

マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法による遺伝的近縁菌株の識別解析

○室井 正志<sup>1</sup>, 島 圭介<sup>2</sup>, 中川 恭好<sup>3</sup>, 棚元 憲一<sup>1</sup>(<sup>1</sup>武蔵野大薬, <sup>2</sup>島津製作所, <sup>3</sup>製品評価技術基盤機構)

【目的】微生物の迅速同定には、16S rRNA 遺伝子解析による方法が繁用されているが、この手法は、まれに菌種間や属間が異なっても 90%以上の相同性を示す場合があることが問題となっている。本研究では、95%以上の 16S rRNA 遺伝子配列相同性を有する *Escherichia* 菌株を用いて、マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法 (MALDI-TOFMS) による識別能について検討した。

【方法】菌株として *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E. hermanii* それぞれ 1 株ずつと 9 株の *E. coli* を用いた。MALDI-TOFMS の測定は加速電圧 20 kV, リニアモード, 遅延引き出し ( $m/z$  12362) の条件で行った。16S rRNA 遺伝子配列相同性は Clustal W 法で、マススペクトルのクラスター解析は single link agglomerative clustering algorithm を用いて行った。

【結果】*E. coli* 9 株の 16S rRNA 遺伝子配列相同性は 99-100%であった。*E. coli* と *E. fergusonii* の相同性は 98.9-99.7%であり、*E. blattae* および *E. hermanii* は他の菌株間と 95.8-97.5%の相同性を示した。一方で、MALDI-TOFMS 解析では *E. coli* 9 株間で 78-92%、*E. coli* と *E. fergusonii* 間で 74%の相同性を示し、*E. blattae* および *E. hermanii* の他の菌株間との相同性はわずか 32%であり、16S rRNA 遺伝子配列解析に比べ高い識別能を示した。それぞれの菌株の 2 回の測定値は概ねそれぞれクラスターとして他の菌株から分離でき、*E. coli* 菌株間の識別が可能であることを示唆した。

【結論】MALDI-TOFMS による解析は 16S rRNA 遺伝子配列解析で理論的に分類不可能な近縁菌種でも識別する能力を有し、さらには同菌種に属する菌株をも識別できる可能性を示した。