

# BRC/JCM における微生物株の保存および在庫管理

大和田 勉

独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンター 微生物材料開発室 (JCM)  
〒 351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1

## The strain management in RIKEN BRC-JCM

Tsutomu Oowada

Microbe Division/Japan Collection of Microorganisms RIKEN BioResource Center  
2-1 Hirosawa, Wako, Saitama 351-0198, Japan

### 1. はじめに

理研バイオリソースセンター微生物材料開発室 (RIKEN BRC-JCM) では、健康や環境に関与する微生物株の収集・保存およびその関連技術の開発を行っている。これら微生物株を国内外の研究者や企業に提供を行っている。精度の高い微生物株の提供のため、複数の方法による保存 (凍結乾燥, ディープフリーザー $-80^{\circ}\text{C}$ , 液体窒素タンク $-172^{\circ}\text{C}$ )・定期的な検査管理を行っている。本稿 BRC/JCM における微生物株の保存および在庫管理の現状や当面解決すべき課題について報告する。

### 2. BRC/JCM における微生物株の保存

BRC/JCM において微生物株の保存は、安全のために複数の方法 (凍結保存と凍結乾燥保存) により行っている。すなわち、凍結保存は保護剤 (NB-10% Glycerol, DW-10% Glycerol など) に懸濁した菌液をクライオチューブ (10本) に分注して作製する。これらは保存微生物株の生育チェック用に1本使用し、凍結乾燥アンブレ作製のシードとしてディープフリーザー ( $-80^{\circ}\text{C}$ ) に6本、マスターとして液体窒素タンク (気相,  $-172^{\circ}\text{C}$ ) に2本収納している。また、危険分散のため1本を他の施設に保存している (図1)。液体窒素タンク (図2) には7,000株分 (14,000本) のクライオチューブが保存できる。凍結保存は迅速に処理ができる安全な保存方法として知られており、BRC/JCM ではすべての微生物株を凍結保存している。

当施設では効率よく凍結乾燥保存またはL-乾燥保

存を行うため、凍結乾燥機モデル (FD2085U0000) をマニホールド (多岐管式ワンタッチ着脱装置) 付き装置 (特願昭59-141735号) に改良した (図3)。その結果、1本のマニホールドには15本のアンブレが付けられ、同条件下で凍結乾燥アンブレまたはL-乾燥アンブレの作製が可能である。したがってアンブレ作製は15本が基本単位となり、作製したアンブレ (15本) は1本を加速試験・生育等のチェック用として用い、残り14本を提供用に温度コントロールされた保存室内 ( $4^{\circ}\text{C}$ ) のキャビネット (図4) に保管している。なお改良した凍結乾燥機には7本のマニホールドが装着でき、一度に計105本のアンブレ作製が可能である。アンブレは、ユーザーへの提供により在庫数が5本になると補充される (図5, 6)。補充はディープフリーザーに保存している凍結乾燥アンブレ作製用シードを用いて行うが、過去の提供数データをもとに、通常は15本を一単位として補充アンブレを作製するところ、提供数の多い微生物株は、複数単位を作製することもある (図7)。なお、これらのアンブレは各単位とも2本を永久保存として別キャビネットに保存している。

### 3. 在庫管理

在庫管理は、凍結保存・凍結乾燥保存共にJCM番号を基本とし、ロット番号、保存法の種類、製造日、入庫日、提供開始日、永久保存日、在庫数、などの必要項目をデータベース化し、微生物株の出庫毎に現物の数とデータ上の記載が異なっていないことを確認している。

## 凍結保存の管理

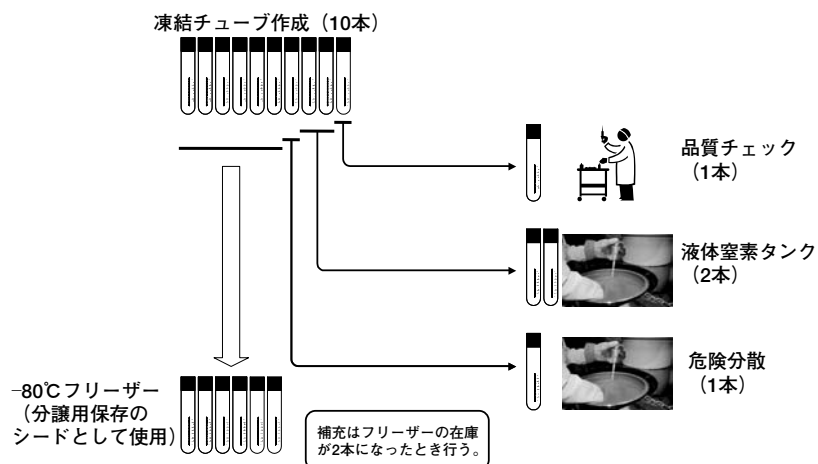


図1 凍結保存



図2 液体窒素タンク (気相-172℃)



図3 理研型凍結乾燥装置(特願昭59-141735号)



図4 保存室内(4℃)のアンフル保管キャビネット

### 4. 当面解決すべき課題

BRC/JCMで使用している凍結乾燥機は2台あり効率よく稼働させるために作業予定表を作り管理している。しかしながら、月単位で考えてみると月末になると凍結乾燥機使用の予約が多くなるため個々の菌株担

当者が新規および補充アンフル作製を月単位で満遍なく行うよう指示している。

現在使用しているガラスアンフルは、1本1本が手作りのため熔封部分のガラスの厚みが微妙に異なっている。そのためアンフルを熔封する場合、熟練した熔封技術が必要になる。個々の熔封の差をなくし、均一なアンフル作製のため、自動機械による熔封が望ましいと考えている。

さらに凍結保存の場合は、微生物株は最初にディープフリーザー(-80℃)で凍結を行い、その後、上述の各保存場所へ分配を行っているが、分配に時間がかかると凍結融解を起こす危険があるため、迅速に移動しなければならない。

作製されたアンフルの加速試験・生育等のチェックが駄目な場合、その原因を早急に究明し、菌株担当者が速やかに分譲用アンフルから分譲用凍結クライオチューブに変更する。菌株の提供依頼があった場合は、

依頼内容		出庫	発送	内部出庫	在庫管理	依頼管理			
在庫管理/分譲用保存									
JCM番号	7255			担当者	M				
学名	Saccharomyces cerevisiae								
▼	lot	種類	区分	準備日	製造日	入庫日	初期在庫	現在在庫	check
◎	7	N	WL	2004年5月10日	2004年5月12日	2004年5月19日	44	44	*
○	6	N	CL		2000年8月1日	2000年12月27日	44	5	*
○	5	N	PS		1999年4月24日	1999年7月19日	29	1	*
○	4	N	PS		1995年9月30日	1996年1月19日	15	1	*
○	3	N	PS		1994年8月28日	1994年9月7日	15	1	*
○	2	N	PS		1990年10月6日	1990年11月5日	15	1	*
○	1	N	PS		1990年5月7日	1990年5月14日	15	1	*

WL：待機ロット  
CL：現行ロット  
PS：永久保存

図5 JCMデータベースシステム

依頼内容		出庫	発送	内部出庫	在庫管理	依頼管理
在庫管理/分譲用保存						
JCM番号	7255			担当者	M	
学名	Saccharomyces cerevisiae					
ロット	6					
種別	N：アンプル					
区分	CL：現行ロット					
準備日						
製造日	2000年8月1日					
入庫日	2000年12月27日					
開始日	2001年2月5日					
永久保存日						
初期在庫	44					
現在在庫	5					
凍結乾燥不能	可能					
チェック	*：OK					
備考						

図6 JCMデータベースシステム（ロット6）

依頼内容		出庫	発送	内部出庫	在庫管理	依頼管理
在庫管理/分譲用保存						
JCM番号	7255			担当者		
学名	Saccharomyces cerevisiae					
ロット	7					
種別	N：アンプル					
区分	WL：待機ロット					
準備日	2004年5月10日					
製造日	2004年5月12日					
入庫日	2004年5月19日					
開始日						
永久保存日						
初期在庫	44					
現在在庫	44					
凍結乾燥不能	可能					
チェック	*：OK					
備考						

図7 JCMデータベースシステム（ロット7）

菌株により凍結クライオチューブまたは解凍したクライオチューブであることを依頼者に連絡して提供している。

現在使用している印刷機（イマージュ株式会社-S7S1.1M）は、新規登録した微生物株の複数保存のために使用する提供用アンプル・凍結用クライオチューブ・凍結用キャピラリーなどに菌株番号を印刷している。しかしその印刷機を常時使用するため1日おきに印刷機を稼働させている。補充用アンプルの菌株番号印刷は外注しているが、至急に補充用アンプルを作製しなければならない場合は現在使用している印刷機

で菌株番号を印刷している。以上述べたような課題を改善してより安全な保存体制を作り上げていく必要がある。

#### おわりに

理研 BRC/JCM における微生物株の保存および在庫管理の現状や当面解明すべき課題について述べた。多様な微生物株の寄託・収集が年々増加しており、迅速な対応が求められている、安全・確実な保存および管理には休みがないのが現状である。