

分類鑑定

酵母菌鑑定

傳統鑑定酵母菌的方式主要是根據菌株表現型特性 (phenotypic characteristics)，係集合形態特徵、芽孢分生方式、生理特性或藉由特定培養基之生長特性來加以判別。然而這些表現型數據只能反映出有限的遺傳信息，有些酵母菌細胞形態會改變，生理特性也可能受到基因突變而發生變異，因此，單純依照表現型特徵差異作為酵母菌鑑定是不太可靠的。隨著分子生物學及基因體學的發展，利用 DNA 層次輔以傳統分類學已成為現今酵母菌鑑定之主要方式，目前鑑定酵母菌的分生技術包含有染色體 DNA 雜交 (hybridization)、DNA 指紋 (RAPD, AFLP, SSR, DGGE, SSCP, RFLP) 及比較序列分析 (comparative sequence analysis) 等。上述分生技術中，一般公認唯有利用 DNA 雜交 (為界定種名層次之黃金標準) 才能最正確判定菌株的學名，但此技術費時、成本高、無法進行資料庫建立及一次進行大量分析。以 *Saccharomyces* 菌群 (包括 *S. cerevisiae*、*S. paradoxus*、*S. bayanus*、*S. pastorianus*、*S. cariocanus*、*S. mikatae*、*S. kudriavzevii* 及 *S. arboricolus* 等) 為例，其 26S rRNA 基因序列相似度範圍高達 97.5~100%，但 DNA 雜交試驗卻清楚證實為不同菌種別，此時就需要再輔以其他持家基因序列之分析 (如 β -tubulin)，才可清楚鑑別出 *Saccharomyces* 菌群之相關菌種。

綜合而言，目前酵母菌學名鑑定是以多相分類學 (polyphasic taxonomy) 為基礎，整合表現型和基因型數據，進行與相關菌種類緣關係之釐清與分類地位之確認，才能明確定義出菌種名稱。

項目說明

酵母菌鑑定包含形態觀察 (液態和固態培養特徵、菌絲和孢子觀察等)、生理生化試驗 (發酵、碳源和氮源同化利用性、生長溫度等) 及基因型特徵 (主要是以比較序列分析法，包括 26S rRNA 基因、特定持家基因與非編碼基因 internal transcribed spacer 等作為序列比對標的)。

一般酵母菌鑑定流程是先確認顧客提供菌株之純度和生長狀況，之後再進行後續試驗。配合使用特殊的培養基以觀察是否產生偽菌絲或有性孢子。也可使用全自動快速鑑定系統 (VITEK 2) 或是進行發酵、碳源和氮源同化利用性之測定等。所得分析結果除了與內建資料庫進行比對外，亦可參考酵母菌鑑定專書 *The Yeasts : A taxonomic study* (1)，同時與標準菌株進行列表相互比對。基於 DNA 定序和序列相似性比對分析結果，當待測菌株與其近似種之 26S rRNA 基因序列相似性大於 99%，則表示可能是同種，但近似種若是由數個不同菌種別組成，則必須再輔以其他持家基因進行逐一的鑑別區分。根據多相分類鑑定數據結果，進行綜合研判並給予菌種學名。

參考文獻

1. C.P. Kurtzman, J.W. Fell, T. Boekhout. 2011. *The Yeasts : a Taxonomic Study*. Fifth edition. Elsevier.