

# 千葉大学真菌医学研究センターにおけるアンプル およびストックデータ管理について

伊藤純子

千葉大学真菌医学研究センター 病原真菌・放線菌管理室  
〒260-8673 千葉市中央区亥鼻1-8-1

## The Ampoule and Stock Data Management for Preservation of Pathogenic Fungi and Actinomyces in the Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses, Chiba University

Junko Ito

Culture Collection of the Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses, Chiba University  
1-8-1, Inohana, Chuo-ku, Chiba 260-8673, Japan

### 1. はじめに

千葉大学真菌医学研究センターには、病原真菌がおよそ150属1,000種、計11,000株、放線菌がおよそ37属86種、計1,400株保存されています。これら菌株は、ほぼ9割がL-乾燥法で保存されていますが、乾燥に弱い株やバイオセーフティーレベル3にランクされている菌株は凍結保存されています。それ以前から放線菌は凍結乾燥により長期保存されていましたが、真菌に関しては研究者ごとにスラント保存を行なっていました。この菌株を統一して長期保存を行なうようになったのは約20年程前からです。当時スラントで保存していた菌株のL-乾燥保存法による長期保存が開始されました。同時に各研究者がスラント保存していた菌株を一元化し、番号と基本データを記載して菌株保存台帳を作製し、そこに保存アンプル数も記入することになりました。

当センターの保存菌株は病原性を有するものがほとんどであり、教育、学術研究や薬剤開発のための重要なバイオリソースとして利用されてきましたが、1993年に生物多様性条約が発効してからは、国家的に整備すべき研究基盤として重要視されるようになりました。特に2001年9月11日のニューヨーク世界貿易センタービルに対するテロに引き続いた炭疽菌によるバイオテロをきっかけとして、菌株の国際間および国内間の移送が難しくなり、菌株とデータ管理が問題になってきました。ここでは当センターで実際に行なっ

ている菌株の保存およびストックデータ管理の方法について紹介します。

### 2. リスク分散のための重複保管 (図1)

センター内研究者が収集あるいは購入した菌株をIFM (Institute for Food Microbiology\*)へ登録・保存する場合、データベースに菌株情報を入力して菌株申請書を作製し、それをプリントアウトして菌株と一緒に菌株管理室へ依頼します。保存業務担当者は、申請書のバーコードからデータベース上の依頼菌株の画面を呼び出しIFM番号を発番、この時点でIFMへの

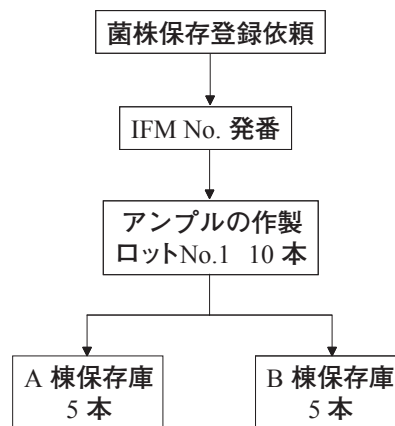


図1 千葉大学真菌医学研究センターの菌株保存の流れ

表1 バイオセーフティーレベル3に属する高度病原真菌

菌種	生息域
<i>Coccidioides immitis</i>	米国西南部（カリフォルニア，アリゾナ，ネバダ，ユタ，テキサスなど） メキシコ西部，アルゼンチンのパンパ地帯，ベネズエラ北部，ブラジル東北部
<i>Histoplasma capsulatum</i> *	南北両アメリカ大陸，東南アジア，アフリカ
<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	ブラジルを中心とする中南米
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	アメリカ東北部，五大湖周辺，ミシシッピー川流域，ウイスコンシン州
<i>Penicillium marneffei</i>	ベトナム北部山岳地帯，中国・ベトナム国境地帯，タイ，香港，中国南部地方

\*希に日本国内感染が発生

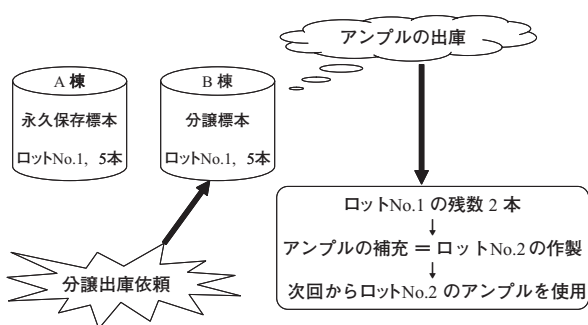


図2 標本およびロットの管理

菌株登録が完了となります。菌株に IFM 番号がついた後、L-乾燥アンプルの作製を行ないます。L-乾燥アンプルは1菌株につき10本作製しています。最初のアンプルは第1回目の保存ということからロット No. 1として、10本のアンプルは半分に分け、5本を真菌センターA棟に、残りの5本をB棟に保管しています。以前はA棟で全ての菌株を保管していましたが、1999年3月にB棟の改修工事が完了し、その時に災害などで生じるリスクを分散、減少する目的で保存株の半分をB棟に移し、2カ所で保管する体制を整えました。

### 3. 標本およびロットの管理 (図2)

A棟に保管してある5本のアンプルは永久保存標本、B棟に保管してある5本のアンプルは分譲標本として管理しています。分譲依頼があった時はB棟に保管してあるアンプルより出庫します。A棟に保管してあるアンプルは、アンプルの破損や事故等がない限り、半永久的に保管することにしています。

ロットの管理は、分譲・出庫依頼のあった際、B棟のアンプルを出庫しアンプルの在庫が2本になる時点

で(B棟から3本目のアンプルを出庫する際)、アンプル補充用にも1本植え継ぎ、6~8本のアンプルの補充を行なっています。ここで補充されたアンプルがロット No. 2となります。補充したアンプルはすべてB棟に保管し、次回の出庫はロット No. 2から行ないます。同様にロット No. 2の在庫が減少し残り2本になる時にロット No. 3の補充を行なっています。ロット数が増えても各世代のロットは残すことになっています。複数のロットが存在する場合は、原則として最も新しいロットから出庫作業を行ないます。

### 4. バイオセーフティーレベル3菌株の管理

当センターには、病原真菌の中でバイオセーフティーレベル3に該当する菌株が保存されています(表1)。これら真菌種は乾燥により孢子が容易に浮遊し、L-乾燥を行なった場合排気システムを汚染する可能性があります。当センターでは凍結保存をしています。このような高度病原性真菌の多くは外来性で、海外では実験室内感染が知られています。そのため保存性を多少犠牲にしてすべてB棟のレベル3実験室で保管しています。B棟はセキュリティ面が徹底しており、入り口はすべて磁気カードによって管理されています。カードのない者の出入りは不可能であり、またカード番号によってB棟への出入りがチェックされています。さらにレベル3実験室に入室するには入り口で暗証番号を入力しないとドアが開かないようになっています。このようにレベル3菌株の保管場所は二重ロックのシステムによって厳重に管理されています。

### 5. 二次元バーコードを用いた菌株管理

当センターでは2002年から、二次元バーコードを

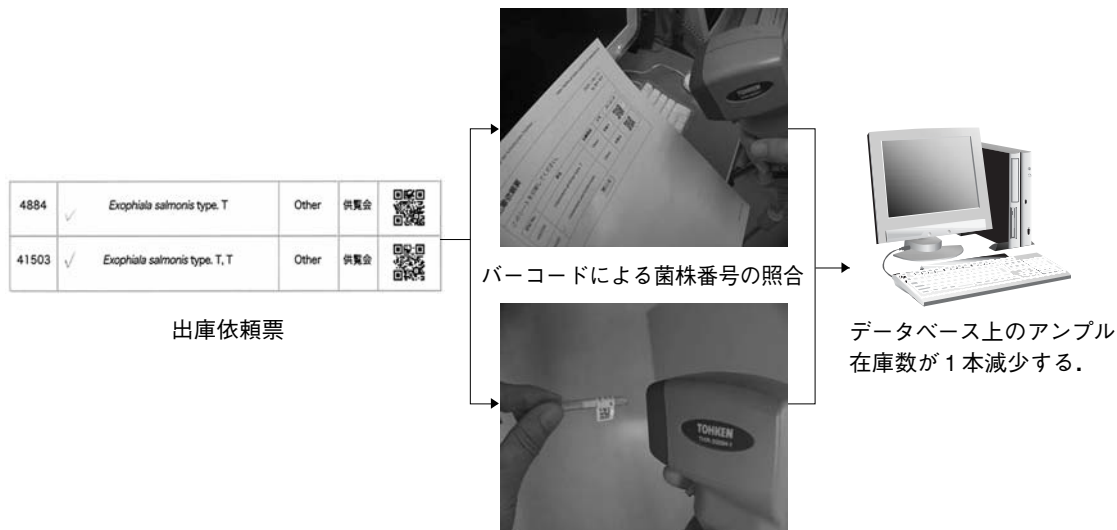


図3 二次元バーコードを用いた在庫管理の流れ

ロット情報の登録

IFM No. 54154  
 学名 *Epidermophyton floccosum*  
 株名 KDC-12  
 最適保存方法・温度 Freeze(F) / -80C  
 アンプルの本数 8

candidate  
 : occupied  
 : empty

冷凍庫番号	岡持ち数	岡持ち内の箱数	箱内の行数	1	2	3	4	5	6	7	8	9
凍O1	1	6	I									
凍O1	1	8	F									
凍O1	1	8	G									
凍O1	1	9	I									
凍O1	12	9	F									
凍O1	12	9	G									
凍O1	12	9	H									

図4 データベースによる凍結保存のアドレス管理

用いた菌株のデータおよびアンプルの在庫管理を行っています。L-乾燥保存アンプルと凍結保存チューブのラベルには二次元バーコードが刻印され、このバーコードを用いて在庫管理も行なっています（図3）。出庫に当たっては、外部機関から菌株分譲依頼があった場合は微生物委員会で分譲先の使用目的、経験、設備など、バイオセーフティーレベルに応じて審査し分譲を決定し、微生物委員会からの依頼を受けて保存業務担当者がweb上で出庫票の作製を行ないます。センター内使用では担当研究者がweb上で使いたい菌株を検索、出庫票を作製し菌株管理室へ届けます。保存業務担当者は出庫票に書かれている IFM No.の菌株を保存庫より出庫し、バーコードリーダーを用いて出

庫票のバーコードとアンプルのバーコードを読み取り照合します。ここでアンプルを取り違えていた場合はデータベース上にエラーメッセージがでるので、菌株の取り違いを防げるようになっています。また、バーコードを読み取った時点でデータベースのアンプル数が1本減少するので、同時に在庫管理も行なえます。

凍結保存における保存アドレスの管理もデータベースで行なっています（図4）。凍結保存はL-乾燥のアンプルの保管とは異なり、冷凍庫、オカモチ、ボックス等のアドレス管理が必要となります。この保存アドレスの管理もデータベース上で行なえるようなシステムとなっています。凍結保存の入庫情報を入力していくと次期保存アドレス候補が表示され、入庫する場所をチェックすることでアドレスの管理が行なえます。

6. 保存菌株データベース

千葉大学真菌医学研究センター内部閲覧用の菌株情報と在庫管理専用のデータベースが2002年に科学技術振興調整費で整備され、二次元バーコードから菌株情報にアクセスすることができるため保存や在庫管理の際の菌株検索が容易となりました（図5）。菌株情報には、菌種名、IFM 番号、オリジナル番号、あるいはリマーク、文献情報、分離源情報、菌株の形態、生理性状、遺伝子型、遺伝子配列、血清型などの情報項目が設けられており、情報が充実していくことで菌株の有用性も高まり利用者への適切な菌株提供が可能となります。今後も新たな菌株情報の増加が望まれます。



図5 菌株情報および在庫管理のためのデータベース

す。

一般公開用のデータベースは千葉大学真菌医学研究センターのHPトップ画面の上のナショナルバイオリソースプロジェクトから菌株データベースの画面へと進めることができ、一般公開されている菌株の情報の閲覧や、分譲依頼が行なえます。但し、バイオセーフティーレベル3の菌種については一般公開せず、パスワード管理しています。

### 7. おわりに

微生物資源である菌株の適切な保存と管理は、教育および学術基盤を永続させるため大変重要です。とりわけ病原微生物は危機管理方法が重視されています。大災害に備えてなるべく離れた機関同士の重複保管、不幸にして災害により長期停電や保管場所が破壊され

た場合の対処法のマニュアル作りなど課題が多く、また今後保存株数が増えていった際の保管場所の確保、データベース管理等、まだまだ解決していかねばならない課題が残っています。本学会の実務担当者会議のような場で保存を実際に行なっている機関同士が意見交換を行なうことは大変重要です。また、孤独な作業になりがちな菌株保存を第三者の目で見直す貴重な機会にもなります。今後とも保存機関同士が互いに切磋琢磨し、会員に保存実務の重要性をアピールする機会となる実務担当者会議の更なる充実が望まれます。

\*千葉大学真菌医学研究センターの最初の組織である腐敗研究所の英文名