

真菌の化学的分類法

佐藤 一朗, 村山 琮明

1 はじめに

真菌の化学的分類法には細菌と同じように DNA の GC 含量, キノンプロファイルや脂肪酸組成解析などがある。しかし, これらの手法の多くは新種記載などの特別な場合には菌種ごとに推奨される項目について実施する程度であり, 日常的な同定で実際に行われることはまれである。しかしながら, DNA の塩基配列を解析する手法は, いわゆる分子生物学的分類法と呼ばれ, 日常的に利用されている。さらに, 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計 (matrix assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS) によって得られたリボソームタンパク質のマスマスペクトルをもとに菌種を同定する手法は, 近年利用頻度が上昇している化学分類法の一つとして挙げられる。そのため, 本稿では核酸増幅検査, DNA 塩基配列解析, *In situ* hybridization (ISH) 法などの DNA 解析手法と MALDI-TOF MS による同定の原理や応用例について紙面の許す限り概説したい。

2 核酸をベースにした分類法

医学の進歩にもかかわらず, 侵襲性真菌症は依然として診断上の難題である。2022 年に, 世界保健機関 (world health organization, WHO) は真菌感染症の病原体優先リスト¹⁾を発表し, 研究および公衆衛生分野における真菌感染症の重要性を示した。世界中で年間約 1300 万人が真菌に感染し, 約 150 万人が死亡している²⁾。真菌培養, 直接顕微鏡検査, 病理組織検査を含む従来の技術は, 深在性真菌症診断のためのゴールドスタンダードである。しかし, これらの手法には, 感度, 特異度や所要時間の点で限界がある。高い罹患率と死亡率を伴う真菌感染症の流行が増加しているため, 分子 (生物学的) アプローチの必要性が高まっている。特にポリメラーゼ連鎖反応 (polymerase chain reaction, PCR) は, 臨床検体から直接, 迅速かつ種特異的な同定を可能にする。本節では, 核酸ベースの分子生物学的アプローチを紹介する。

2.1 核酸増幅検査 (nucleic acid amplification test, NAAT)

広域または汎真菌 PCR アッセイは, 普遍的な真菌プライマーを用いて行う。rRNA 遺伝子 (rDNA) は, 真菌の種の同定に最も頻繁に使用される標的であり, マルチコピーで存在する。隠蔽種を含めた種の同定は治療選択を考える上で重要な情報である。属あるいは種レベルの同定には, 通常内部転写スパーサー 1 および 2 (ITS1 および ITS2) または 28S (26S) rDNA の 5' 末端側の D1/D2 領域といった可変領域を PCR で増幅し, DNA 塩基配列を決定する方法が用いられる。これらの系は, 血液, 新鮮組織, ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織を含む様々な臨床検体から真菌病原体を確定的に同定するために利用されるようになってきている。表 1 に主な PCR の系を記した, また, 図 1 には rDNA 領域のプライマー位置を記す。

Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法は, 少なくとも 4 種類のプライマーを必要とし, 60~65 °C の等温環境下で約 1 時間で増幅反応が完了する。特殊なサーマルサイクラーが不要で特異性が高く, 反応産物の白濁を見るだけで判定が可能であることから簡易迅速検査 (point of care testing, POCT) に適応されることが期待される。

Realtime 定量 PCR (qPCR) は, コンタミネーションの可能性を最小限に抑え, 種レベルの迅速な同定を可能にし, 真菌量に比例した定量サイクル (C_q) を生成するため, 陽性結果の重要性を解釈する際に有用である。欧米ではすでにキットが市販されている¹²⁾。

また近年, 高分解能メルト (high resolution melting, HRM) 曲線解析法も導入されている¹²⁾。HRM 法は, dsDNA に結合する蛍光色素を加えて第三世代 PCR ともいわれるデジタル PCR (dPCR) 装置を使用し, 温度を徐々に上昇させて二本鎖 PCR 産物を解離させ, そのパターンを解析することでわずか 1 塩基ペアの違いまで識別する方法である。従来のリアルタイム PCR 装置より, 精密な温度分解能で, DNA 試料を希釈 (分散) して万単位の蛍光データポイントを収集できる装置であり, 蛍光色素も従来の SYBR® green などとは異なり, PCR 反応を阻害しない。dPCR を使った *Aspergillus* 属, *Candida* 属, あるいは *Pneumocystis jirovecii* の検出の報告

表 1 真菌症診断において一般的に用いられる PCR の系

標的真菌 (属)	標的遺伝子	プライマー配列	参考文献 (増幅産物のサイズ)
汎真菌	ITS	ITS-1 ; 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG (or) ITS-5 ; 5'-GGAAGTAAAGTCGTAACAAGG ITS-4 ; 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC	White, 1990 ³⁾ (ca. 600bp)
酵母	28S (26S) D1/D2	NL-1 ; 5'-GCATATCAATAAGCGGAGGA NL-4 ; 5'-TTGGTCCGTGTTTCAAGACG	Kurzman, 1997 ⁴⁾ (ca. 620 bp)
<i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Scedosporium</i>	β -tubulin	Bt2a ; 5'-GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC Bt2b ; 5'-ACCCTCAGTGAGTGACCCCTTGGC	Glass, 1995 ⁵⁾ (ca. 415 bp)
<i>Cryptococcus</i>	IGS	ITS5 ; GGAAGTAAAGTCGTAACAAGG NL4 ; GGTCGGTGTTCAGACGG IGS1F ; ATCCTTTGCAGACGACTTGA IGS1R ; GTGATCAGTGCAATTGCATGA	病原体検出マニュアル 播種性クリプトコックス症 国立感染症研究所 ⁶⁾ (ca. 645 bp, ca. 850 bp) Sugita, 2001 ⁷⁾
<i>Mucorales</i>	18S rDNA	ZM1 ; ATTACCATGAGCAAATCAGA ZM2 ; TCCGTCAATTCCTTTAAGTTTC ZM3 ; CAATCCAAGAATTCACCTCTAG	Rickerts, 2006 ⁸⁾ (ZM1-ZM2 ; ca. 407~408 bp) (ZM1-ZM3 ; ca. 176~177 bp)
<i>Trichosporon</i>	IGS	26SF ; 5'-ATCCTTTGCAGACGACTTGA 5SR ; 5'-AGCTTGACTTCGCAGATCGG	Sugita, 2002 ⁹⁾ (ca. 200~700 bp)
<i>Fusarium</i>	Elongation Factor 1 α	EF-1 ; 5'-ATGGGTAAGGARGACAAGAC EF-2 ; 5'-GGARGTACCAGTSATCATG	O'Donnell, 2009 ¹⁰⁾ (ca. 717 bp)
皮膚糸状菌	ITS (modified)	LR1 ; 5'-GGTTGGTTTCTTTTCCT SR6R ; 5'-AAGTAAAGTCGTAACAAGG	Blanz, 2000 ¹¹⁾ (ca. 630 bp)

ITS, Internal transcribed spacer ; IGS, intergenic spacer



図 1 rDNA 遺伝子領域の PCR プライマー位置

ITS, internal transcribed spacer ; IGS, intergenic spacer

がある¹²⁾。

特定の短い DNA 塩基配列を DNA バーコードと名付け、種の識別に用いる手法があるが、ITS 領域は真菌のバーコード配列としても最も有望な配列であることが、consortium for the barcode of life (CBOL) の真菌ワーキンググループから発表されている¹³⁾。ITS のデータベースは UNITE¹⁴⁾が充実している¹⁵⁾。しかし、真菌種によっては、ITS 領域の PCR の成功率が低い真菌もある上、種内でのコピー間で変異があり、結果がばらつくこともある¹⁶⁾。

菌種レベルでの同定には、タンパク質をコードしている遺伝子領域の遺伝子解析が有用である。タンパク質をコードしている遺伝子はシングルコピーが多く、そのエクソン部分は変異が少ないためである。使用される遺伝子としては、RNA ポリメラーゼの最大サブユニット (RPB1) と第 2 サブユニット (RPB2)¹⁷⁾、翻訳伸長因子

1 α (*Tef-1 α*)¹⁸⁾、カルモデュリン (*CaM*)¹⁹⁾、 β -チューブリン (*Tub2/BenA*)²⁰⁾ 遺伝子が、真菌の系統関係を推定するために最も一般的に使用されている。特に *Penicillium* 属には *Tub2/BenA* が有用であり、*CaM* も使用される。*Aspergillus* 属には、*Tub2/BenA* および *RPB2* が使用される。また、ミニ染色体維持タンパク質遺伝子 (MCM7) は LSU 遺伝子と併用することで、子囊菌類の同定に有効である²¹⁾。

2・2 DNA 塩基配列解析

次世代シーケンシング (next generation sequence, NGS) は、一度に大量の DNA 塩基配列を決定する技術で、ハイスループットシーケンス (HTS) ともいわれる。全ゲノムシーケンス (WGS) が容易に手に入り、技術を利用しやすくなったことにより、たとえば抗真菌薬耐性、宿主内進化 (変異)、アウトブレイクに関する

疫学的調査など、従来得られなかった解析結果が報告されるようになった。ゲノムデータは、JGI Joint Genome Institute²²⁾などで公開されている。また、メタゲノムNGS (mNGS) は、患者の直接検体から直接ほぼすべての病原体を特定でき、従来であれば見逃されていた深在性真菌症の診断が可能となってきた²³⁾。しかし、臨床検査室でのNGSやmNGS技術の使用には大きな障壁が残っている。より広範な導入にはプロセス全体の最適化、標準化、検証およびコストの削減が必要である。

2・3 *In situ* hybridization (ISH) 法

PCR法は極めて感度の高い手法であるが、FFPE組織などでは、ホルマリン固定により1) DNAにニック(切れ目)が入る、2) DNAにタンパク質が架橋(クロスリンク)する、3) 塩基の脱アミノ化などにより分子の技術が難しくなる。ISH法は、PCR法と同様に非培養法であるが、PCR法と最も異なる点は、核酸の精製(抽出)が不要という点である。精製により、核酸はさらにニックが入り、ダメージが大きくなる。ISH法はニックが入っても、プローブがニックを覆って結合すれば、検出可能である。この現象に対して「scaffolding(足場形成)」という用語が用いられることもある。アメリカ食品医薬品局(Food and Drug Administration, FDA)では2005年に自動FISHシステムのClass IIでのガイダンス²⁴⁾を発表しており、本システムの診断などでの応用を促している。日本では核酸をベースにした真菌の診断法は認可されていない。体外診断用として米国のFDAに承認されている*C. albicans* PNA FISHFlow法²⁵⁾を紹介する。この方法は、細胞の固定とハイブリダイゼーションを同時に行うユニークな溶液ISHで、フローサイトメトリーで検出され、臨床酵母分離株の正確な同定を1時間で可能にした。この検査の臨床応用は、病院の大幅なコスト削減につながった。なお、病原真菌の研究レベルでのISH法の系は既報²⁶⁾²⁷⁾で発表したもので、ここでは言及しない。

3 MALDI-TOF MS による分類

3・1 原理

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計(matrix assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)による同定は近年広く利用されつつある微生物同定法である。MALDIはレーザー光を吸収する有機低分子(マトリックス)と試料(菌体、タンパク質など)の混合物を作り、パルス状のレーザーを照射することで試料のイオン化を行う技術であり、TOF MSは加速させた荷電粒子の飛行時間を計測することにより対象の質量を測定する分析法で、二つを合わせることで、イオン化したタンパク質の質量を測定することができる²⁸⁾。これによ

て得られた微生物に特異的なタンパク質のマスマスペクトルパターンを比較することにより、菌種などの同定が可能となっている。本法が微生物同定に用いられるようになったのが2004年、臨床検査機器として認可されたのが2011年とされている²⁹⁾。2023年に米国微生物学会が発刊するClinical Microbiology Procedures Handbookが7年ぶりに改版され、第5版として出版された。その中には第4版にはなかったMALDI-TOF MSのセクションがおおよそ60ページにわたり加えられており、MALDI-TOF MSが微生物同定機器として普及しつつあることを示している。使用法としては、菌体を釣菌し、菌種によっては前処理が必要であるが、ターゲットプレートに菌体を塗布し、マトリックスを追加後に乾燥させて測定を行う。得られたスペクトルは自動でライブラリとマッチングされ、菌種が同定される。例えば、病原性酵母である*Cryptococcus neoformans sensu lato*と*C. gattii sensu lato*の判別は培養法ではCGB(canavanine-glycine-bromothymol blue)培地で数日かけて判別していた³⁰⁾。それが、2011年にRealtime PCRで特異的に検出するプライマープローブセットが開発されたことにより数時間に短縮され³¹⁾、現在はMALDI-TOF MSを使用することによって数十分での同定が可能になっている。試薬代もRealtime PCRは数千円に対し、MALDI-TOF MSは数百円である。この迅速性と低コスト性が普及の一因となっていると推察される。

真菌の同定には、細菌とは細胞壁の組成が異なるなどの要因からエタノールやギ酸を用いた抽出処置が必要になる場合がある。さらに糸状菌では、菌糸、分生子、孢子などの状態に応じて細胞に含まれる代謝物の組成が異なるため、スペクトルに変化が生じ検査結果の再現性を低下させる原因となっている。それを解消するために均一な状態の菌体が必要であり、そのために、回転培養により小さなマリモのような菌糸塊にするのが検査室において技師の負担になっている。その負担を軽減する方法として、Mycelium Transfer (MyT)法が提案されている(図2)³²⁾。MyT法による判定は手軽にできるため、検査技師から好意的な評価を得られたことが報告されている³³⁾。したがって、糸状菌の同定にはまずMyT法やギ酸オンプレート法³¹⁾を試みて、同定scoreが低い場合に従来の回転培養およびエタノールギ酸抽出法³¹⁾で補完すると省力化につながると考えられる。また、試料調製の際にMBT FASTTM シャトルを使用すると、マトリックスの乾燥速度が上昇し、ワークフローの標準化が図れることが報告されている³⁴⁾。

3・2 データベースの充実化

国内で販売されている真菌が同定できる機種はMALDI Biotyper[®](ブルカー・ジャパン)とVITEK[®]-MS(バイオメリュー・ジャパン)の2機種である。MALDI

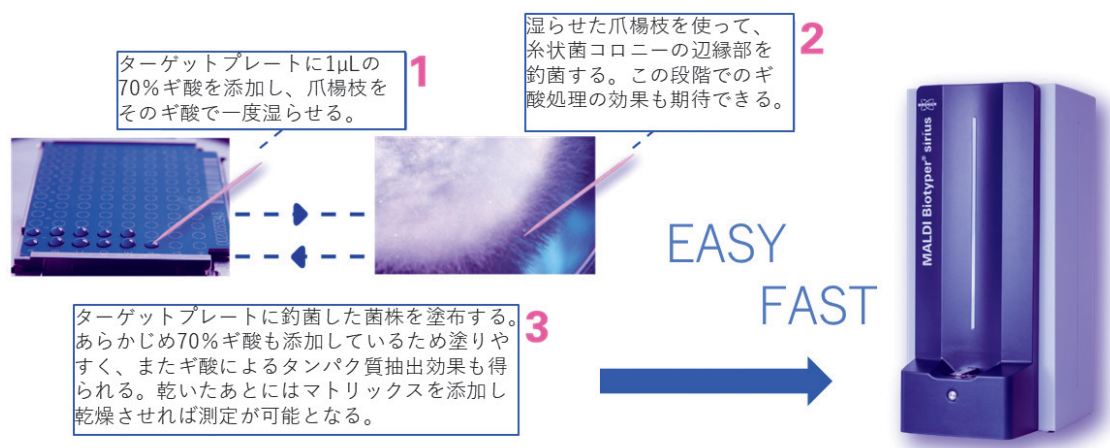


図2 MALDI-TOF MSによる簡易迅速真菌同定（MyT）法の手順
ブルカー・ジャパン(株)から許諾を得て掲載

Biotyper[®] のデータベースは一般細菌（酵母を含む）を同定するための MBT Compass Library（BDAL データベース）、抗酸菌用の MBT Mycobacteria Library、糸状菌用の MBT Filamentous Fungi Library に分かれているため真菌の登録数の推移を把握しづらいが、バージョンが上がるごとにスペクトルパターンの登録数が増え、同定の精度が上がり、同定可能な菌種が充実する傾向がある（表2）。

また近年、真菌は分類基準の更新や二重命名の廃止などの影響を受け、学名が変更されているものがある。前述の *C. neoformans* は *C. deneoformans* と *C. neoformans* の2種に、*C. gattii* は *C. deuterogattii*、*C. decagattii*、*C. bacillisporus*、*C. gattii*、*C. tetragattii* の5種に細分類されている。この7種のうち、*C. deneoformans* と *C. neoformans*

はそれぞれ独立した種として登録されているが、*C. gattii* complex は *C. gattii* しか登録されていないため、細分化された菌種がどのように同定されるのかは明らかではない。*Aspergillus* 属も近縁種が多く、代表種と隠蔽種とよばれる近縁種が Section とよばれる分類群としてまとめられている。これらの Section も代表種は登録されているが、隠蔽種は登録されていないことがある³³⁾。糸状菌の登録種数は10年でおおよそ2倍に増えており（表3）、今後もデータベースの充実化が継続されれば多様な菌種の同定に対応できるようになることが期待できる。

また、MALDI Biotyper[®] の上位機種である MALDI Biotyper[®] sirius では、従来のポジティブイオンモードにネガティブイオンモードが追加されている。これにより

表2 MALDI Biotyper[®] の各種データベースにおける登録数の推移

	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
RN Launch	June	April	February	April	April	November	July	April	November
BDAL (一般細菌, 酵母含)	DB-5989 (ver.5)	DB-6903 (ver.6)	DB-7311 (ver.7)	DB-7854 (ver.8)	ver.9	ver.10	ver.11	ver.12 (ver.2022)	ver.13 (ver.2023)
MSPs	5989	6903	7311	7854	8468	9607	10833	11897	12438
Species	2371	2461	2509	2747	2969	3239	3893	4274	4320
RN Launch	May	March	April	—	April	—	Aug	—	—
Myco (抗酸菌)	ver.3	ver.4	DB-912 (ver.5)	—	DB-952 (ver.6)	—	ver.7	—	—
MSPs	853	880	912	—	952	—	1069	—	—
Species	149	159	164	—	178	—	182	—	—
RN Launch	June	—	—	April	March	—	Aug	May	May
Fungi (糸状菌)	ver.1	—	—	ver.2	ver.3	—	ver.4	ver.5 (ver.2022)	ver.7 (ver.2023)
MSPs	364	—	—	468	577	—	856	779	1021
Species	110	—	—	152	180	—	247	222	225

RN, Release Notes ; BDAL, Bruker Daltonics ; MSP, Main Spectrum Projection = Reference Spectrum

表3 *Aspergillus* 属菌のライブラリー登録状況

Section	Species	MBT Filamentous Fungi Library 2023	Section	Species	MBT Filamentous Fungi Library 2023
Fumigati	<i>A. fumigatus</i>	registered	Flavi	<i>A. flavus</i>	registered
	<i>A. felis</i>	unregistered		<i>A. alliaceus</i>	unregistered
	<i>A. fischeri</i>	unregistered	Terrei	<i>A. terreus</i>	registered
	<i>A. fumigatiaffinis</i>	unregistered		<i>A. carneus</i>	registered
	<i>A. fumisynnematus</i>	unregistered	Usti	<i>A. calidoustus</i>	registered
	<i>A. hiratsukae</i>	unregistered		<i>A. insuetus</i>	unregistered
	<i>A. lacinosus</i>	unregistered		<i>A. keveii</i>	unregistered
	<i>A. lentulus</i>	registered	Nidulantes	<i>A. nidulans</i>	registered
	<i>A. novofumigatus</i>	unregistered		<i>A. quadrilineatus</i>	unregistered
	<i>A. parafelis</i>	unregistered	Circumidati	<i>A. ochraceus</i>	registered
	<i>A. pseudofelis</i>	unregistered		<i>A. sclerotiorum</i>	registered
	<i>A. pseudoviridinutans</i>	unregistered		<i>A. steynii</i>	unregistered
	<i>A. udagawae</i>	unregistered		<i>A. tanneri</i>	unregistered
				<i>A. westerdijkiae</i>	registered
Nigri	<i>A. niger</i>	registered	Versicolores	<i>A. versicolor</i>	registered
	<i>A. acidus</i>	unregistered		<i>A. sydowii</i>	registered
	<i>A. awamori</i>	unregistered		<i>A. tennesseensis</i>	unregistered
	<i>A. tubingensis</i>	unregistered			
	<i>A. sydowii</i>	registered			
	<i>A. tennesseensis</i>	unregistered			

脂質の測定が可能になるため、タンパク質のマスペクトルだけでは同定が困難だった菌種の同定が可能になることが期待される³⁵⁾。

3・3 MALDI-TOF MS による抗真菌薬感受性試験

抗真菌薬感受性試験はおもに微量液体希釈法で行われ、熟練者の目視に判定が委ねられている。そのため、誰でも測定値を得られる判定法の一つとして MALDI-TOF MS の活用が期待されている。MALDI-TOF MS による抗真菌薬感受性試験には大きく分けて二つの方法があり、一つは異なる濃度の抗真菌薬に暴露された真菌株の代謝産物の変化をマスペクトルから比較する方法である。抗真菌薬を添加して培養すると代謝が影響を受けるため、マスペクトルにもそれが現れる。段階希釈した抗真菌薬を添加して培養し、それぞれのスペクトルを比較すると、スペクトルの変化が起こる最小薬剤濃度 (minimal profile change concentration, MPCC) が得られる。この MPCC と微量液体希釈法による最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration, MIC) の比較では、*C. albicans* の fluconazole 感受性試験において相関が得られており³⁶⁾、以降複数の菌種にて同様の報告がある。もう一つは細菌用に開発された MBT ASTRA (antibiotic susceptibility test rapid assay) を酵母用に改良したものである。MBT ASTRA とは抗生物質非存在下または存在下で同一の株を培養し、得られたスペクトルから増殖速度を比較し、薬剤耐性を評価する方法であ

る³⁷⁾。どちらの方法も開発途上であるが、これまで数日必要だった感受性試験が最短では株が分離された当日に結果が得られる場合もあるため、適切な治療方針を短時間で決めるための一助となる有用な測定法である。

4 おわりに

MALDI-TOF MS は、そのアップグレードされたデータベースにより、スペクトルプロファイルの生成を通じて、種レベルまで正確に同定するための効果的な手法であり、コストも低い。しかし、MALDI-TOF MS を含む表現型分析法には、培養での増殖という前提条件が必要であり、所要時間の長期化が考えられる。非培養系の分子診断は、培養の結果が得られないか、あるいは培養の結果がばらつく場合、あるいは重複感染症例で、同定のために真菌を純粋な形で分離することが困難な場合に有用である。臨床的・微生物学的には疑いがないにもかかわらず、特異的な診断検査を行わなければ、稀少な病原体が見逃される可能性がある場合に、分子生物学的手段で従来診断されなかった病原体の同定に寄与する可能性があるという利点がある。TOF-MS 検査は本邦で認可されているものの、分子生物学的検査は、まだ認可されておらず、各施設の臨床検査部あるいは一部の研究機関に依頼して行うしかない現状である。真菌症に限ったことではないが、複数の補助診断があるが、いずれも単独でゴールドスタンダード検査に取って代わるには不十分であり、リスクのある患者を最適に管理するためには、宿

主の背景や X 線写真の特徴などと組み合わせてより信頼のおける総合診断が望まれる。

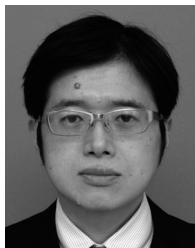
謝辞 本論文を執筆するにあたり AMED の課題番号 24fk0108700s0101 の支援を受けた。

利益相反 佐藤一朗は、本稿作成にあたりブルカージャパン株式会社からデータおよび情報の提供を受けた。

村山琮明は、本論文に関して、開示すべき利益相反関連事項はない。

文 献

- 1) World Health Organization: WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action (2022), <<https://www.who.int/publications/item/9789240060241>>, (accessed 2025. 6. 10).
- 2) F. Bongomin, S. Gago, R. O. Oladele, D. W. Denning : *J Fungi (Basel)*, **3**, 57 (2017).
- 3) T. J. White, T. Bruns, S. Lee, J. Taylor : “PCR Protocols : A Guide to Methods and Applications” Edited by M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, T. J. White, p.315, (1990), (Academic Press, New York).
- 4) C. P. Kurtzman, C. J. Robnett : *J Clin Microbiol*, **35**, 1216 (1997).
- 5) N. L. Glass, Donaldson, G. C. : *Applied and environmental microbiology*, **61**, 1323 (1995).
- 6) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル 播種性クリプトコックス症 Ver.2 (2023), <<https://id-info.jihs.go.jp/relevant/manual/010/manual.html>>, (accessed 2025. 6. 10)
- 7) T. Sugita, R. Ikeda, T. Shinoda : *Microbiol Immunol*, **45**, 757 (2001).
- 8) V. Rickerts, G. Just-Nubling, F. Konrad, J. Kern, E. Lambrecht, A. Bohme, V. Jacobi, R. Bialek : *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **25**, 8 (2006).
- 9) T. Sugita, M. Nakajima, R. Ikeda, T. Matsushima, T. Shinoda : *J Clin Microbiol*, **40**, 1826 (2002).
- 10) O'Donnell, C. Gueidan, S. Sink, P. R. Johnston, P. W. Crous, A. Glenn, R. Riley, N. C. Zitomer, P. Colyer, C. Waalwijk, T. Lee, A. Moretti, S. Kang, H. S. Kim, D. M. Geiser, J. H. Juba, R. P. Baayen, M. G. Cromey, S. Bithell, D. A. Sutton, K. Skovgaard, R. Ploetz, H. Corby Kistler, M. Elliott, M. Davis, B. A. Sarver : *Fungal Genet Biol*, **46**, 936 (2009).
- 11) P. Blanz, W. Buzina, G. Ginter, Y. Graser : *Mycoses*, **43 Suppl 1**, 11 (2000).
- 12) J. D. Jenks, P. L. White, S. E. Kidd, T. Goshia, S. I. Fraley, M. Hoenigl, G. R. Thompson 3rd : *Expert Rev Mol Diagn*, **23**, 1135 (2023).
- 13) WG 1.3 – Fungi : <<https://www.ibol.org/phase1/wg-1-3-fungi/>>, (accessed 2025. 6. 10).
- 14) UNITE : rDNA ITS based identification of Eukaryotes and their communication via DOIs. <<https://unite.ut.ee/>>, (accessed 2025. 6. 10).
- 15) K. Abarenkov, R. H. Nilsson, K. H. Larsson, A. F. S. Taylor, T. W. May, T. G. Froslev, J. Pawlowska, B. Lindahl, K. Poldmaa, C. Truong, D. Vu, T. Hosoya, T. Niskanen, T. Piirmann, F. Ivanov, A. Zirk, M. Peterson, T. E. Cheeke, Y. Ishigami, A. T. Jansson, T. S. Jeppesen, E. Kristiansson, V. Mikryukov, J. T. Miller, R. Oono, F. J. Ossandon, J. Pauperio, I. Saar, D. Schigel, A. Suija, L. Tedersoo, U. Koljalg : *Nucleic Acids Res*, **52**, D791 (2024).
- 16) C. L. Schoch, K. A. Seifert, S. Huhndorf, V. Robert, J. L. Spouge, C. A. Levesque, W. Chen, Fungal Barcoding Consortium, Fungal Barcoding Consortium Author List : *Proc Natl Acad Sci U S A*, **109**, 6241 (2012).
- 17) Y. J. Liu, B. D. Hall : *Proc Natl Acad Sci U S A*, **101**, 4507 (2004).
- 18) C. P. D'Alessandro, L. R. Jones, R. A. Humber, C. C. Lopez Lastra, D. R. Sosa-Gomez : *J Basic Microbiol*, **54 Suppl 1**, S21 (2014).
- 19) J. J. Silva, M. H. P. Fungaro, X. Wang, T. O. Larsen, J. C. Frisvad, M. H. Taniwaki, B. T. Imanaka : *J Fungi (Basel)*, **8** (2022).
- 20) K. O'Donnell, E. Cigelnik : *Mol Phylogenet Evol*, **7**, 103 (1997).
- 21) H. A. Raja, C. L. Schoch, V. P. Hustad, C. A. Shearer, A. N. Miller : *MycoKeys*, **1**, 63 (2011).
- 22) JGI Joint Genome Institute, <<https://jgi.doe.gov/>>, (accessed 2025. 6. 10).
- 23) N. E. Babady, C. Y. Chiu, A. Craney, D. C. Gaston, R. S. Hicklen, C. A. Hogan, T. M. John, A. G. Stewart : *Expert Rev Mol Diagn*, **1–14** (2024).
- 24) Services, U.S.D.o.H.a.H., Administration, F.a.D. and Health, C.f.D.a.R. : Automated Fluorescence in situ Hybridization (FISH) Enumeration Systems - Class II Special Controls Guidance for Industry and FDA Staff (2005).
- 25) 村山琮明：日本菌学会会報, **53**, 3 (2012).
- 26) S. Sadamoto, Y. Mitsui, Y. Nihonyanagi, K. Amemiya, Shinozaki, M., S. Y. Murayama, M. Abe, T. Umeyama, N. Tochigi, Y. Miyazaki, K. Shibuya : *J Fungi (Basel)*, **8**, 337 (2022).
- 27) J. Trnovsky, W. Merz, P. Della-Latta, F. Wu, M. C. Arendrup, H. Stender : *J Clin Microbiol*, **46**, 1537 (2008).
- 28) 川崎浩子 : *Microb. Resour. Syst.*, **35**, 60 (2019).
- 29) 小松 方 : 日本臨床微生物学雑誌, **26**, 79 (2016).
- 30) 山口英世 : “医真菌同定の手引き (第 5 版)”, p. 383 (2013), (栄研化学).
- 31) K. Satoh, M. Maeda, Y. Umeda, Y. Miyajima, K. Makimura : *Microbiol. Immunol.*, **55**, 454 (2011).
- 32) Bruker corporation : Filamentous Fungi Identification. <<https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/microbiology-and-diagnostics/microbial-identification/filamentous-fungi-identification.html>>, (accessed 2025, 5, 20)
- 33) 佐藤一朗, 萩原繁広, 田村 俊, 榎村浩一 : 日本医真菌学雑誌, **66**, 45 (2025).
- 34) E. A. Idelevich, B. Nedow, M. Vollmer, K. Becker : *J. Clin. Microbiol.*, **61** e0021223 (2023). DOI: 10.1128/jcm.00212-23.
- 35) 藤永あずみ, 道家康平, 馬淵亮史 : 電気泳動, **68**, 59 (2024).
- 36) C. Marinach, A. Alanio, M. Palous, S. Kwasek, A. Fekkar, J. Y. Brossas, S. Brun, G. Snounou, C. Hennequin, D. Sanglard, A. Datry, J. L. Golmard, D. Mazier : *Proteomics*, **9**, 4627 (2009).
- 37) C. Lange, S. Schubert, J. Jung, M. Kostrzewa, K. Sparbier : *J. Clin. Microbiol.*, **52**, 4155 (2014).



佐藤 一郎 (SATO Kazuo)
帝京大学医療共通教育研究センター
(〒173-8605 東京都板橋区加賀 2-11-1).
日本大学大学院生物資源科学研究科博士後
期課程修了. 博士 (生物資源科学). 《趣
味》食べ歩き.

E-mail : satokazu@med.teikyo-u.ac.jp



村山 琮明 (MURAYAMA YAMAGATA Somay)
東邦大学医学部真菌感染病態解析・制御学
講座 (〒143-8541 東京都大田区大森西 5-
21-16). 千葉大学大学院薬学研究科総合
薬品科学専攻博士後期課程修了. 薬学博
士・薬剤師. 《現在の研究テーマ》病原真
菌の遺伝子診断. 《主な著書》“図解 微生
物学・感染症・化学療法”, (南山堂). 《趣
味》読書, 声楽, 折紙.

E-mail : somei.murayama@ext.toho-u.ac.jp

~~~~~

## 原 稿 募 集

「技術紹介」の原稿を募集しています

**対象：**以下のような分析機器、分析手法に関する紹介・解説記事

- 1) 分析機器の特徴や性能および機器開発に関わる技術,
- 2) 分析手法の特徴および手法開発に関わる技術,
- 3) 分析機器および分析手法の応用例,
- 4) 分析に必要な試薬や水および雰囲気などに関する情報・解説,
- 5) 前処理や試料の取扱い等に関する情報・解説・注意事項,
- 6) その他, 分析機器の性能を十分に引き出すために有用な情

報など

**新規性：**本記事の内容に関しては、新規性は一切問いません。新規の装置や技術である必要はなく、既存の装置や技術に関わるもので構いません。また、社会的要求が高いテーマや関連技術については、データや知見の追加などにより繰り返し紹介していただいても構いません。

**お問い合わせ先：**

日本分析化学会『ぶんせき』編集委員会

[E-mail : bunseki@jsac.or.jp]