背景と目的)

Cytophaga 類縁細菌群は細菌の phylum の 1 つである cytophaga-flavobacteria-bacteroides (CFB) phylum (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd edition (4) では phylum *Bacteroidetes* と呼ばれている) を構成する菌群であり (28), *Cytophaga* 属, *Flavobacterium* 属, *Flexibacter* 属および *Microscilla* 属が含まれる。*Cytophaga* 属と *Flavobacterium* 属はその形態学的特徴や生理・生化学的性質が類似しており、これらの表現形質に基づく数値分類では両属が混在することや、脂肪酸組成やキノン組成などの化学分類学的性状および DNA の GC 含量によっても識別できないことから、1990 年代初めまで *Flavobacterium-Cytophaga* complex と

呼ばれてきた (6, 7, 9, 19, 23)。Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (10, 20) の記載では、*Cytophaga* 属と *Flavobacterium* 属を識別する性状は滑走運動性 (gliding motility) だけである (Table 1)。この運動性は培養条件によって変わりやすく、当初滑走運動性がみられず *Flavobacterium* 属に分類されていた株に運動性が認められ *Cytophaga* 属に移されたこともあった。また、ともに滑走運動性を示す *Cytophaga* 属と *Flexibacter* 属の相違は主として細胞の長さだけであり、*Flexibacter* 属と *Microscilla* 属の相違はその生息環境だけである (Table 1) (20, 21, 22)。このようにこれらの属の境界はきわめてあいまいであるうえ、1990 年代当時にはその系統関係も知られていなかった。そ

Table 1. Ambiguous discriminative characteristics that were adopted in 1989

	<i>Cytophaga</i>	<i>Flavobacterium</i>	<i>Flexibacter</i>	<i>Microscilla</i>
Gram-reaction	—	—	—	—
Cells (μm)	Rods (0.3–0.8×1.5–15)	Rods (0.5×1–3)	Filaments (0.2–0.6×10–50)	Filaments (0.5×10–150)
Relation to oxygen *	A or FA	A	A or FA	A
Pigmentation	Yellow–red	Yellow–orange	Yellow–orange	Yellow–orange
Motility	Gliding	Nonmotile	Gliding	Gliding
Habitat	Soil, freshwater	Soil, freshwater, clinical samples	Soil, freshwater	Marine
Menaquinone	MK–6 or MK–7	MK–6 or MK–7	MK–6 or MK–7	Unknown
Fatty acids	Branched chain 2– and 3–hydroxy	Branched chain 2– and 3–hydroxy	Branched chain 2– and 3–hydroxy	Unknown
Mol% G+C of DNA	31–42	30–45	37–47	37–44

* A, aerobic; FA, facultative anaerobe.

の一方、1990年代後半からこの phylum に属する数多くの新規分類群が提案され、20をこえる新属が記載されている。これは CFB phylum に含まれる *Cytophaga* 類縁細菌群には数多くの未知の微生物が存在していることを示唆している。

本研究は *Cytophaga* 属、*Flavobacterium* 属、*Flexibacter* 属および *Microscilla* 属の系統関係を明らかにしてこれら既知分類群の分類体系を構築すること、*Cytophaga* 類縁細菌群を分離し系統分類学的研究を行うことによってこの細菌群の多様性を解明することを目的として行った。

2. *Cytophaga* 属と *Flavobacterium* 属の系統分類学的研究

Cytophaga 属と *Flavobacterium* 属について 16S rRNA 塩基配列に基づく系統解析を行った結果を Fig. 1 と 2 に示した。Fig. 1 は嫌気性の *Bacteroides* 属類縁細菌群を除いた CFB phylum に属するすべての既知属の基準種を含んでおり、Fig. 2 は *Flavobacteriaceae* 科のすべての種について作成したものである。*Cytophaga* 属 21 種は 10 以上の系統に分かれ (Fig. 1, 2, Cyt 1～Cyt 11)、これらが phylum 全体にわたって分布しているように科レベル以上で離れた異質な菌株を含んでいる属であることが明らかとなった (16, 17)。キノン分子種と系統関係には明瞭な相関がみられ、メナキノン-6 (MK-6) で特徴づけられる種は単系統群を構成した。Bernardet ら (2, 3) はこの単系統群を *Flavobacteriaceae* 科に分類することを提案し、主要キノンが MK-6 であることをその定義の 1 つとしている。*Cytophaga* 属では主要キノンが MK-7 である 9 種 (Fig. 1, Cyt 1～Cyt

5) が *Flavobacteriaceae* 科に含まれず、MK-6 である 13 種 (Fig. 2, Cyt 6～Cyt 11) は *Flavobacteriaceae* 科に含まれている。

Cytophaga 属の基準種である *C. hutchinsonii* と近縁であったのは、*C. aurantiaca* だけであった (Cyt 1)。この 2 種のみが結晶セルロース分解能を有することから、我々は *Cytophaga* 属をこの 2 種に限るように *Cytophaga* 属の emendation を提案した (18)。*C. diffluens* (Cyt 2)、*C. aprica* (Cyt 3) および *C. salmonicolor* (と *C. agarovorans*) (Cyt 5) は、それぞれ系統的に独立していた。これら 3 種はいずれも海洋由来の菌株であり、*C. hutchinsonii* とは異なって NaCl を含まない培地では生育できない。Hamana ら (8) は *Cytophaga* 類縁細菌群の細胞ポリアミン組成を調べ、多くの種の主要ポリアミンがホモスペルミジンであるのに対して、*C. aprica* がカダベリンであり、*C. diffluens* と *C. salmonicolor* がスペルミジンであることを報告した。また *C. salmonicolor* は通性嫌気性菌であり、*Bacteroides* 属、*Prevotella* 属や *Rikenella* 属などの嫌気性菌のクラスターに属している。我々はこれらの結果に基づいて *C. aprica* を *Flammeovirga* 属に、*C. diffluens* を *Persicobacter* 属に、*C. salmonicolor* と *C. agarovorans* を *Marinilabilia* 属に分類することを提案した (13, 18, 24)。MK-6 が特徴である *Flavobacteriaceae* 科に含まれた *Cytophaga* 属 13 種のうち 8 種、*C. aquatilis*、*C. columnaris* (= *Flexibacter columnaris*)、*C. flevensis*、*C. johnsonae*、*C. pectinovora*、*C. psychrophila* (= *Flexibacter psychrophilus*)、*C. saccharophila* および *C. succinicans* は非海洋由来であり、*Flavobacterium* 属の基準種である *F. aquatile* と近縁であった (Cyt 11)。その後、この系

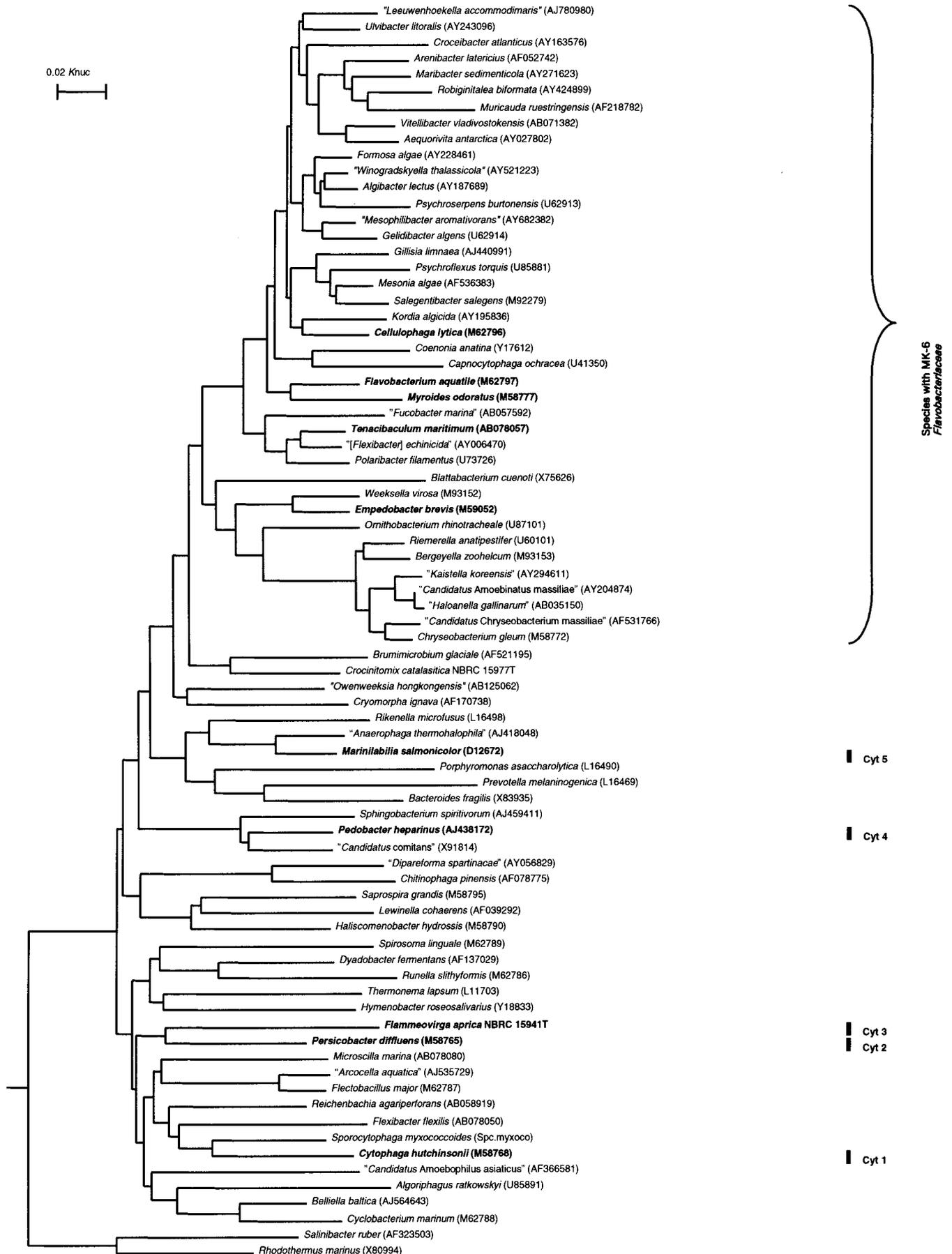


Fig. 1. Neighbor-joining tree for *Flavobacterium*-*Cytophaga* complex and related taxa based on 16S rRNA sequences. Scale bar = 0.02 K_{nuc} in nucleotide sequences (12). Accession numbers of the sequences of reference organisms are shown in parenthesis.

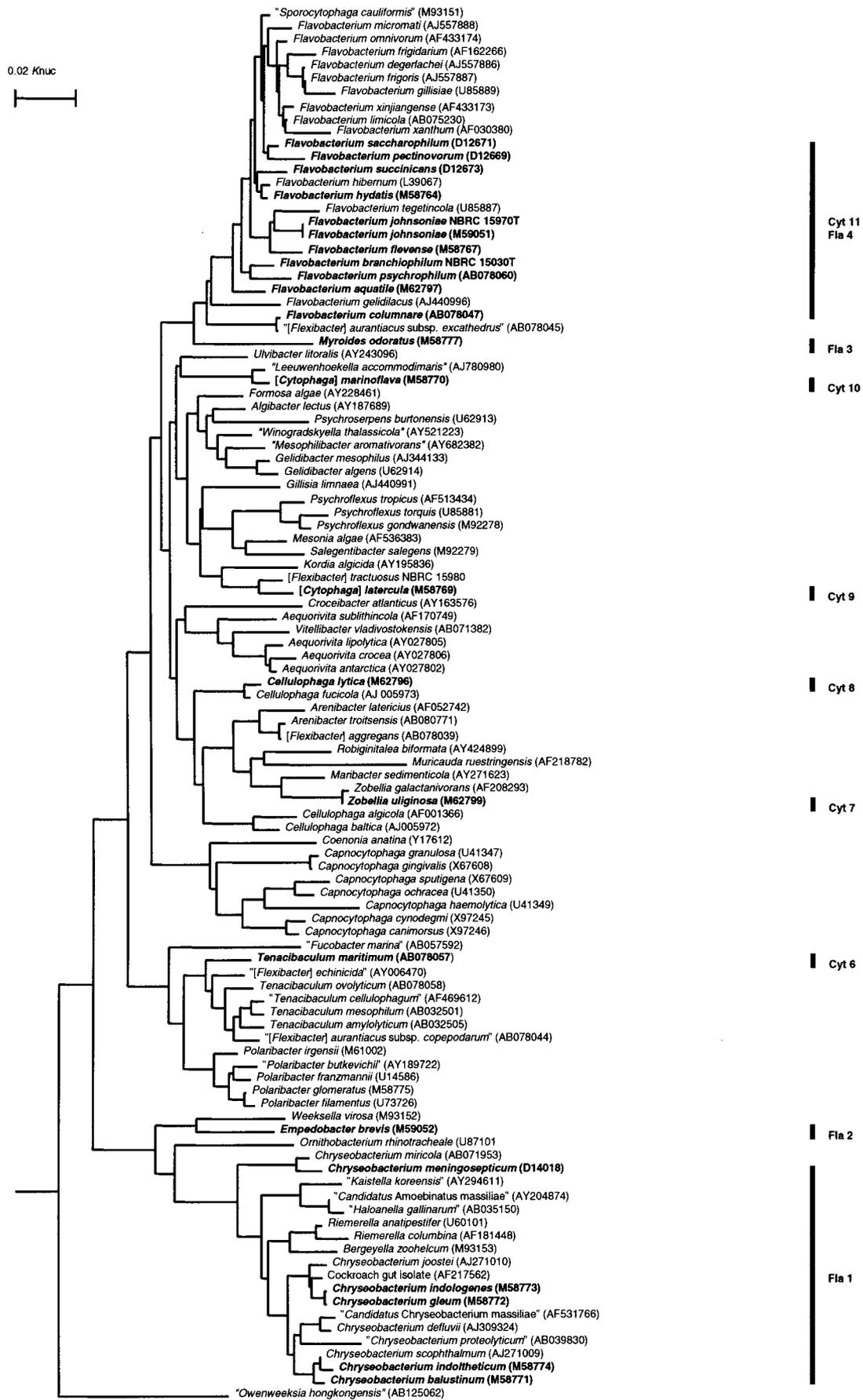


Fig. 2. Neighbor-joining tree for *Flavobacterium*-*Cytophaga* complex and related taxa that belong to the family *Flavobacteriaceae* based on 16S rRNA sequences.

Scale bar = 0.02 K_{nuc} in nucleotide sequences (12). Accession numbers of the sequences of reference organisms are shown in parenthesis.

統群は emendation された *Flavobacterium* 属に分類されている (2). MK-6 である残りの *Cytophaga* 5 種は、いずれも海洋由来の種である。それぞれ既知分類群から独立していたため、*C. marina* (= *Flexibacter maritimus*) (Cyt 6) に対して *Tenacibaculum* 属 (25), *C. uliginosa* (Cyt 7) に対して *Zobellia* 属 (1), *C. lytica* (Cyt 8) に対して *Cellulophaga* 属が提案され (11), 現在にいたっている。

Flavobacterium 属も系統的に多様な種を含んでいる異質な属であることが明らかとなった。 *F. ferrugineum* は *Flavobacteriaceae* 科には含まれず、他の種は *Flavobacteriaceae* 科内で 4 つの独立した系統に分かれていた (Fig. 2, Fla 1 ~ Fla 4) (16, 17, 18)。基準種である *F. aquatile* は MK-6 で非海洋由来の *Cytophaga* 種と単系統群を構成し (Fla 4), 前述したようにこの系統群が *Flavobacterium* 属に分類されている。当時この系統群に含まれる *Flavobacterium* 種は *F. blanchiophilum* だけであったが、さらに 10 以上の新種が現在までに記載されている。基準種 *F. aquatile* からは系統的に独立していた *F. balustinum*, *F. gleum*, *F. indologens*, *F. indoltheticum*, *F. meningosepticum* (Fla 1) は *Chryseobacterium* 属に (27), *F. brevis* (Fla 2) は *Empedobacter* 属に (27), *F. odoratum* (Fla 3) は *Myroides* 属 (26) にそれぞれ分類されている。

以上のように 16S rRNA 塩基配列に基づく系統解析によって *Cytophaga* 属と *Flavobacterium* 属がきわめて異質であり、従来の鑑別性状では分類できないことが明らかにされた。そしてその後の分類学的研究に基づいて多くの種が新たな属に分類され、かつて *Flavobacterium-Cytophaga* complex と呼ばれた両属の分類学的混乱はおおむね解決されている。

3. *Flexibacter* 属, *Flexithrix* 属および *Microscilla* 属の系統分類学的研究

Flexibacter 属 17 種 40 株, *Flexithrix* 属 1 種 1 株および *Microscilla* 属 4 種 5 株について 16S rRNA 塩基配列を決定して系統解析を行った。16S rRNA 塩基配列相同性が 95% を基準とした場合、これら 3 属に属する菌株は 24 系統群に分かれ、それぞれが属あるいは科レベル以上で隔たっている一方、属名が異なる菌株が混在している系統群が存在することが明らかとなった (14)。24 系統群のうち 4 つは *Flavobacteriaceae* 科に含まれており、それらのなかで *Flexibacter aurantiacus*, *Flexibacter columnaris* (= *Cytophaga columnaris*) および *Flexibacter psychrophilus* (= *C. psychrophila*) は

Flavobacterium 属に (2), *Flexibacter maritimus* (= *C. marina*) と *Flexibacter ovolyticus* は *Tenacibaculum* 属に移された (25)。“*Flexibacter aggregans* subsp. *catalaticus*” は *Flavobacteriaceae* 科の最も外側で系統的に独立しており、その後新属 *Crocinitomix* に分類された (5)。 *Flavobacteriaceae* 科に含まれている *Flexibacter* 属 10 株を除いた系統関係を Fig. 3 に示す。

Flexibacter 属の基準種 *Flexibacter flexilis* (Fig. 3, Fle 11) は他のいずれの既知種からも独立していたため、*Flexibacter* 属の他のすべての種はこの属から除かれると考えられる。*Flexibacter filiformis*, *Flexibacter japonensis* および *Flexibacter sancti* の 3 種は系統的に近縁な *Chitinophaga* 属にまとめられるべきであろう (Fle 6)。*Flexithrix* の基準種 *Flexithrix dorotheae* は *Flexibacter aggregans* 3 株と近縁であったため (Fle 22), この系統群が *Flexithrix* 属の系統的な実体と考えられる。基準種 *Microscilla marina* (Fle 9) はいずれの既知種からも独立していたため、*Microscilla* 属も基準種に限られるべきである。“*Microscilla arenaria*” は *Flammeovirga* 属に近縁であり *Flammeovirga* 属に分類するべきである (Fle 23)。その他の 14 系統群はいずれも既知種から独立していることから、それぞれが新属に分類されると考えられる (Fle 7, Fle 8, Fle 10, Fle 12, Fle 13, Fle 14, Fle 15, Fle 16, Fle 17, Fle 18, Fle 19, Fle 20, Fle 21, Fle 24)。系統的な異質性は属内だけでなく種内においても認められた。例えば *Flexibacter aggregans* (Fle 20, Fle 22), *Flexibacter flexilis* (Fle 11, Fle 12), *Flexibacter roseolus* (Fle 14, Fle 16) と “*Microscilla sericea*” (Fle 17, Fle 21) はそれぞれ 2 つの系統群に、*Flexibacter tractuosus* (Fle 17, Fle 19, Fle 24) は 3 つの系統群に分かれている。さらに *Flexibacter aggregans* に関しては 2 株が *Flavobacteriaceae* 科に属している。

上記のように *Flexibacter* 属, *Flexithrix* 属および *Microscilla* 属のそれぞれは、系統的にきわめて異質な菌株から構成される分類群であることが明らかとなった。今後分類学的なデータが蓄積されることによって、これらの属が再編されることが期待される。

4. *Cytophaga* 類縁細菌群の分離とその分類学的研究

2000 年から 2001 年に奄美大島, 石垣島および西表島で採集した試料から *Cytophaga* 類縁細菌 115 株を分離して 16S rRNA 塩基配列を決定し系統解析を行った (15)。16S rRNA 塩基配列相同性 95% を基準とした場合に分離株は 24 のグループに分かれ、5 グループ (CFB 1, CFB 18, CFB 19, CFB 23, CFB 24) は

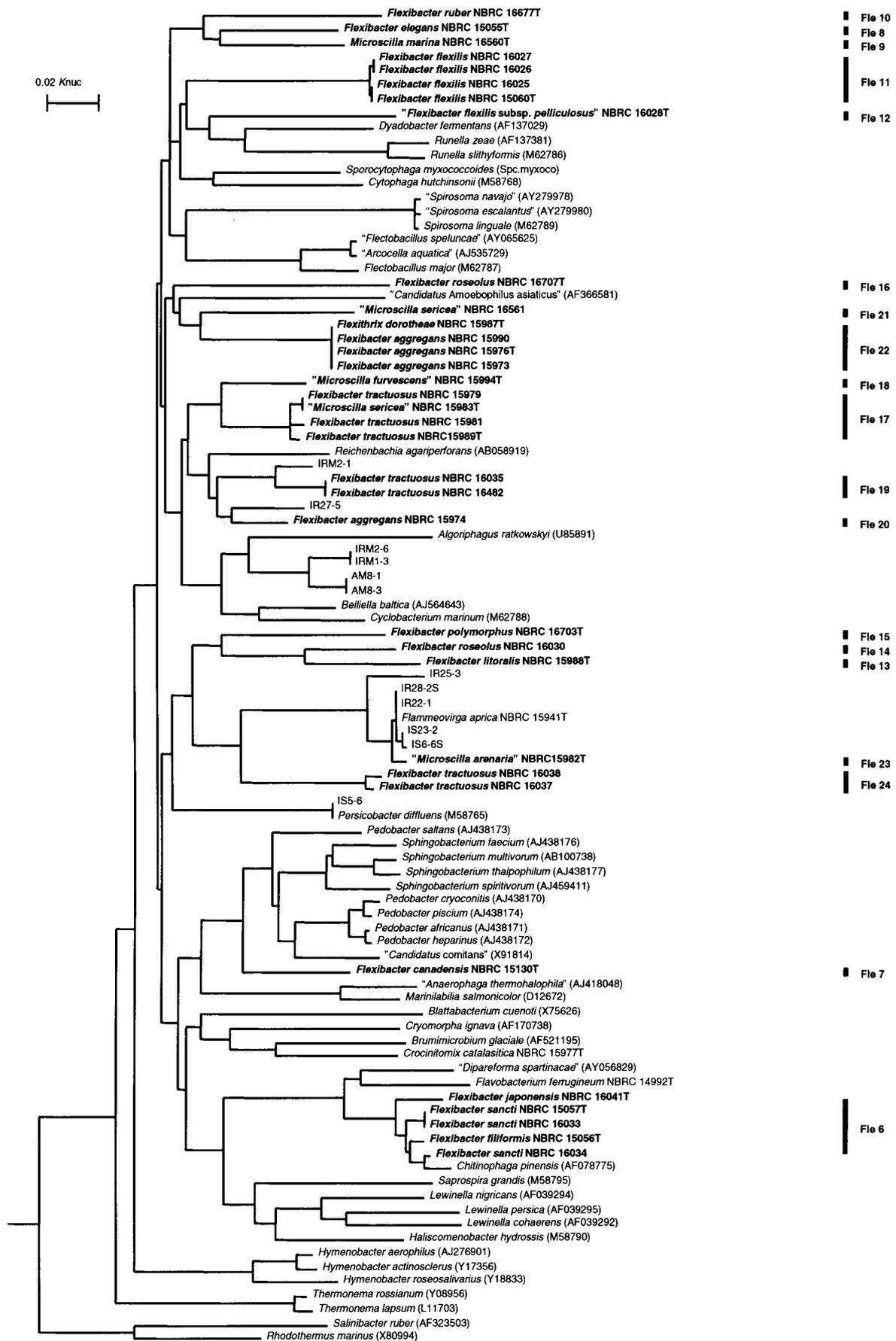


Fig. 3. Neighbor-joining tree of *Flexibacter*, *Flexithrix*, *Microscilla* strains, and their related taxa based on 16S rRNA sequences. Scale bar = 0.02 K_{nuc} in nucleotide sequences (12). Accession numbers of the sequences of reference organisms are shown in parenthesis. Number of each group is followed by Nakagawa et al. (2002)

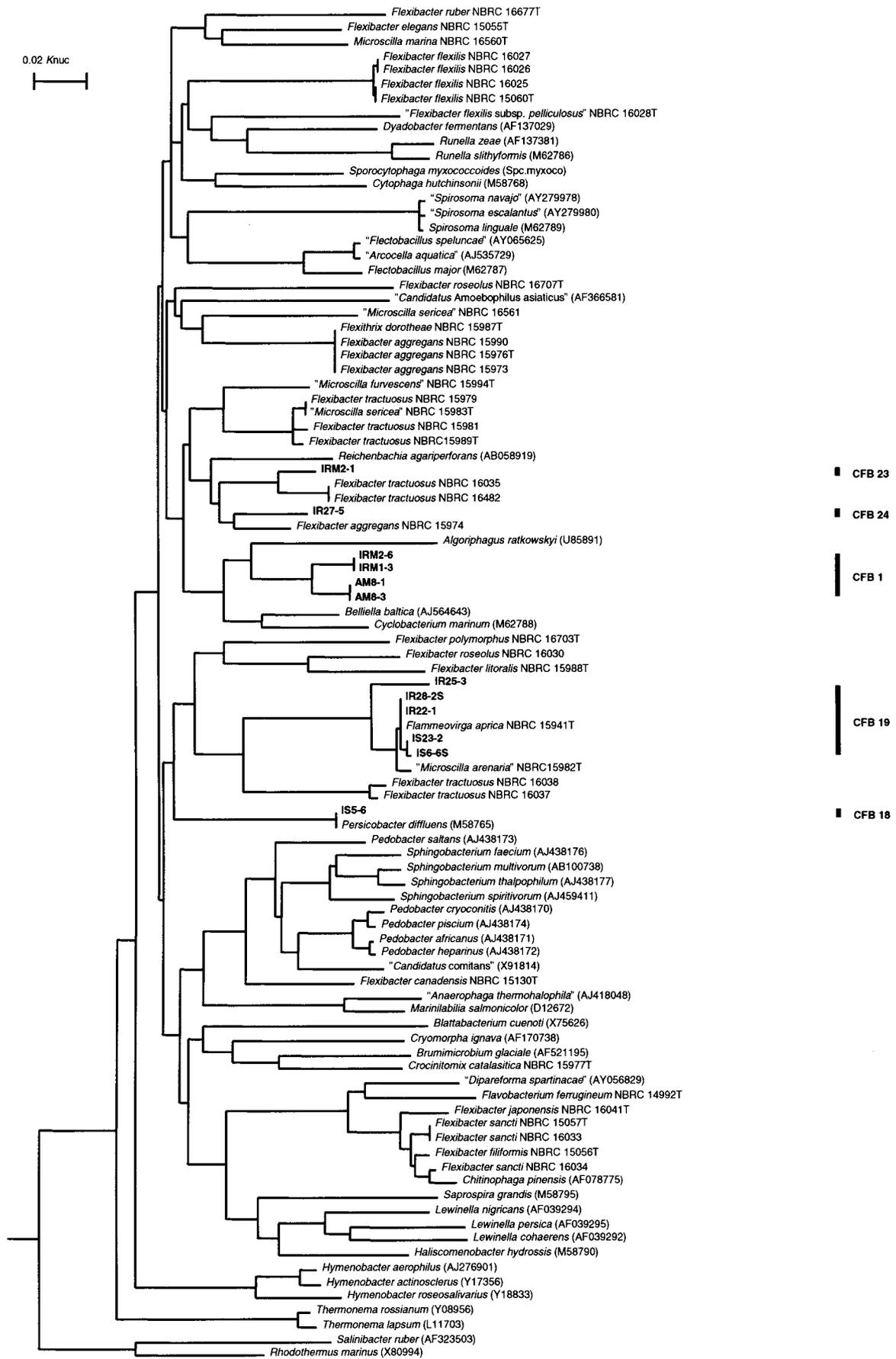


Fig. 4. Phylogenetic positions of *Cytophaga*-like isolates that do not belong to the family *Flavobacteriaceae* based on 16S rRNA sequences.

Scale bar = 0.02 K_{nuc} in nucleotide sequences (12). Accession numbers of the sequences of reference organisms are shown in parenthesis.

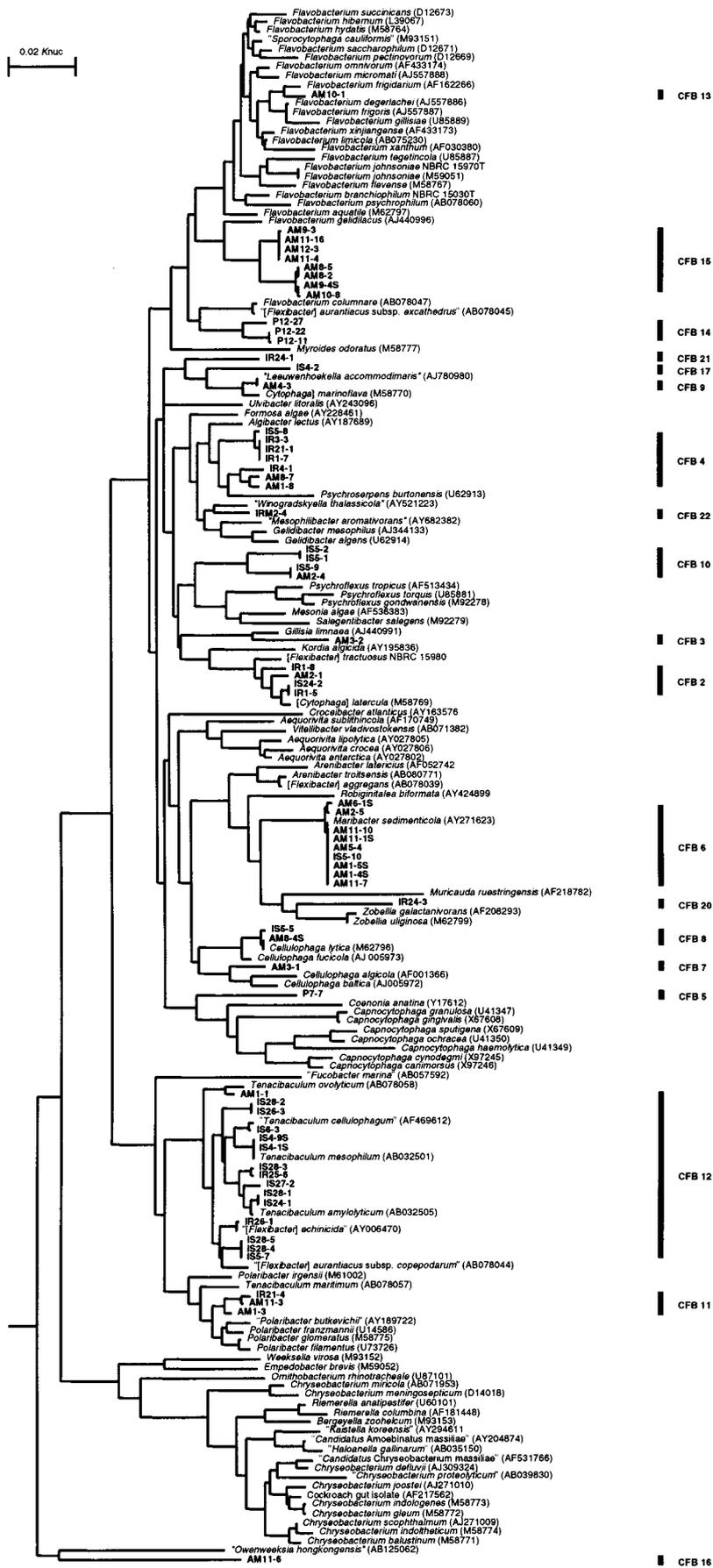


Fig. 5. Phylogenetic positions of *Cytophaga*-like isolates in the family Flavobacteriaceae based on 16S rRNA sequences.

Scale bar = 0.02 K_{muc} in nucleotide sequences (12). Accession numbers of the sequences of reference organisms are shown in parenthesis.

Flavobacteriaceae 科には含まれず (Fig. 4), 18 グループ (CFB 2, CFB 3, CFB 4, CFB 5, CFB 6, CFB 7, CFB 8, CFB 9, CFB 10, CFB 11, CFB 12, CFB 13, CFB 14, CFB 15, CFB 17, CFB 20, CFB 21, CFB 22) が *Flavobacteriaceae* 科に属し, CFB 16 は *Flavobacteriaceae* 科の根にあたる位置に新たな系統枝として存在した (Fig. 5). *Flavobacteriaceae* 科はキノン系が MK-6 であることで特徴づけられるため (2, 3, 16, 17, 18), CFB 16 のキノン系は *Flavobacteriaceae* 科の広がりかどこまでかを認識する上で重要である. 次に各グループの分類学的位置について述べる.

1) *Flavobacteriaceae* 科以外のグループ (Fig. 4)

CFB 1 は他の菌株からは属レベルで独立しており, 新属に分類されると予想される. CFB 23 と CFB 24 は *Flexibacter aggregans* NBRC 15974, *Flexibacter tractuosus* NBRC 16035, NBRC 16482 と共に独立したクラスターを構成した. このグループは既知分類群からは独立しており数種を含む新たな属に分類されるべきである. CFB 18 は *Persicobacter diffluens* と考えられる. 種の同定には DNA-DNA 相同性試験などさらなる検討が必要ではあるが, 海洋性でアガロース分解能がある *Persicobacter* 属とその性質は一致している. CFB 19 は *Flammeovirga* 属であると考えられる. これまでに *Flammeovirga* 属には *Flammeovirga aprica* 1 種, 2 株しか報告されていない. 本研究では CFB 19 に属する 14 分離株がいくつかのサブグループに分かれたことから, この属の新種が見いだされることが期待される.

2) *Flavobacteriaceae* 科に属するグループ (Fig. 5)

CFB 2 は *Cytophaga latercula* ならびに *Flexibacter tractuosus* NBRC 15980 と近縁であり, 最近提案された *Kordia* 属と姉妹関係にあった. CFB 3 は *Gillisia* 属の新種, CFB 4 は *Psychroserpens* 属の新種であると, それらの系統分類学的位置からは推定される. CFB 6 は *Maribacter sedimenticola* ときわめて近縁であった. CFB 7 と CFB 8 は *Cellulophaga* 属, CFB 11 は *Polaribacter* 属, CFB 12 は *Tenacibaculum* 属, CFB 13, CFB 14 および CFB 15 は *Flavobacterium* 属に含まれているが, 既知種からは系統的に隔たっている株がいくつか見いだされておりこれらが新種であることが期待される. CFB 9 は *Cytophaga marinoflava* とともに “*Leeuwenhoekella accomodimaris*” と近い系統にあった. CFB 20 は *Muricauda*, *Zobellia* 属などと共に 1 つの系統群を構成したが, 系統的な距離からは新属に分類され

る可能性が高い. CFB 5, CFB 10, CFB 17 および CFB 21 はいずれも既知属からは独立していると考えられ, それぞれが新属に分類されると推測される.

以上のように, 分離した菌株の多くが新種あるいは新属に分類されることが明らかとなり, CFB phylum には多くの未知種が存在していることが強く示唆された. 今後, さらなる分離を行って分離株について系統分類学的研究を進め, この菌群の多様性を解明するだけでなく, 貴重な微生物資源として保存し公共に公開していきたい.

5. おわりに

Cytophaga 類縁細菌群では系統関係に基づいて大規模な再分類がなされた. 一方, この細菌群では過去 10 年間に 20 をこえる新属が記載されてきたにも関わらず, 新規分類群に属すると考えられる株が数多く分離され, この細菌群の多様性はこれまでに考えられてきたよりもはるかに大きいと考えられる. 今後も CFB phylum に関する系統分類学的研究を行ってこの菌群の分類体系の確立を目指すとともに, 新規分類群を見いだすことによって微生物資源を増やし, カルチャーコレクションに貢献したいと考えている.

謝辞

本研究は山里一英教授のご指導のもとで東京大学応用微生物研究所において始めたものであり, その後財団法人発酵研究所 (IFO) ならびに独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジー本部生物遺伝資源部門 (NBRC) 勤務後には坂根健氏と波多野和徳博士のもとで継続して行いました. 受賞にあたり心から御礼申し上げます. NBRC でご協力いただいた高橋麻衣さんと宮下美香さんをはじめとする共同研究者の方々ならびに IFO と NBRC の皆様に御礼申し上げます. またこの場をおかりして, これまで私を支えてくれている両親, 妻, 息子に感謝します.

文献

1. Barbeyron, T., L'Haridon, S., Corre, E., Kloareg, B. and Potin, P. *Zobellia galactanovorans* gen. nov., sp. nov., a marine species of *Flavobacteriaceae* isolated from a red alga, and classification of [*Cytophaga*] *uliginosa* (ZoBell and Upham 1944) Reichenbach 1989 as *Zobellia uliginosa* gen. nov., comb. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **51**: 985–997 (2001).
2. Bernardet, J.-F., Segers, P., Vancanneyt, M., Berthe,

- F., Kersters, K. and Vandamme, P. Cutting a gordian knot: emended classification and description of the genus *Flavobacterium*, emended description of the family *Flavobacteriaceae*, and proposal of *Flavobacterium hydatis* nom. nov. (basonym, *Cytophaga aquatilis* Strohl and Tait 1978). *Int. J. Syst. Bacteriol.* **46**: 128–148 (1996).
3. Bernardet, J.-F., Nakagawa, Y. and Holmes, B. Proposed minimal standards for describing new taxa of the family *Flavobacteriaceae* and emended description of the family. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **52**: 1049–1070 (2002).
 4. Boone, D.R. and Castenholz, R.W. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Second edition vol 1, The *Archaea* and the deeply branching and phototrophic *Bacteria*, Springer-Verlag, New York (2001).
 5. Bowman, J.P., Mancuso, N.C. and Gibson, J.A.E. *Algoriphagus ratkowskyi* gen. nov., sp. nov., *Brumimicrobium glaciale* gen. nov., sp. nov., *Cryomorpha iganava* gen. nov., sp. nov., and *Crocinitomix catalasitica* gen. nov., sp. nov., novel flavobacteria isolated from various polar habitats. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **53**: 1343–1355 (2003).
 6. Callies, E. and Mannheim, W. Classification of the *Flavobacterium*–*Cytophaga* complex on the basis of respiratory quinones and fumarate respiration. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **28**: 14–19 (1978).
 7. Christensen, P.J. The history, biology, and taxonomy of the *Cytophaga* group. *Can. J. Microbiol.* **23**: 1599–1653 (1977).
 8. Hamana, K., Nakagawa, Y. and Yamasato, K. Chemotaxonomic significance of polyamine distribution patterns in the *Flavobacterium*–*Cytophaga* complex and related genera. *Microbios* **81**: 135–145 (1995).
 9. Hayes, P.R. A taxonomic study of flavobacteria and related Gram negative yellow pigmented rods. *J. Appl. Bacteriol.* **43**: 345–367 (1977).
 10. Holmes, B., Owen, R.J. and McMeekin, T.A. Genus *Flavobacterium* Bergey, Harrison, Breed, Hammer and Huntoon 1923, 97^{AL}, *In* Krieg, N.R. and Holt, J.G. (eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* vol 1, p. 353–361, Williams and Wilkins, Baltimore (1984).
 11. Johansen, J.E., Nielsen, P. and Sjøholm, C. Description of *Cellulophaga baltica* gen. nov., sp. nov. and *Cellulophaga fucicola* gen. nov., sp. nov. and reclassification of [*Cytophaga*] *lytica* to *Cellulophaga lytica* gen. nov., comb. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **49**: 1231–1240 (1999).
 12. Kimura, M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* **16**: 111–120 (1980).
 13. Nakagawa, Y., Hamana, K., Sakane, T. and Yamasato, K. Reclassification of *Cytophaga aprica* (Lewin 1969) Reichenbach 1989 in *Flammeovirga* gen. nov. as *Flammeovirga aprica* comb. nov. and *Cytophaga diffluens* (ex Stanier 1940; emend Lewin 1969) Reichenbach 1989 in *Persicobacter* gen. nov. as *Persicobacter diffluens* comb. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **47**: 220–223 (1997).
 14. Nakagawa, Y., Sakane, T., Suzuki, M. and Hatano, K. Phylogenetic structure of the genera *Flexibacter*, *Flexithrix*, and *Microscilla* deduced from 16S rRNA sequencing analysis. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **48**: 155–165 (2002).
 15. Nakagawa, Y., Suzuki, M. and Hatano, K. Phylogenetic diversity of *Cytophaga*-like strains isolated from the sub-tropical zone of Japan. *IFO Res. Commun.* **20**: 61–72 (2001).
 16. Nakagawa, Y. and Yamasato, K. Phylogenetic diversity of the genus *Cytophaga* revealed by 16S rRNA sequencing and menaquinone analysis. *J. Gen. Microbiol.* **139**: 1155–1161 (1993).
 17. Nakagawa, Y. and Yamasato, K. The molecular systematics of *Cytophaga* species based on the 16S rRNA sequences, *In* Jooste, P.J. (ed.), *Advances in the taxonomy and significance of Flavobacterium, Cytophaga and related genera*, p. 163–170, University Press UOFS, Bloemfontein (1993).
 18. Nakagawa, Y. and Yamasato, K. Emendation of the genus *Cytophaga* and transfer of *Cytophaga agarovorans* and *Cytophaga salmonicolor* to *Marinilabilia* gen. nov. : phylogenetic analysis of the *Flavobacterium*–*Cytophaga* complex. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **46**: 599–603 (1996).
 19. Oyaizu, H. and Komagata, K. Chemotaxonomic and phenotypic characterization of the strains of species in the *Flavobacterium*–*Cytophaga* complex. *J. Gen. Appl.*

- Microbiol. **27**: 57–107 (1981).
20. Reichenbach, H. Genus *Cytophaga* Winogradsky 1929, 577^{AL}, In Staley, J.T., Bryant, M.P., Pfennig, N., and Holt, J.G. (eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* vol. 3, p. 2015–2050, Williams and Wilkins, Baltimore (1989).
 21. Reichenbach, H. Genus *Flexibacter* Soriano 1945, 92^{AL}, In Staley, J.T., Bryant, M.P., Pfennig, N., and Holt, J.G. (eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* vol. 3, p. 2061–2071, Williams and Wilkins, Baltimore (1989).
 22. Reichenbach, H. Genus *Microscilla* Pringsheim 1951, 140, emend. Lewin 1969, 194^{AL}, In Staley, J.T., Bryant, M.P., Pfennig, N., and Holt, J.G. (eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* vol. 3, p. 2071–2073, Williams and Wilkins, Baltimore (1989).
 23. Shewan, J.M. and McMeekin, T.A. Taxonomy (and ecology) of *Flavobacterium* and related genera. *Ann. Rev. Microbiol.* **37**: 233–252 (1983).
 24. Suzuki, M., Nakagawa, Y., Harayama, S. and Yamamoto, S. Phylogenetic analysis of genus *Marinilabilia* and related bacteria based on the amino acid sequences of GyrB and emended description of *Marinilabilia salmonicolor* with *Marinilabilia agarovovans* as its subjective synonym. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **49**: 1551–1557 (1999).
 25. Suzuki, M., Nakagawa, Y., Harayama, S. and Yamamoto, S. Phylogenetic analysis and taxonomic study of marine *Cytophaga*-like bacteria: proposal for *Tenacibaculum* gen. nov. with *Tenacibaculum maritimum* comb. nov. and *Tenacibaculum ovolyticum* comb. nov., and description of *Tenacibaculum mesophilum* sp. nov. and *Tenacibaculum amylolyticum* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **51**: 1639–1652 (2001).
 26. Vancanneyt, M., Segers, P., Torck, U., Hoste, B., Bernardet, J.-F., Vandamme, P. and Kersters, K. Reclassification of *Flavobacterium odoratum* (Stutzer 1929) strains to a new genus, *Myroides*, as *Myroides odoratus* comb. nov. and *Myroides odoratimimus* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **46**: 926–932 (1996).
 27. Vandamme, P., Bernardet, J.-F., Segers, P., Kersters, K. and Holmes, B. New perspectives in the classification of the flavobacteria: description of *Chryseobacterium* gen. nov., *Bergeyella* gen. nov., and *Empedobacter* nom. rev. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **44**: 827–831 (1994).
 28. Woese, C.R. Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.* **51**: 221–271 (1987).