

# 種豬厭氧腸道菌培養體學分析之初探

陳佳萱<sup>1</sup>, 劉忠憲<sup>2</sup>, 楊杰<sup>3</sup>, 吳明哲<sup>1</sup>, 黃建勳<sup>2</sup>

1. 行政院農業委員會畜產試驗所

2. 財團法人食品工業發展研究所, 生資中心

3. 福昌種豬場

## 前言

以宏基因體學技術 (Metagenomics) 研究微生物相是目前探討腸道微生物體最主要的分子生物學手段, 然而這些方法有其限制, 例如不易偵測到弱勢菌群, 即菌數低於 $10^6$  cells, 以及無法取得具關鍵指標性的活菌供做功能性驗證, 造成腸道微生物體學的發展與後續應用遭受到不少質疑與挑戰。微生物培養體學技術 (culturomics) 是利用多樣化的培養條件, 模擬人類腸道環境, 藉以達到高通量的培養效果; 並搭配基質輔助雷射脫附游離飛行時間式質譜儀 (MALDI-TOF MS) 進行菌株學名快速鑑別, 作為菌相解析的依據。相較於宏基因體學, 培養體學的靈敏度更高, 其可偵測低於 $10^6$  cells 的活菌, 經由分離純化、培養、鑑定及保存的菌株, 可供後續更深入的功能探索與應用。本試驗採集2頭杜洛克種公豬新鮮糞便樣本, 使用不同的厭氧培養條件進行厭氧腸道菌之分離培養, 再以MALDI-TOF MS或16S rRNA基因定序, 快速鑑別所得分離株。相關腸道菌的實務操作, 將作為未來建立種豬腸道微生物培養體學平台之依據。

## 材料與方法

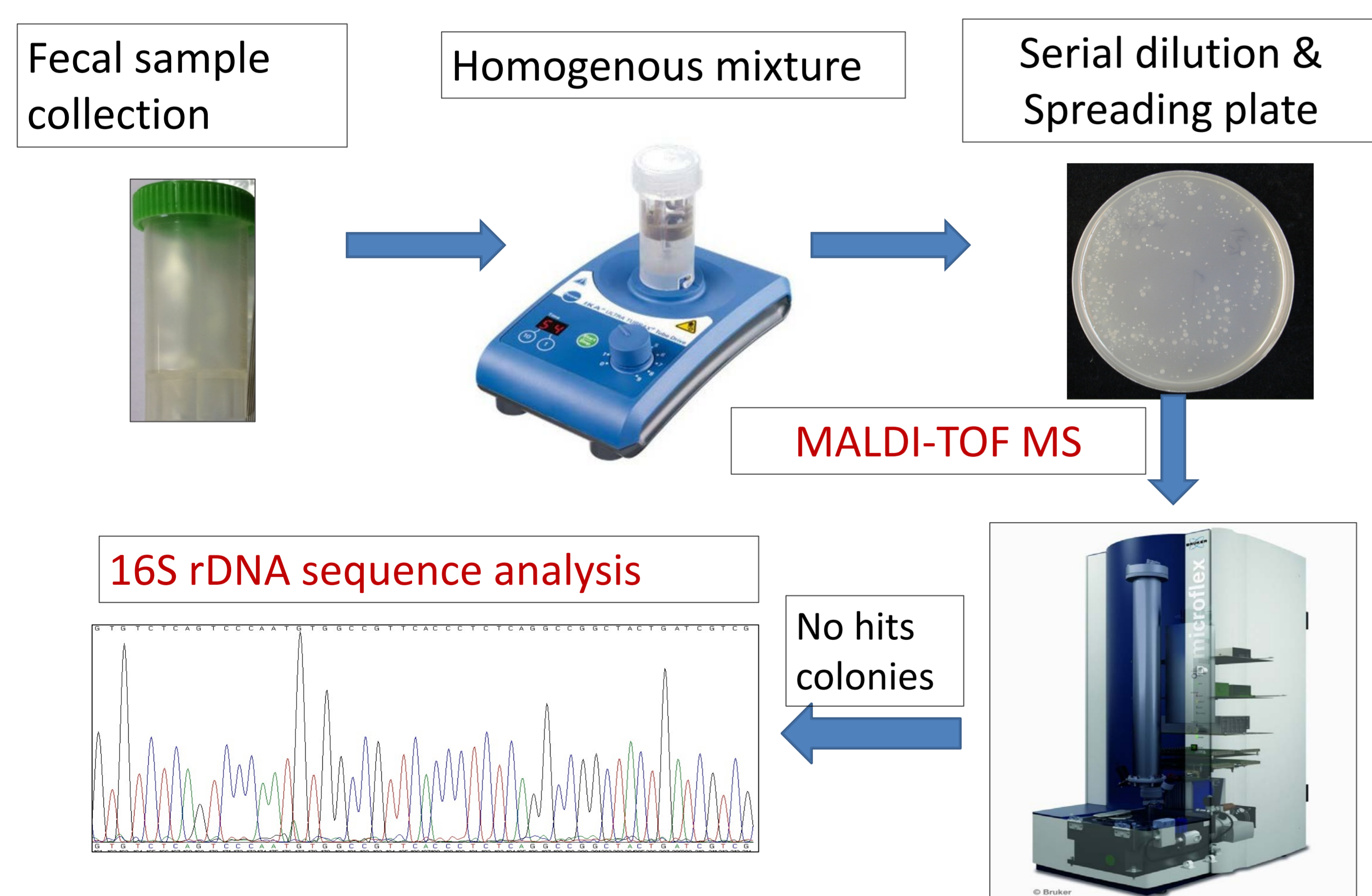


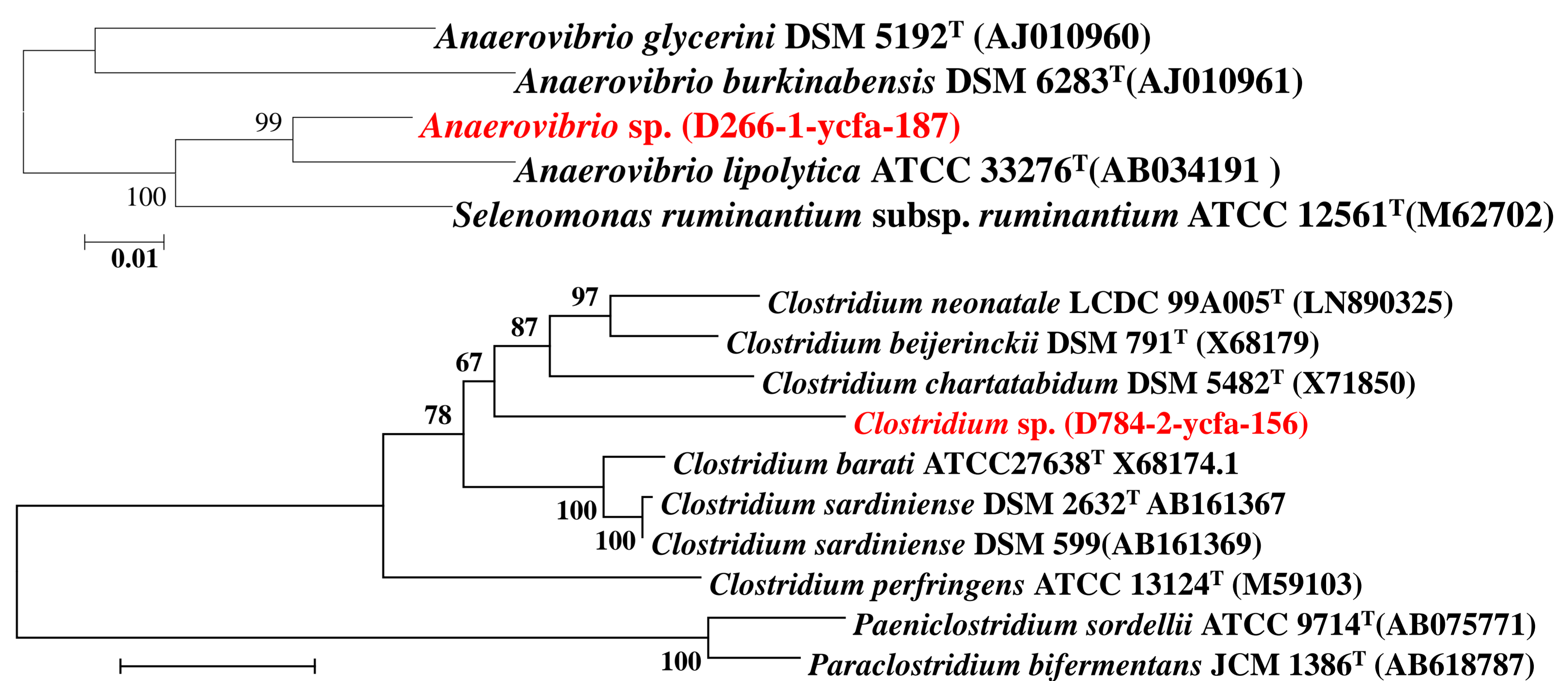
表 1. 腸道菌之分離培養條件

Media	Culture conditions
1. Direct culture of stool preparation in YCFA* agar	Anaerobic/ 37°C/ 2 days
2. Direct culture of stool preparation in MRS agar	Anaerobic/ 37°C/ 2 days
3. Direct culture of stool preparation in mucin agar	Anaerobic/ 37°C/ 6 days

\*YCFA: yeast extract-casein hydrolysate-fatty acids

表 2. 成功自豬隻糞便檢體培養與鑑定的腸道菌種

Phylum	Species
<b>Actinobacteria</b>	<i>Bifidobacterium pseudolongum</i> subsp. <i>pseudolongum</i> <i>Populibacterium</i> sp.
<b>Bacteroidetes</b>	<i>Prevotella copri</i> <i>Prevotella pectinovora</i>
<b>Firmicutes</b>	<i>Anaerovibrio</i> sp. <i>Clostridium perfringens</i> <i>Clostridium</i> sp. <i>Enterococcus asini</i> <i>Enterococcus canintestini</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Enterococcus hirae</i> <i>Lactobacillus amylovorus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> <i>Lactobacillus johnsonii</i> <i>Streptococcus alactolyticus</i> <i>Traorella</i> sp.
<b>Proteobacteria</b>	<i>Bilophila wadsworthia</i> <i>Desulfovibrio piger</i> <i>Escherichia coli</i>
<b>Synergistetes</b>	<i>Cloacibacillus porcorum</i>



## 結果與討論

本試驗採集2頭杜洛克頭種公豬新鮮糞便樣本, 總計挑選近500個分離菌落, 經過繼代培養、菌株純化與學名鑑別, 最後得到20株不同菌種別之分離株, 這些菌株主要分別為厚壁菌門、擬桿菌門、放線菌門、變形菌門與Synergistetes門, 其中有四株無法定義出菌種學名, 推測可能是從未被發現的新穎菌種, 未來將利用全基因體序列進行比對分析, 並結合傳統多相分類技術, 藉以完成新種的描述與發表。