

# 細菌の分類

1. 細菌の分類法
2. 生理的性質による分類

# 細菌の分類法

## 分類のための微生物解析法

- (1) 微生物細胞の形態学的な特徴の観察
- (2) 生理学的な特徴の試験
- (3) 微生物の細胞成分の化学分析
- (4) 微生物の遺伝子の解析

# 細菌・古細菌を分類するための方法(1)

	試験項目	試験によって明らかになる性質など
形態学的な特徴の観察	目視による観察 顕微鏡観察 グラム染色 べん毛染色 孢子染色	固体培地上での形態 菌の形状, 大きさ, 運動性 グラム陽性・陰性の区別 べん毛の有無と着生状態 孢子の形成の有無 (グラム陽性菌, 芽胞菌)
生理学的な特徴の試験	O-Fテスト 増殖pH 増殖温度 増殖食塩濃度 炭素源の利用法 カタラーゼ オキシダーゼ その他, さまざまな酵素活性	好気および嫌気条件下で糖からの酸の生産性 増殖できるpH範囲 増殖できる温度範囲 増殖を示すあるいは増殖に必要な食塩濃度 利用できる炭素源の種類 過酸化水素水から生成されるO <sub>2</sub> の生産性 シトクロームオキシダーゼなどの諸酵素 微生物の増殖基質の分解性, 種の区別に利用

# 細菌・古細菌を分類するための方法(2)

	試験項目	試験によって明らかになる性質など
化学分析	細胞壁ペプチド部位の組成 細胞壁グリカン部位の組成 菌体内脂肪酸 イソプレノイドキノン DNAの塩基組成	アミノ酸とジアミノ酸の種類 ムラミン酸のグリコル基 脂肪酸組成 ユビキノン, メナキノンの種類 GC含量
遺伝子の解析	16S rRNA遺伝子の塩基配列 DNAジャイレースのアミノ酸配列 DNA-DNA相同性	相同性による属・種の分類に利用 相同性による種の分類に利用  相同値による種の区別に利用

# 従来の微生物分類法による分類例

恒温動物の腸から  
バクテリアの分離

↓  
純粹培養

↓  
グラム染色

グラム陰性

グラム陽性

桿菌

非桿菌

条件的

絶対好気生物

乳酸発酵  
酸と気体発生

乳酸発酵しない

↓  
生物的テスト

インドールテスト・メチルレッドテスト・粘液酸塩：陽性  
クエン酸・フォゲス-プロスカウエルテスト・H<sub>2</sub>S：陰性

↓  
大腸菌

I. 形態的特徴

II. 生理学的特徴

III. 化学分析

# 細菌・古細菌を分類するための方法(2)

	試験項目	試験によって明らかになる性質など
化学分析	細胞壁ペプチド部位の組成 細胞壁グリカン部位の組成 菌体内脂肪酸 イソプレノイドキノン <b>DNAの塩基組成</b>	アミノ酸とジアミノ酸の種類 ムラミン酸のグリコル基 脂肪酸組成 ユビキノン, メナキノンの種類 <b>GC含量</b>
遺伝子の解析	16S rRNA遺伝子の塩基配列 DNAジャイレースのアミノ酸配列 DNA-DNA相同性	相同性による属・種の分類に利用 相同性による種の分類に利用  相同値による種の区別に利用

# いろいろな生物の塩基組成

**Organism**

**Prokaryotes**

*Bacteria*

*Archaea*

**Eukaryotes**

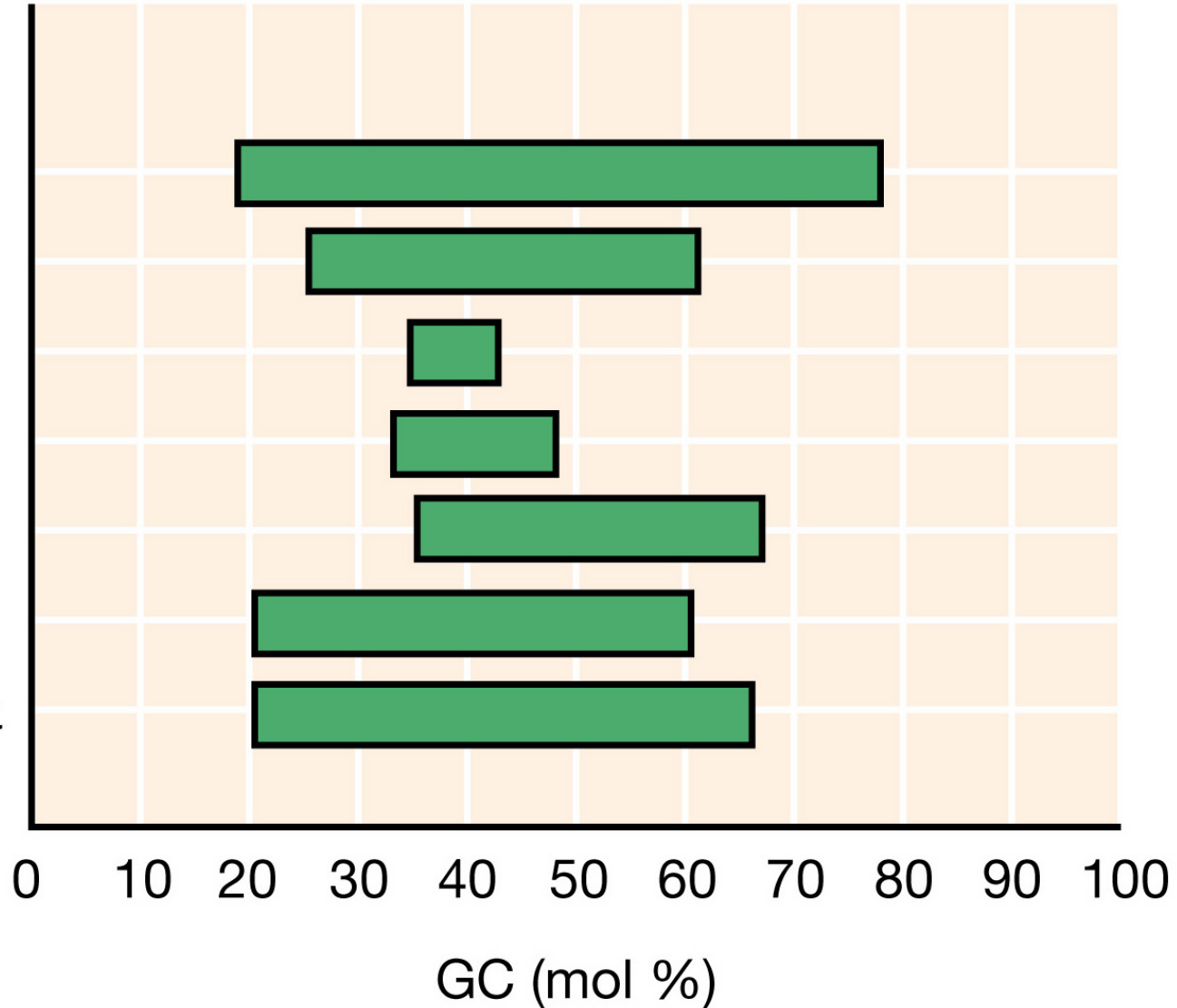
Animals

Plants

Algae

Fungi

Protozoa

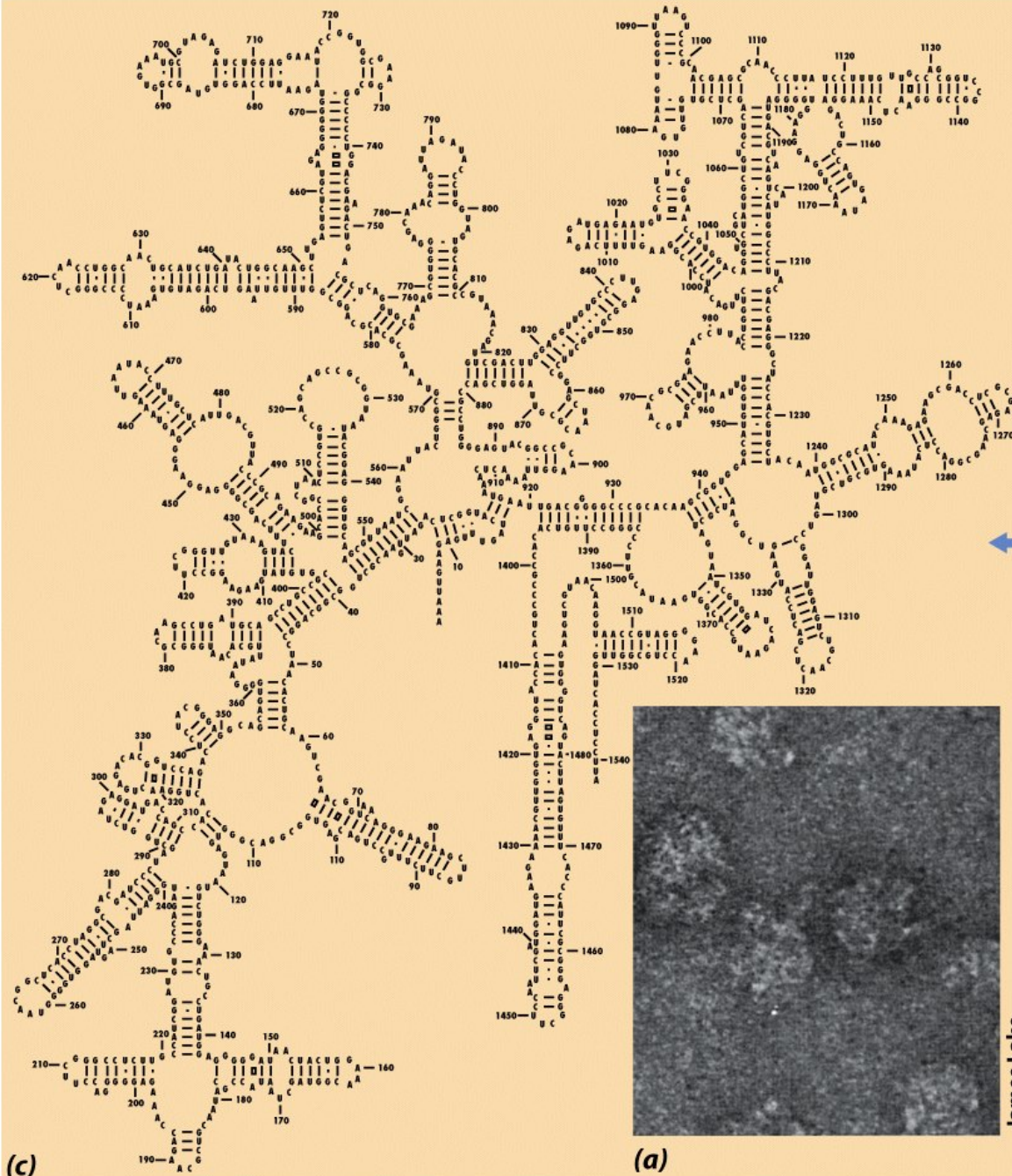


# 細菌・古細菌を分類するための方法(2)

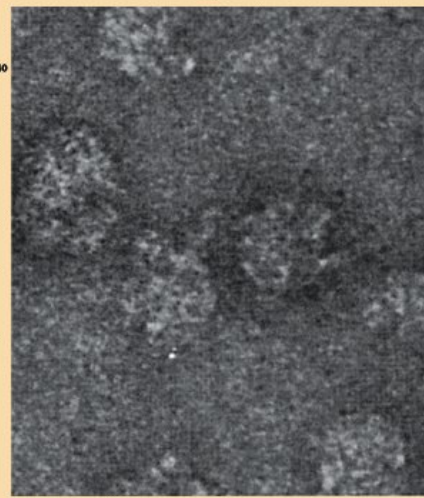
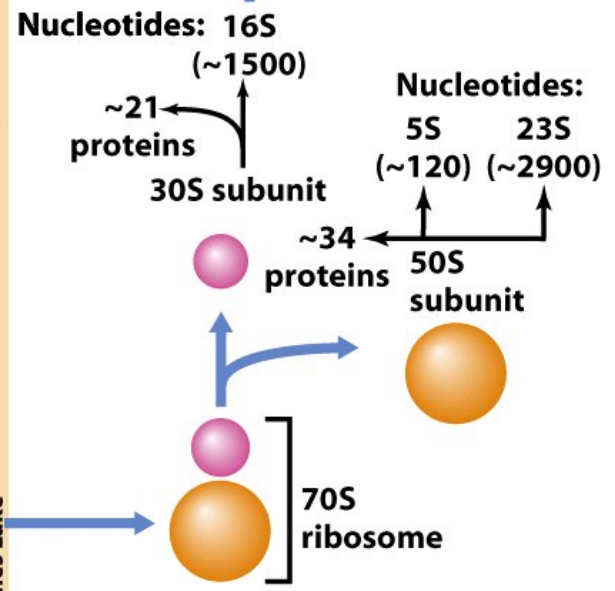
	試験項目	試験によって明らかになる性質など
化学分析	細胞壁ペプチド部位の組成 細胞壁グリカン部位の組成 菌体内脂肪酸 イソプレノイドキノン DNAの塩基組成	アミノ酸とジアミノ酸の種類 ムラミン酸のグリコル基 脂肪酸組成 ユビキノン, メナキノンの種類 GC含量
遺伝子の解析	<b>16S rRNA遺伝子の塩基配列</b> DNAジャイレースのアミノ酸配列 DNA-DNA相同性	<b>相同性による属・種の分類に利用</b> 相同性による種の分類に利用  相同値による種の区別に利用



# 大腸菌のリボソームRNA



16S rRNA



(c)

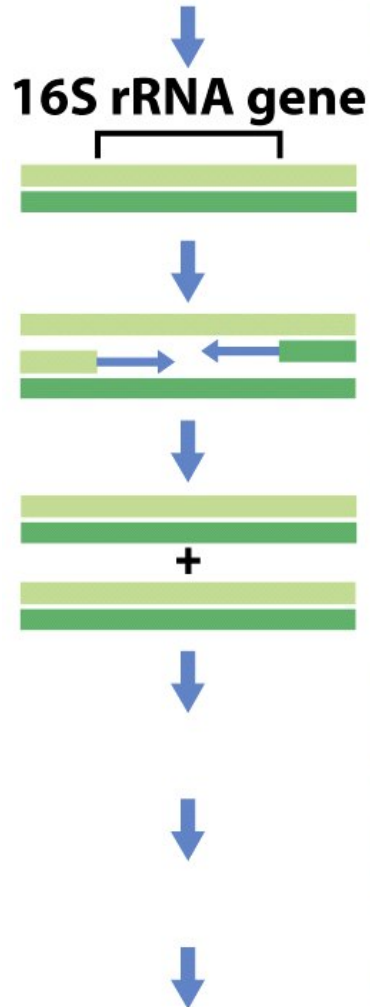
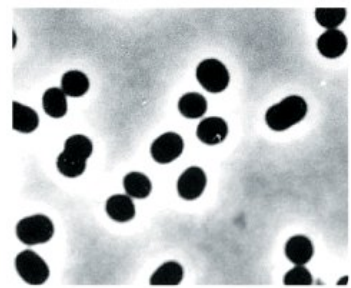
(a)

(b)

Figure 11-11 Brock Biology of Microorganisms 11/e  
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

# 大腸菌70Sリボソーム

# PCR法をもちいた 微生物のrRNAの配列決定



**1. Isolate DNA**

**2. Heat to separate strands;  
add specific primers**

**3. Primer extension with  
DNA polymerase**

**4. Repeat above steps to obtain  
many copies of 16S rRNA gene**

**5. Run agarose gel and check  
for correct sized product**

**6. Purify and sequence  
PCR product**

# 16S rRNA配列からの系統樹の作成

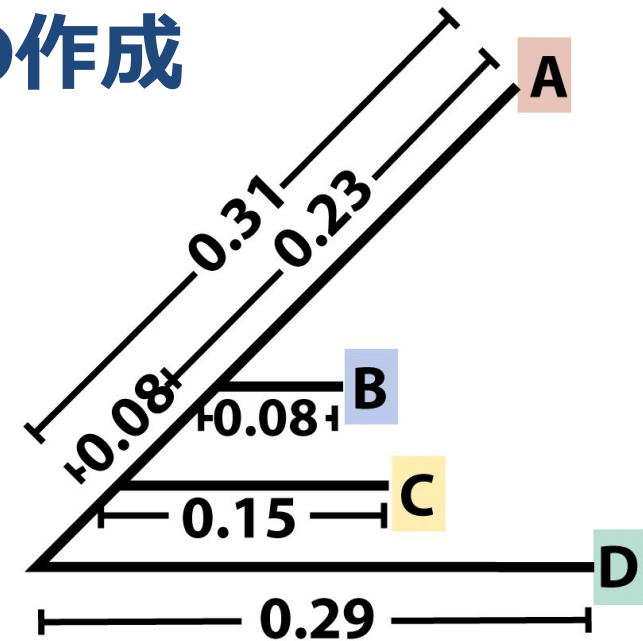
Organism

Sequence

Analysis

A	C G U A G A C C U G A C
B	C C U A G A G C U G G C
C	C C A A G A C G U G G C
D	G C U A G A U G U G C C

For A → B, three differences occur out of a total of twelve; thus  $\frac{3}{12} = 0.25$



## Sequence alignment and analysis

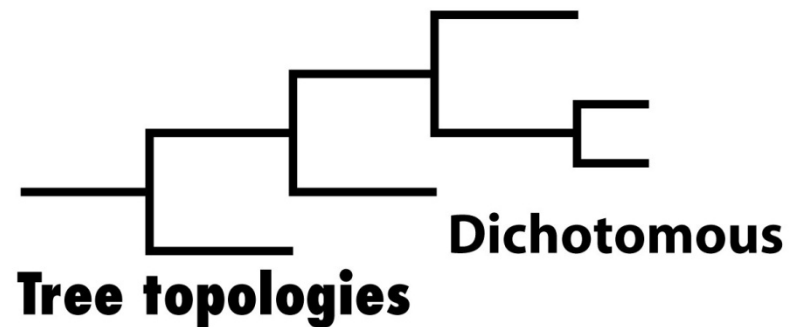
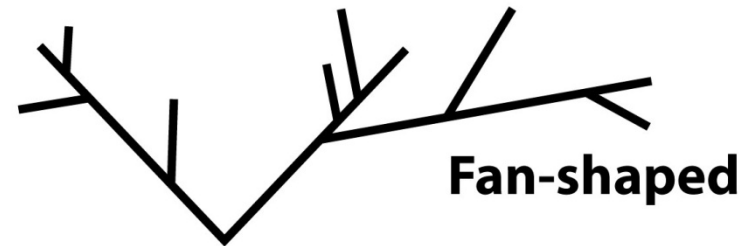
Evolutionary distance

Corrected evolutionary distance

$E_D$	A → B	0.25	0.30
$E_D$	A → C	0.33	0.44
$E_D$	A → D	0.42	0.61
$E_D$	B → C	0.25	0.30
$E_D$	B → D	0.33	0.44
$E_D$	C → D	0.33	0.44

## Calculation of evolutionary distance

## Phylogenetic tree



# rRNA配列の比較により決定した生物系統樹

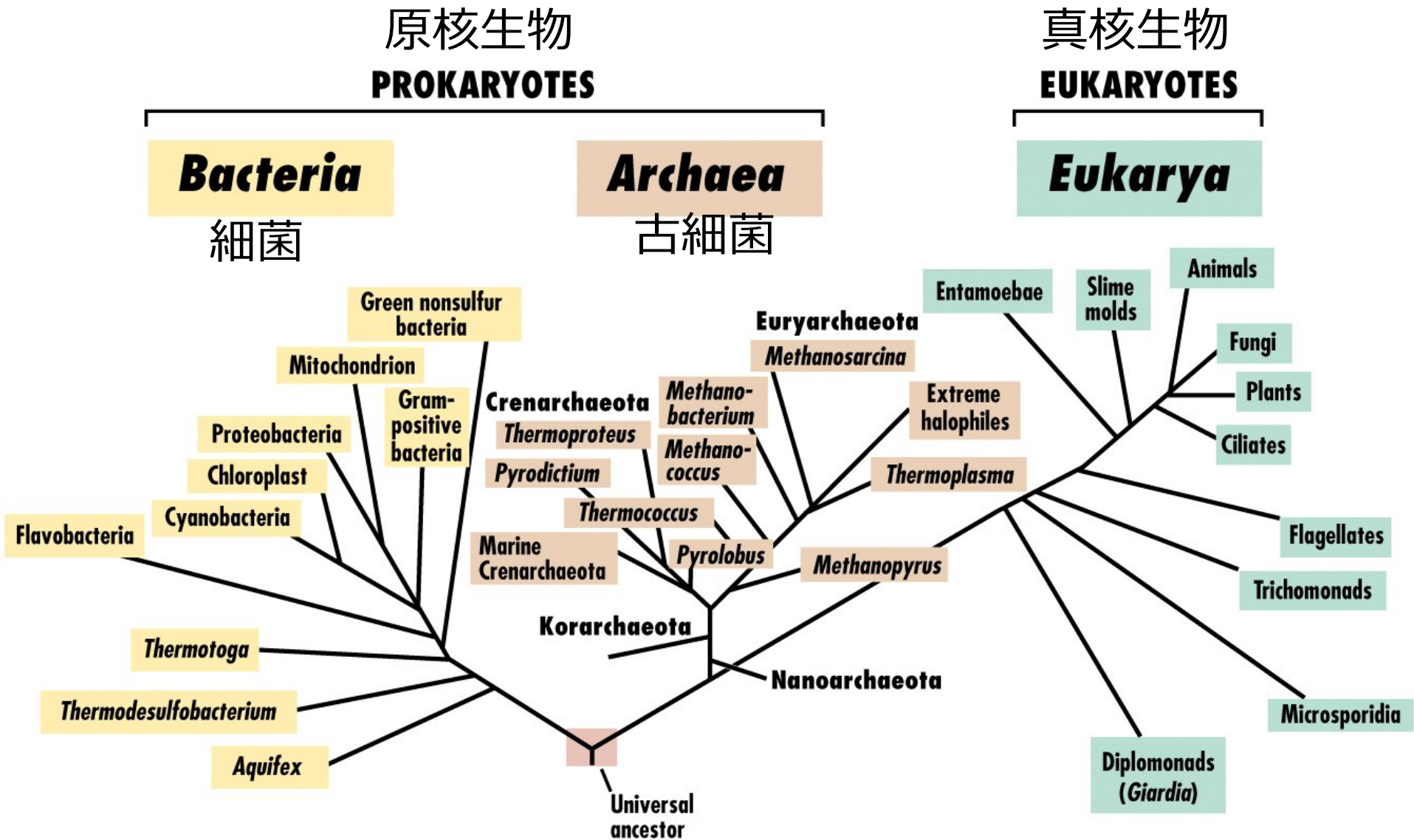
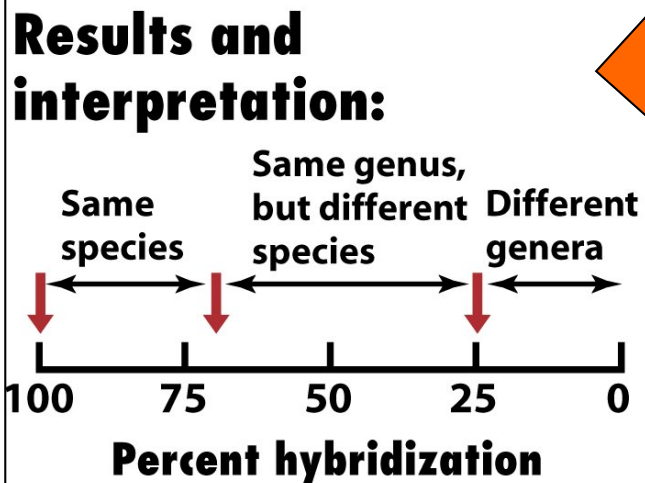
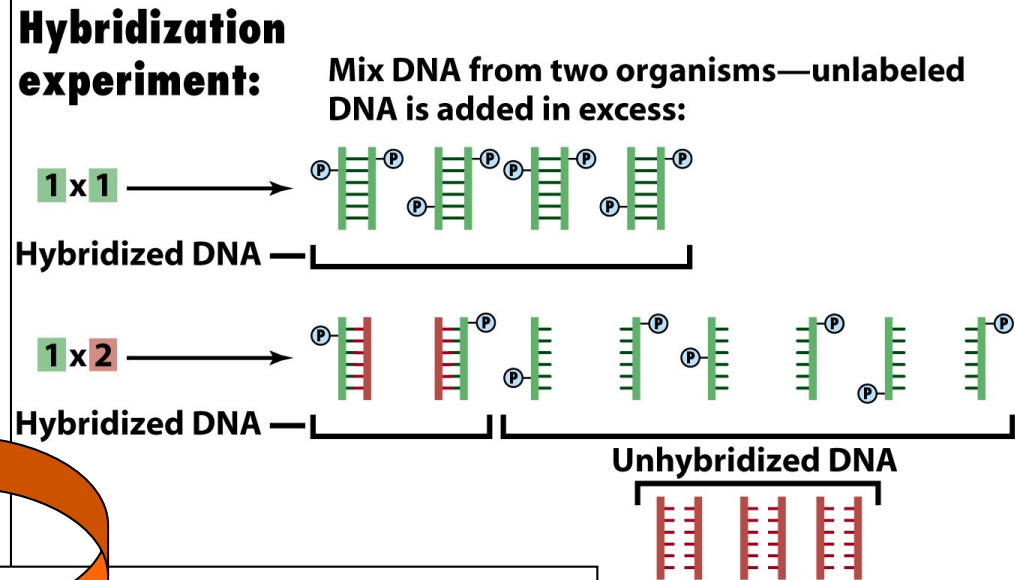
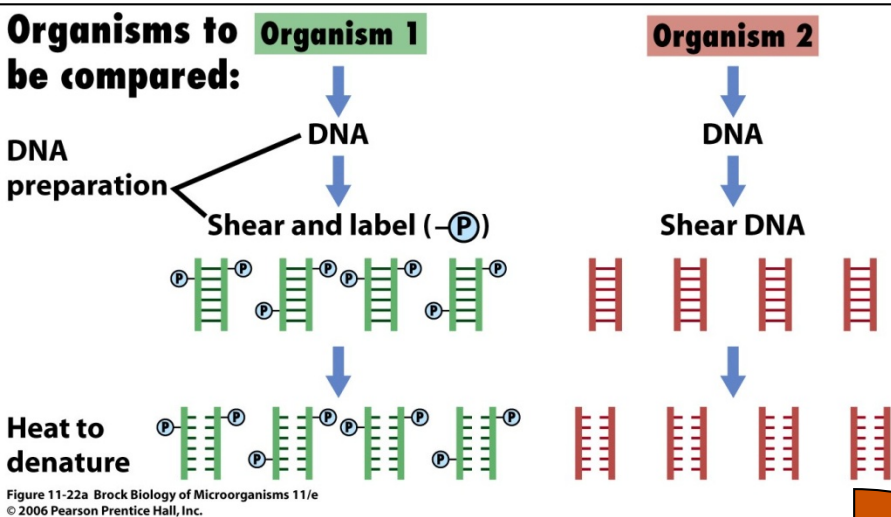


Figure 11-16 Brock Biology of Microorganisms 11/e  
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

# 細菌・古細菌を分類するための方法(2)

	試験項目	試験によって明らかになる性質など
化学分析	細胞壁ペプチド部位の組成 細胞壁グリカン部位の組成 菌体内脂肪酸 イソプレノイドキノン DNAの塩基組成	アミノ酸とジアミノ酸の種類 ムラミン酸のグリコル基 脂肪酸組成 ユビキノン, メナキノンの種類 GC含量
遺伝子の解析	16S rRNA遺伝子の塩基配列 DNAジャイレースのアミノ酸配列 <b>DNA-DNA相同性</b>	相同性による属・種の分類に利用 相同性による種の分類に利用 <b>相同値による種の区別に利用</b>

# ゲノムDNAの定量的 DNA/DNAハイブリッド形成実験



**1 x 1**  
100%  
↓  
Same strain (control)

**1 x 2**  
25%  
↓  
1 and 2 are likely different genera

Figure 11-22c Brock Biology of Microorganisms 11/e  
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

# 細菌の種

菌種の定義：

染色体DNAの定量的DNA/DNAハイブリッド形成実験で、70%以上の類似度があり、ハイブリッドの安定度 ( $\Delta T_m$ ) が5度以内に収まる菌株の集団を種とする

- ・ 系統的な位置は16S rRNAの配列で調べ、配列が類似した菌種同士は、ハイブリッド形成実験で区別する

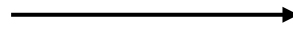
# 菌種の決定順序

系統がわからない  
未知の菌株の分離



16SリボソームRNAの配列を  
決定しデータベースと比較

98%未満の  
類似



新菌種もしくは  
配列が未決定の既存の菌種

↓ 98%以上の類似

類似した系統の菌種と定量的  
DNA-DNAハイブリッド形成実験  
を行い基準株との相同性を計算

70%以上の  
類似



菌種名確定



病原因子の同定：  
PCR, DNAプローブ  
細胞毒性  
抗毒素による証明

↓ 70%未満の類似

新菌種の記載：  
表現形質, GC%, 細胞壁ペプチドグリカン,  
キノン, 菌体脂肪酸, 鑑別性状, 基準株の指定  
と記載, 基準株の登録, rRNA配列の登録



# 細菌の分類法

## 1. 炭素源，エネルギー源による分類法

- 増殖に必要な炭素源とエネルギー源の相違に基づく分類

## 2. 系統樹による分類法

- 遺伝子の塩基配列やタンパク質のアミノ酸配列に基づき，分子進化的な観点から，生物間の相対的な位置関係を示したもの
- 細菌と古細菌では16S rRNA遺伝子の塩基配列や，DNAジャイレースの $\beta$ サブユニットのアミノ酸配列を利用した系統樹が一般的
- 真菌類では，18S rRNA遺伝子の塩基配列に基づく系統樹による分類体系が見直されている

# rRNA配列の比較により決定した生物系統樹

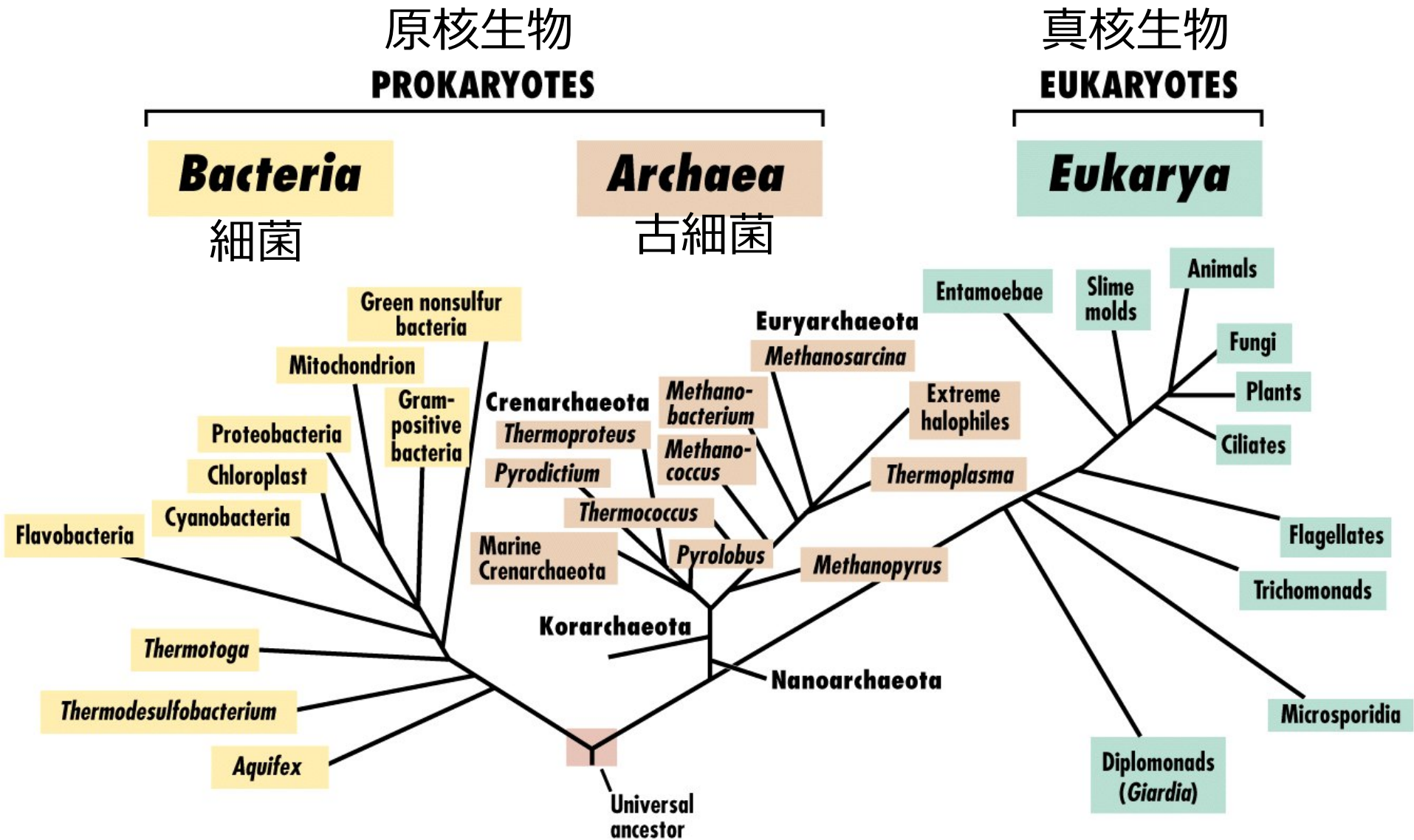


Figure 11-16 Brock Biology of Microorganisms 11/e  
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

# 生理的性質による分類

- (1) 光合成細菌（ほとんどはグラム陰性）
- (2) グラム陰性従属栄養好気性細菌
- (3) グラム陰性独立栄養化学合成細菌
- (4) グラム陰性任意嫌気細菌
- (5) グラム陰性嫌気性細菌
- (6) グラム陽性で胞子をつくらない細菌
- (7) グラム陽性で胞子をつくる細菌
- (8) スピロヘーター
- (9) リケッチアとクラミジア
- (10) マイコプラズマ
- (11) 超好熱性細菌
- (12) ウイルス

# 生理的性質による分類

## (1) 光合成細菌（ほとんどはグラム陰性）

光のエネルギーを利用してATPを産生

## (2) グラム陰性従属栄養好気性細菌

有機物を $O_2$ で酸化して生育する細菌

## (3) グラム陰性独立栄養化学合成細菌

無機物を $O_2$ で酸化して生育する細菌

## (4) グラム陰性任意嫌気細菌

$O_2$ が利用できれば有機物を $O_2$ で酸化して生育（呼吸）。利用できないところでは、発酵により生育。

## (5) グラム陰性嫌気性細菌

$O_2$ があっては生育できない細菌。メタン生成細菌や硫酸還元菌など。

## (6) グラム陽性で胞子をつくらない細菌

乳酸菌や結核菌など

# 生理的性質による分類

## (7) グラム陽性で胞子をつくる細菌

内生胞子をつくる細菌：納豆菌，破傷風菌

分生子を作る細菌：放線菌

## (8) スピロヘーター

非常に細長い細菌

## (9) リケッチアとクラミジア

宿主に寄生しないと生きていけない

## (10) マイコプラズマ

細胞壁を持たない細菌

## (11) 超好熱性細菌

最適生育温度が80℃以上の細菌。好気性も嫌気性も存在

## (12) ウイルス

宿主の中でしか増殖することができず，核酸はDNAかRNAのいずれかしかもたない。