

JCM 保有 *Lactobacillus* 属菌株の品質管理

北原真樹

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
〒351-0198 埼玉県和光市広沢2-1

Quality management of *Lactobacillus* strains in JCM

Maki Kitahara

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

1. 背景

Lactobacillus 属は 120 種あまりを有する属であり、JCM では最も提供数の多い属である。JCM 公開株 339 株のうち基準株以外の参考株は 247 株存在し、そのうち 1980 年代に登録された株は 145 株にのぼる。1980 年代といえば、生理生化学性状を中心とした表現型での分類が主流であり、現在の 16S rRNA 遺伝子配列を中心とした分類とは異なる株も多く存在すると推定される。菌株の品質管理の視点から、20 年前に分類された菌株を再チェックするため、16S rRNA 遺伝子配列を用いて *Lactobacillus* 属菌株の学名の確認を行うこととした。

2. 方法

供試菌株は *Lactobacillus* 属公開株 339 株のうちこれまでに 16S rRNA 遺伝子配列を決定していなかった 306 株とした。凍結乾燥アンプルを開封し、寒天培地上でコンタミネーションの確認を行った後、タカラバイオ (株) ドラゴンジェノミクスセンターに依頼し 16S rRNA 遺伝子配列の 5' 末端側前半 620 ~ 750 bp を決定した。決定した配列が基準株との 97% 以上の類似度があった場合、現表記の学名は正しいと判定した。

3. 結果

306 株中 281 株 (91.8%) は現表記の学名は正しいと判定した。しかし 25 株 (8.2%) については学名と 16S rRNA 遺伝子配列のデータが過去の同定結果と一致しなかった。25 株のうち 22 株については *Lactobacillus* sp. に学名変更した (表 1)。今回決定

した 16S rRNA 遺伝子配列は全て DDBJ に登録、登録番号をオンラインカタログに記載し、ユーザーに菌株情報の一つとして利用してもらえよう公開した。図 1 に具体例として JCM 2761 について示した。*Lactobacillus* sp. に学名変更するのが適当であると判断した株については [More information] に Blast での近縁種を記載した。25 株のうち残り 3 株についてはそれぞれ状況が異なる結果で、1 株は異なる株に置き換わった可能性がある菌株で公開リストから除いた。1 株は新種の可能性があり、また JCM 12512[†] は他の保存機関でも問題があるといわれている菌株であり (寄託菌株が間違っている) そのままの状態で開催を続けることとした。

4. まとめ

現在は、JCM に寄託される細菌の全ての菌株について 16S rRNA 遺伝子配列による菌株の確認を行っており、今後寄託される菌株も含めて *Lactobacillus* 属については全ての菌株で 16S rRNA 遺伝子配列による確認ができたと考えている。また *Lactobacillus* 属に限らずこれまでに JCM で保有している菌株で 16S rRNA 遺伝子配列によって簡便に学名の確認を行える菌株については順次確認を行っていく必要があると考えている。

<演題に対する質疑>

Q: 16S の解析の結果、全く違う種になった場合の分譲先への対応は?

A: 今のところは未対応。参考株の場合、別の適当な株を紹介する。それ以外の株の場合は、ケース・バイ・ケースで対応している。

E-mail: kitahara@jcm.riken.jp

表1 JCM カタログでの学名を *Lactobacillus* sp. に変更した 22 株

JCM No.	旧学名	JCM 登録年		Blast 結果	
2010	<i>L. amylovorus</i>	1983	<i>L. johnsonii</i>	687/689	99.7%
1102	" <i>L. brevis</i> subsp. <i>gravesensis</i> "	1982	<i>L. hilgardi</i>	669/669	100%
1183	" <i>L. brevis</i> subsp. <i>otakiensis</i> "	1982	<i>L. hilgardi</i>	683/683	100%
11039	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	2000	<i>L. helveticus</i>	674/674	100%
1013	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>	1982	<i>L. amylolyticus</i>	501/504	99.4%
2761	<i>L. fermentum</i>	1984	<i>L. farraginis</i>	693/693	100%
2768	<i>L. fermentum</i>	1984	<i>L. farraginis</i>	693/693	100%
5867	<i>L. fermentum</i>	1986	<i>L. reuteri</i>	692/692	100%
5868	<i>L. fermentum</i>	1986	<i>L. reuteri</i>	676/676	100%
5869	<i>L. fermentum</i>	1986	<i>L. reuteri</i>	685/685	100%
7525	<i>L. fructivorans</i>	1989	<i>L. acetotolerans</i>	650/659	98.6%
7527	<i>L. fructivorans</i>	1989	<i>L. acetotolerans</i>	650/659	98.6%
1552	<i>L. helveticus</i>	1982	<i>L. delbrueckii</i>	640/641	99.8%
7524	<i>L. homohiochii</i>	1989	<i>L. acetotolerans</i>	620/629	98.6%
9717	<i>L. homohiochii</i>	1995	<i>L. acetotolerans</i>	630/639	98.6%
9721	<i>L. homohiochii</i>	1995	<i>L. paracasei</i>	629/629	100%
2774	<i>L. mali</i>	1984	<i>L. nagelii</i>	633/645	98.1%
2770	<i>L. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	1984	<i>L. harbinensis</i>	658/660	99.7%
1088	<i>L. reuteri</i>	1982	<i>L. fermentum</i>	604/604	100%
2762	<i>L. reuteri</i>	1984	<i>L. farraginis</i>	605/605	100%
2763	<i>L. reuteri</i>	1984	<i>L. farraginis</i>	762/762	100%
2764	<i>L. reuteri</i>	1984	<i>L. farraginis</i>	593/597	99.3%

JCM Catalogue

Searched about JCM Accession number=[2761].

Lactobacillus sp.

[2761](#) < M. Seki M4 <- S. Tanasupawat.
Accessioned in 1984.

[Lactobacillus fermentum](#).
Medium [1](#), [13](#), [84](#); Temperature 35°C; Rehydration fluid [663](#).

Click JCM Number to get more information on the strain.

- [Search using Scientific Name key.](#)
- [Search using JCM Accession Number key.](#)
- [Search using Culture Collection key.](#)

Strain data

Searched about jcm=[2761].

Lactobacillus sp.
[JCM number]: [2761](#)
[Source]: Fermented molasses.

[More information]: 16S rDNA partial sequence of this strain has a high similarity (100%) with *L. farraginis*.
[Quality control by DNA sequences]: 16S rDNA ([AB289107](#)).

Click JCM Number to get more information on the strain.

図1 JCM オンラインカタログでの記載 (<http://www.jcm.riken.jp/>)

Q：CCUGの結果とは一致したのか？

コメント（鈴木・NBRC）：

株が取り換えられた場合と、誤同定の場合とは対応が異なる。2か所のCCへの寄託が必要になっているので、そのようなことが発覚した場合のCC間の情報の共有が重要と考える。
間違った株を分譲した先で、それが新種として記

載され論文が出たりすると、大変な混乱になる。

Q：同じ種で別株が複数ある場合、取り違えの予防法はあるか？

A：タイプ株と個々の株との比較はできるが、質問のようなケースでは難しい。今回発表した例でも、元からある株との比較はしていない。