

## 医学細菌の分類・命名の情報

15. *Candidatus* 培養に成功していない原核生物の暫定的地位

岐阜大学大学院医学研究科再生医科学専攻再生分子統御学講座  
微生物・バイオインフォマティクス部門

河 村 好 章

新しい分類群（新菌種，新属など）を正式に提案する際には，既存の分類群（類縁の菌種や属など）との鑑別性状を含め，その分類群の特徴を示す生化学性状データや遺伝的データなどの“記載”が十分に行われていなければならない．現在の細菌分類学では，1.形態学的データ，2.16S rRNA塩基配列データ，3.ゲノムのG+Cmol%，4.DNA-DNA相同試験データ，5.生化学性状反応の5種のデータを中心にして，さらに必要に応じて細胞壁組成やキノン分子種の決定などのデータを収集し，新しい分類群を特徴づける記載を行うのである．特に生化学性状による鑑別性状は，新しい分類群として認識された後も，その分類群を同定する際に最も重用されるので，良く吟味したデータを揃える必要がある．これらのデータは単離・培養された菌株が存在してこそ収集できるものがほとんどである．

近年の遺伝子技術の進歩には目を見張るものがあり，水や土壌といった環境サンプルなどに対して，分離培養操作なしに直接DNAを検査する方法がいくつも開発されている．そして既存の菌種とは異なる配列を持ったDNAが存在するのを見いだす事も多い．しかしながらその原核生物を培養する事が現在の方法ではできないというケースもしばしばある．寄生性あるいは共生性の生物のなかにもこのようなケースに合致するものがある．このようなケースでは，遺伝子の塩基配列などのDNA情報から未知の原核生物が存在していることは明らかであるが，単離培養できず生化学

性状などのデータを収集することができないので，結果として新分類群の提案ができないのである．

1994年にMurrayとSchleiferにより，このような記載不十分な原核生物に対し*Candidatus*という新しい概念を作るという提案がなされた<sup>1)</sup>．この提案は1994年7月にプラハで開かれたICSB(国際細菌命名委員会，現在はICSP:国際原核生物命名委員会)の裁定委員会で諮られ，ICSBに対しInternational Journal of Systematic Bacteriology誌(ICSBの公式機関誌．現在はInternational journal of Systematic and Evolutionary Microbiology)上で*Candidatus*のリストを作ること，および*Candidatus*というコンセプトの紹介文を作成することを勧告した<sup>2)</sup>．これを受けてMurrayとStackebrandtが“記載不十分な原核生物に対する暫定的地位*Candidatus*の実行”と題するtaxonomic noteを発表した<sup>3)</sup>．1996年8月の裁定委員会で再度*Candidatus*について議論され，記述の一部についての補正(表1参照)を行った後，満場一致でMurrayとStackebrandtのtaxonomic noteを国際細菌命名規約の付録(Appendix of the International Code of Nomenclature of Bacteria)に採択するようICSBに勧告することとなった<sup>4)</sup>．この勧告は同時期に開催されたICSBでも満場一致で採択された<sup>5)</sup>．以上のような経緯があり，現在では*Candidatus*という培養に成功していない原核生物の暫定的な地位が公式に設置されている．

表 1 暫定分類群の記録のために盛り込むべき項目

Order of mention	Example responses
status	<i>Candidatus</i>
Vernacular epithet	" another "
Phylogenetic lineage of possible genes	e. g., $\delta$ -proteobacteria, possible( probable ) <i>Desulfovibrio</i>
Cultivation*	<u>Not Cultivated</u> or <u>Can Not be Sustained</u> in culture for more than a few serial passages.
Gram reaction	G +, G -, <u>Variable</u> , or <u>Not Applicable</u>
Morphology	<u>Rod</u> , <u>Coccus</u> , <u>Filamentous</u> , <u>Mycelial</u> , <u>Other</u> , <u>Unknown</u>
Basis of assignment	<u>Nucleic Acid Sequence</u> ( data bank # ) <u>Morphology</u> , etc.
Specific identification of morphotype	Probe identification
Habitat, association, or host	<u>Symbiotic</u> ( name host and tissue ) <u>Free-Living</u> ( sea, etc ) etc
Metabolism and unusual features	<u>Aer.</u> , <u>Anaer.</u> , <u>Microar.</u> , etc
Growth temperature	<u>Meso-</u> , <u>Psychro-</u> , <u>Thermophilic</u>
Source	From ileal cells of pigs
Author(s)	Essential reference

\*参考文献 1, 2, 3 までは " Cultivated or Not Cultivated " となっていたが 1996 年の裁定委員会に変更された( 参考文献 4 ) .

公式に新しい分類群を提案するにはその記載が不十分であるが、潜在的に新しい属や種が存在すると想定できる状況には以下のような場合がある；1) 自然のサンプルから直接回収した DNA 由来のクローン(組換え体)から得られる情報しかない時、2) 環境中にその遺伝子が存在している事は特異 PCR プライマーを使った増幅によって信頼性高く検証できるが、その DNA を持っている細胞の存在は顕微観察や培養によって追認できない時、3) 天然サンプル中で生物由来の遺伝物質は検出できるが、信頼性高く宿主の中に細菌がいるということが *in situ* ハイブリダイゼーションで証明できない、例えば細菌性血管腫症の原因細菌などの時、4) *in situ* ハイブリダイゼーションにより天然サンプル中に生物由来の遺伝物質が検出できるが、系統位置や形態の他に特筆すべき情報がない時。このような状況下において、主に遺伝情報しか得られない場合に *Candidatus* を考慮することができる。ここで重要なのは、*Candidatus* とは遺伝情報や塩基配列それ自体を差すのではなく、その遺伝子を持つ原核生物の存在を差しているということである。

もちろん遺伝情報さえあれば、なんでもかんでも *Candidatus* として提案することが出来るわけではない。*Candidatus* を提案する場合には、その生物の系統位置を決定するのにふさわしい塩基配列

(1000 塩基以上の長さの 16S rRNA 塩基配列は必須)の情報に加え、細胞構造や代謝活性、増殖特性などを含むあらゆる情報を含める必要がある。また *in situ* ハイブリダイゼーションあるいはそれに代わる適切な方法による同定の方法が示されている必要がある。表 1 には暫定分類群の記録のために盛り込むべき項目の一覧を示した。また具体的な記録の例を以下に示した。

' *Candidatus Helicobacter bovis* [( $\epsilon$ -*Proteobacteria*), genus *Helicobacter*; NC; Gram-negative; helical; NAS( GenBank no. AF127027 ), oligonucleotide sequence complementary to unique region of 16S rRNA gene 5'-AAC TGC GTT TGA AAC TAT CAT T-3'; morphology 1.5-2.5  $\mu$ m long, 0.3  $\mu$ m wide, 1-3 complete spiral turns with a wavelength of  $\pm$  750nm, multiple flagella; symbiotic (*Bos*, abomasum); strong urease activity, cross-reaction with polyclonal *Helicobacter pylori*-derived antibodies ]. Groote, D.D. et al. Int. J. Syst. Bacteriol., 49 : 1707-1715.

表 1 でアンダーラインで示した略号はそのまま使用することができる。

今までに Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 誌 ( Int. J. Syst. Bacteriol. も含む ) に掲載された *Candidatus* の報告 40 例では環境由来(活性汚泥など) 4 例、共生生物(線虫などに) 8 例、昆虫由来 5 例、植物

由来 11 例，動物由来 11 例となっている．今までのところヒトのサンプル由来の例は報告されていないが，ウシやネコ，ブタなどヒトの生活に身近な動物由来の例もあり，*Candidatus* はヒト由来微生物を扱う者にとっても無縁の存在ではないだろう．

遺伝子解析技術が発展し，また手軽に適應できる現在の研究環境では *Candidatus* を考慮しなければならないケースに遭遇することが今後増えてくると考えられる．特に環境微生物や昆虫および植物由来微生物を扱っている場合には，培養できない（現在知られている方法では培養できない場合と VNC (Viable but Not Cultivable) 状態にある場合も含む）原核生物を遺伝学的手法によって見いだすという方法はますます盛んに行われていくのではないかと考えられる．単離培養した株によってのみ得られる情報も多数あるので，培養に成功することには大きなメリットがあり，そのための努力を惜しんではならない．一方で遺伝情報だけであっても，既存の分類群とは異なる原核生物が存在していることをその名とともに記録・蓄積することは，生物の多様性の解明や進化の解明にも役立つ情報となるのではなからうか．

なお，*Candidatus* はあくまでも暫定的地位であるので，培養に成功するなどして新しい分類群の

提案に見合う記載（生化学性状など）が出来るようになれば，*Candidatus* を外して正式な分類群（新属，新菌種など）として提案することができる．

#### 文 献

- 1) Murray RGE, Schleifer KH : Taxonomic Notes : A proposal for recording the properties of putative taxa of prokaryotes. Int J Syst Bacteriol, 1994 ; 44 : 174 - 6.
- 2) JUDICIAL COMMISSION OF THE INTERNATIONAL COMMITTEE ON SYSTEMATIC BACTERIOLOGY : Minutes of the meetings, 2 and 6 July 1994, Prague, Czech Republic. Int J Syst Bacteriol, 1995, 45, 195 - 6.
- 3) Murray RGE, Stackebrandt E : Taxonomic Notes : Implementation of the provisional status *Candidatus* for incompletely described prokaryotes. Int J Syst Bacteriol, 1995 ; 45 : 186 - 7.
- 4) JUDICIAL COMMISSION OF THE INTERNATIONAL COMMITTEE ON SYSTEMATIC BACTERIOLOGY : VIIth International Congress of Microbiology and Applied Bacteriology. Minutes of the meetings, 17 and 22 August 1996, Jerusalem, Israel. Int J Syst Bacteriol, 1997 ; 47 : 240 - 1.
- 5) INTERNATIONAL COMMITTEE ON SYSTEMATIC BACTERIOLOGY : VIIth International Congress of Microbiology and Applied Bacteriology. Minutes of the meetings, 17, 18, and 22 August 1996, Jerusalem, Israel. Int J Syst Bacteriol, 1997 ; 47 : 597 - 600.

#### Current Topics on Classification and Nomenclature of Bacteria

##### 15. *Candidatus* the provisional status for prokaryotes that were not yet cultivable

Yoshiaki KAWAMURA

Department of Microbial-Bioinformatics, Regeneration and Advanced Medical Science,  
Gifu University Graduate School of Medicine

[ J.J.A. Inf. D. 76 : 985 - 987, 2002 ]