

酵母第一段階試験(詳細形態観察)報告書

シリアル番号 XXXXXxx
管理番号 SIID 00000
作業完了日 202x 年 xx 月 xx 日
報告日 202x 年 xx 月 xx 日

極秘資料

本報告書の使用にあたっての確認事項

1. 本報告書は株式会社テクノスルガ・ラボ 技術責任者による承認済みです。
2. 研究発表(論文投稿)や特許明細書への転用を除き、本報告書の一部または全部をそのままあるいは改変して第三者へ転用などされた場合には、株式会社テクノスルガ・ラボは一切の責任を負いかねます。
3. 当社受託サービス等は、試験・研究用途を目的として販売しております。当社受託サービスを医療や臨床診断などの試験・研究目的以外へご使用される場合、これに起因する損失・損害等については、当社では一切の責任を負いかねます。

技術責任者

印

株式会社テクノスルガ・ラボ 研究センター 技術部

〒424-0065 静岡県静岡市清水区長崎 388 番地の 1

TEL : 054-349-6211 FAX : 054-349-6121

Mail : tsl-contact@tecsrg.co.jp

検体情報

検体名	SIID	受取日
SAMPLE	00000	202x 年 xx 月 xx 日
備考:		

目的

検体の属レベルの特徴付けに重要な巨視的および微視的観察を行います。

方法

1. 培養条件

- ・ 培地¹⁾
 - BD Difco Yeast Mold Broth (YM) (Becton Dickinson, USA) + 寒天 (YM agar)
 - BD BBL Corn Meal Agar (CMA) (Becton Dickinson, USA)
 - 5 % Malt extract 寒天培地 (5% MA)
- ・ 培養温度 25°C
- ・ 培養期間 3 日間～8 週間
- ・ その他条件 好気培養

2. 巨視的および微視的観察

- ・ 顕微鏡
 - 光学顕微鏡 BX51 (Olympus, Japan) (微分干渉観察含む)
 - 実体顕微鏡 SMZ800 (Nikon, Japan)
- ・ マウント液 滅菌蒸留水

* 会社名、製品名は一般に各社の日本および各国での商標または登録商標です。

結果

1. 巨視的観察

表 1. 各試験平板培地上でのコロニー性状の観察結果

YM agar	周縁の形状	全縁
	隆起状態	周縁部は扁平で、中央部はクッション形
	表面の形状	平滑
	光沢および性状	バター様、湿性
	色調	白色～クリーム色
CMA	周縁の形状	全縁
	隆起状態	周縁部は扁平で、中央部はクッション形
	表面の形状	平滑
	光沢および性状	輝光性、湿性、バター様
	色調	白色～クリーム色
5%MA	周縁の形状	全縁～波状
	隆起状態	周縁部は扁平で、中央部はクッション形
	表面の形状	平滑
	光沢および性状	輝光性、湿性、バター様
	色調	白色～クリーム色

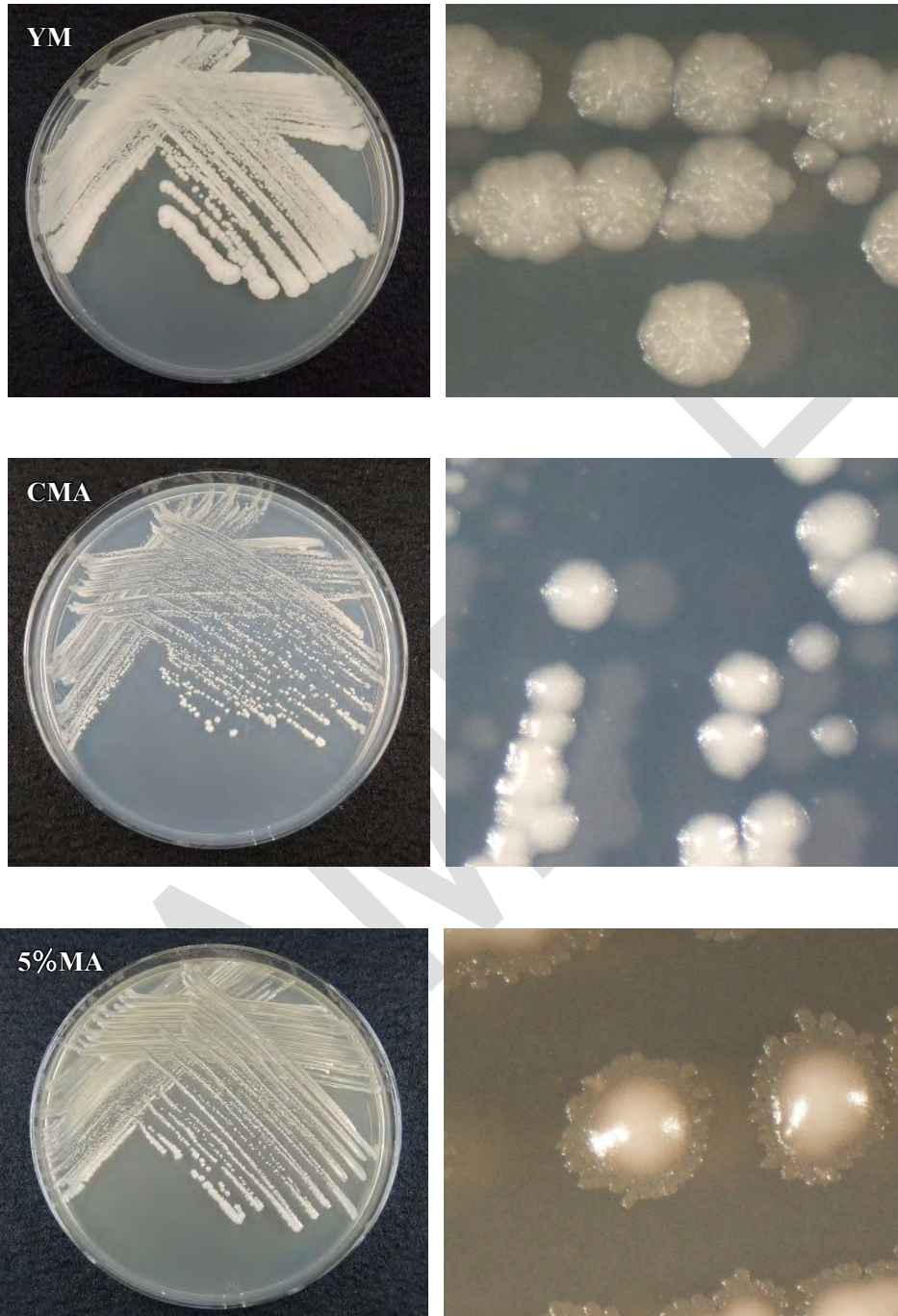


図1. 各平板培地上の巨視的観察像
(7日間培養、左列 全体像、右列 コロニー拡大像)

2. 微視的観察（形態観察）

YM 平板培地上で培養開始 7 日目に、栄養細胞は $5-9 \times 4-7(-9) \mu\text{m}$ 、垂球形から楕円形、卵形であり、増殖は多極出芽によることが確認されました (図 2)。培養開始 8 週間を経過した平板で有性生殖器官の形成は認められませんでした。

CMA 平板培地上で培養開始 7 日目に、栄養細胞は $7-9 \times 4-8 \mu\text{m}$ 、垂球形から楕円形、卵形であり、増殖は多極出芽によることが確認されました (図 3)。培養開始 8 週間を経過した平板で有性生殖器官の形成は認められませんでした。

5%MA 平板培地上で培養開始 7 日目に、栄養細胞は $6-9 \times 4-8 \mu\text{m}$ 、垂球形から楕円形、卵形であり、増殖は多極出芽によることが確認されました (図 4)。培養開始 8 週間を経過した平板で有性生殖器官の形成は認められませんでした。

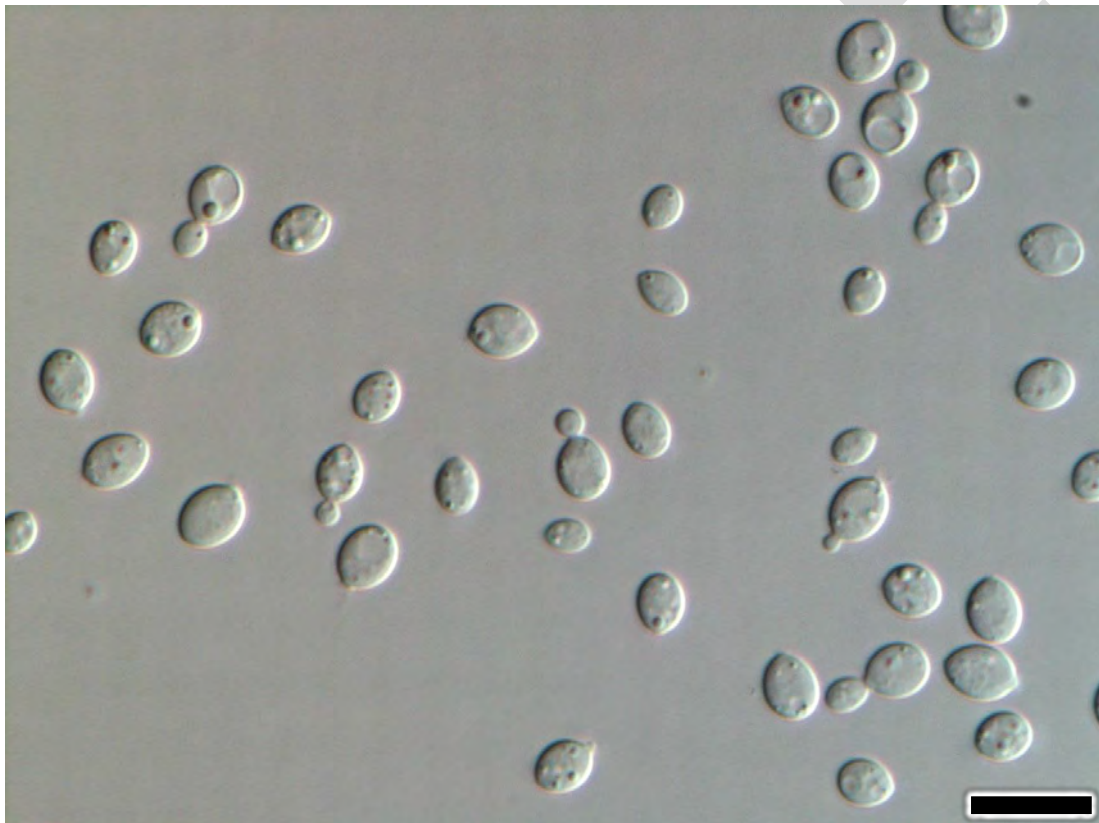


図 2. 微視的観察像 (YM, スケールバーは $10 \mu\text{m}$)

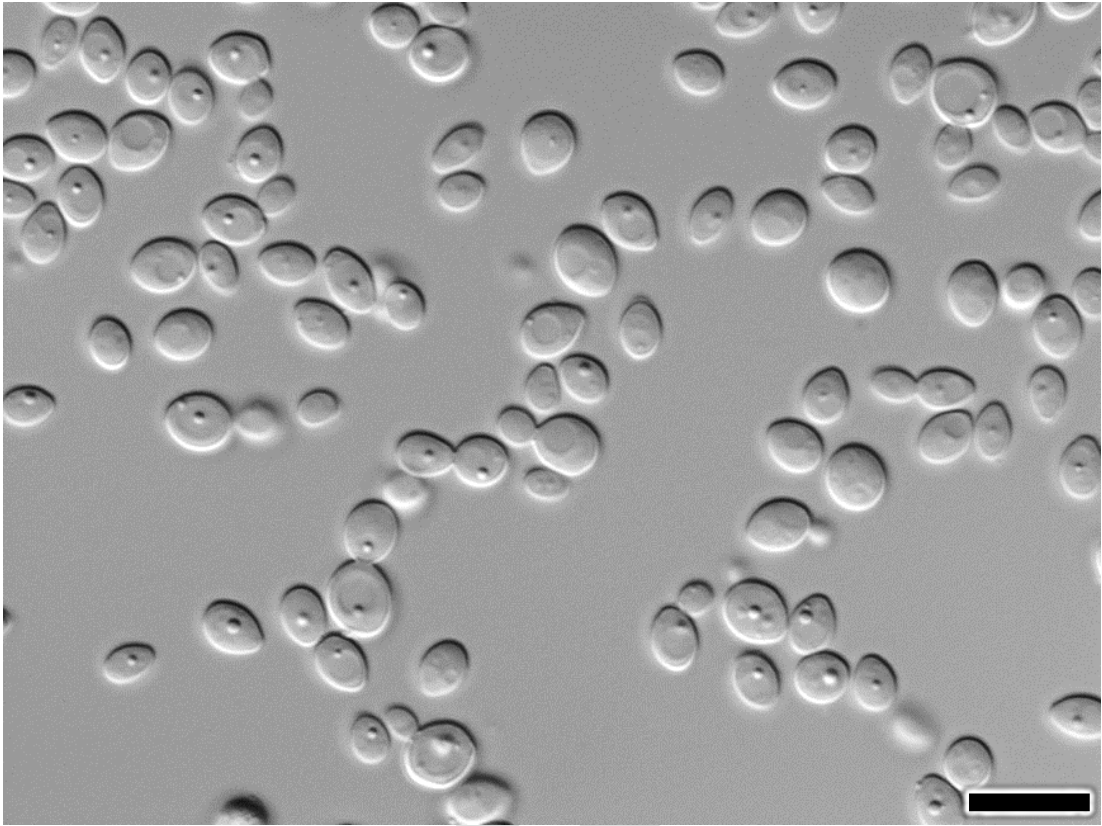


図 3. 微視的観察像 (CMA, スケールバーは 10 μ m)

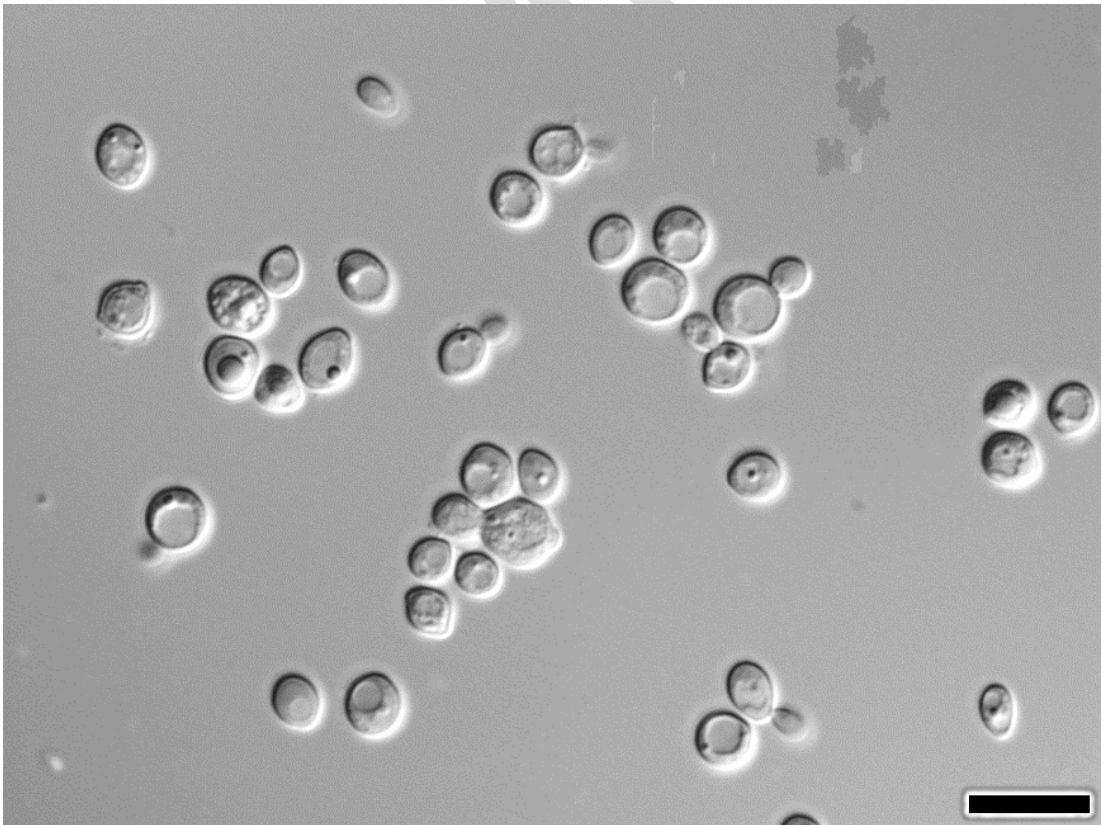


図 4. 微視的観察像 (5%MA, スケールバーは 10 μ m)

考察

巨視的および微視的形態観察の結果、検体はYM培地で白色～クリーム色、表面が平滑でバター様で湿性のコロニー性状を示し(表1, 図1)、栄養細胞は亜球形から楕円形、卵形であり、増殖は多極出芽によることが確認されました(図2)。CMA培地で白色～クリーム色、表面が平滑で輝光性、バター様で湿性のコロニー性状を示し(表1, 図1)、栄養細胞は亜球形から楕円形、卵形であり、増殖は多極出芽によることが確認されました(図3)。5%MA培地で白色～クリーム色、表面が平滑で輝光性、バター様で湿性のコロニー性状を示し(表1, 図1)、栄養細胞は亜球形から楕円形、卵形であり、増殖は多極出芽によることが確認されました(図4)。

検体で観察された特徴は、有性生殖器官の形成は認められませんでした。26S rDNAのD1/D2領域塩基配列解析(202x年xx月xx日付報告)で検体の帰属が推定される*Saccharomyces cerevisiae*の特徴¹⁾にほぼ一致していました。

以上のことから、形態観察試験の結果において、検体を*Saccharomyces cerevisiae*と同定いたします。

まとめ

検体名	SIID	帰属分類群	バイオセーフティレベル
SAMPLE	00000	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Desm.) Meyen	レベル 1 GRAS

バイオセーフティレベルについて

菌類についてのバイオセーフティレベルの分類指針は、菌株保存機関や文献により若干異なりますので、本報告書においては Atlas of clinical Fungi²⁾ を参考に示します。

レベル	内容
GRAS	食品にひろく応用利用されている危険性の少ない生物。
1	無脊椎動物に棲息、共生する腐生菌または植物病原菌。ヒト（動物）への感染は、偶発的、表在性であり、非深部性あるいは軽症である。
2	基本的には無脊椎動物に棲息するが、ヒト（動物）組織内においても比較的生育性を示す菌種。重度の免疫不全患者では、深部性かつ日和見感染性の真菌症を引き起こす。また、表在性の感染を引き起こす病原菌も、本レベルに分類される。
3	健常人でさえも、重篤な深在性真菌症を引き起こす可能性のある病原菌。

推定帰属菌種の分離源情報

推定菌種	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Desm.) Meyen	BSL	レベル 1、GRAS
分離源	ブドウ園の土壌、洞窟内の土壌、ブドウ果汁、ワイン、ジンジャーワイン、ビール、サトウキビジュース、シェリー酒、醸造所など ブドウ果汁やフルーツジュースの発酵、醸造、パン製造の多くは本菌種の選抜系統が利用されている。		
引用文献	Kurtzman CP, Fell JW, Boekhout T. <i>The Yeasts, a taxonomic study, 5th edition.</i> Amsterdam: Elsevier; 2011.		
備考	簡易分子系統解析において、検体とクラスターを形成した種の情報です。		

本報告書に付随する電子データ一覧

データ内容	形式
画像	jpg

補足

1. 本報告書における学名表記は Dictionary of the fungi 第 10 版³⁾ のウェブ版である Index Fungorum に基づいています。
2. 酵母の同定では 26S rDNA の D1/D2 領域塩基配列をもちいた解析において、相同率 100% で一致する基準株由来の塩基配列が検索された場合においても、分類学に基づく同定 (最終的な種の異同の決定) には、形態観察や生理・生化学性状試験、DNA 塩基配列に基づく分子系統解析、化学的性状試験、DNA-DNA ハイブリッド形成試験などの試験結果から総合的に判断することが重要です。
3. バイオセーフティレベル (BSL) は、当該種に対し定められています。従って、本報告書で示す検体の BSL はあくまでも目安であり、お預かりした検体の帰属分類群の推定が困難な場合には BSL が示せないこともあります。BSL は最低でもレベル 1 となりますが、レベル 1 であっても日和見感染が報告されている種もあり、その安全性を保障するものではありません。また、検体の近縁菌種の BSL が 2 以上である場合 (本報告の解析結果参照)、その検体は同等の取扱いをされることをお勧めいたします。本報告書でお知らせした BSL は、菌株保存機関である ATCC (American Type Culture Collection)、CBS (Westerdijk Fungal Biodiversity Institute) および Atlas of clinical Fungi²⁾ によります。また、当該菌種の BSL に関する情報が見当たらない種については「不明」と表記しています。「不明」の場合も微生物同定用 DNA データベース DB-FU の BLAST 検索結果の表では出力されていません。
4. 本報告書に関するご質問等につきましては、株式会社テクノスルガ・ラボ 技術部までお問い合わせください。

引用文献

- 1) Kurtzman CP, Fell JW, Boekhout T. *The Yeasts, a taxonomic study, 5th edition*. Amsterdam: Elsevier; 2011.
- 2) de Hoog GS, Guarro J, Gene J, Figueras MJ. *Atlas of clinical fungi, 2nd edition*. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures; 2000.
- 3) Kirk PM, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA. *Dictionary of the fungi, 10th edition*. Wallingford: CAB International; 2008.