



農業生物資源ジーンバンクにおける *Pseudomonas* 属細菌の再同定

農研機構 遺伝資源センター さわだ ひろゆき ながい としろう あおき たかゆき
澤田 宏之・永井 利郎・青木 孝之

はじめに

Pseudomonas 属細菌は幅広い自然環境に生息し、多様な機能を有していることが知られている。しかも、極めて変異に富んでおり、これまでに属内に 200 を超す菌種が記載されてきている (PARTE, 2014)。ただし、その中には系統的に異質なものも含まれているため、「狭義の *Pseudomonas*」に相当する種・亜種は 170 余りに絞られると考えられている (ANZAI et al., 1997; PARTE, 2014, 等)。属内には植物の病害や霜害の原因菌だけでなく、生物防除や植物の成長促進への利用が期待される菌群も含まれていることから、本属を対象とした研究は植物病理学分野で盛んに行われてきた。そのため、農業生物資源ジーンバンクでも、本属菌の収集・特性評価には力を入れてきており、現時点 (2018 年 3 月) で 1,129 株を公開・配布しているところである。

なお、本属の分類体系は、近年の遺伝子・ゲノムに基づいた研究の進展に伴って大きく変遷しつつある。その結果、それ以前に同定され、ジーンバンクに登録されていた菌株の中には、ジーンバンクにおける学名の表記 (表示学名) を見直す必要が生じているものも存在する。そこでジーンバンクでは、前報 (青木ら, 2018) でも紹介したように、各種表現型・遺伝型の情報を利用して登録菌株を再同定したうえで、現時点で最も適切と思われる分類体系に基づいて表示学名を更新する作業を進めている。ただし、本属の分類体系がこれまでにたどってきた変遷が極めて激しいものであったこと、それにもかかわらず依然として数多くの問題が残されていること等が障害となり、種レベルの所属を特定できない事例が多数見いだされてきた。また、再同定を進めるにしたがって、本属の分類体系には新たな問題がさらに潜んでいる可能

性も浮き彫りになってきた。

本稿では、*Pseudomonas* 属を対象としてジーンバンクが実施してきた学名管理作業について紹介するとともに、新たに見いだされてきた分類上の問題に関しても簡単に報告したい。登録菌株の表示学名がどのような根拠のもとで更新されたのかをご理解いただくうえで、あるいは、残された分類上の問題に対して我々が今後、どのように対処すべきかを考えるうえで、本稿が少しでもお役に立てば幸甚である。

I 再同定の方法

主に分子系統解析に基づいて、所蔵する *Pseudomonas* 属細菌の「種レベルにおける表示学名」の妥当性について検証を試みてきた。そのためにまず、本属菌で指標として用いられることの多い 16S rRNA 遺伝子と *rpoD* について、各登録菌株の配列を決定した。次に、比較のために、「狭義の *Pseudomonas* 属」 (ANZAI et al., 1997; PARTE, 2014) に属すると考えられる 171 の既知種・亜種の基準株を対象として、16S rRNA 遺伝子については EzBioCloud (YOON et al., 2017)、*rpoD* については GenBank より配列データを収集した。そして、二つの遺伝子のデータを連結し、近隣結合法、あるいは最尤法によって系統樹を構築した。そのうえで、各登録菌株と基準株の位置関係に基づいて再同定を行い、必要に応じてその表示学名を修正・更新した。したがって、本解析に基づく検証作業は、16S rRNA 遺伝子と *rpoD* のいずれについても配列が決定できた登録菌株のみを対象としている。なお、学名の表記は、原則として List of prokaryotic names with standing in nomenclature (<http://www.bacterio.net/>) に収録されているものを基準とした。

また、分子系統解析に基づく再同定の妥当性をクロスチェックするために、あるいは、配列決定ができなかった菌株の再同定を行うために、必要に応じて以下の解析も併用している (青木ら, 2018)。すなわち、MALDI-TOF MS (マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析装置) によるリボソームタンパク質のマスペクトルの分析、ゲノム配列から算出した Average

Re-identification of Strains Belonging to the Genus *Pseudomonas* Preserved in the Genebank Project, NARO. By Hiroyuki SAWADA, Toshiro NAGAI and Takayuki AOKI

(キーワード: *Pseudomonas marginalis*, *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas fuscovaginae*, 分子系統, MALDI-TOF MS, ゲノム, 分類, 学名)