

AXIMA微生物同定システムによる皮膚糸状菌の多様性解析

Exploring The Diversity of Dermatophytes Using AXIMA Microorganism Identification System

皮膚糸状菌（症）は皮膚の角質層，毛，爪などに真菌が寄生する病気です。一般的なものとしては，白癬が知られています。皮膚糸状菌の主なものとしては，*Trichophyton*，*Microsporium*属などが挙げられますが，適切な対処をするためにはそれ以外の真菌類が原因菌である可能性も考慮に入れる必要があり，それらの比較的出現頻度が少ない菌種も網羅した迅速な真菌同定法が求められていました。

MALDI-TOF MSを用いたAXIMA微生物同定システム

Fig. 1 にAXIMA微生物同定システムによる微生物同定のながれを示します。1) 微生物試料の採取を行います。10⁵ cells/サンプルウェル程度のごく微量の試料量から分析が可能です。2) 採取した菌体をMALDI-TOF MSのサンプルプレートウェルに塗布します。塗布した菌体をMALDIのイオン化補助剤であるマトリックスと混合し，試料が乾燥すれば試料調製は完了です。3) 調製した菌体

は迅速・簡便という大きな特長があります。真菌の同定は形態学的検査が現在も中心的な役割を果たしており，正確な真菌同定を行うには熟練を要しますが，AXIMA微生物同定システムはこのような熟練を要しないことから，既存の手法を補う新しい手法として期待されます。

ここでは，本システムにより皮膚糸状菌類の分類・同定が迅速・簡便かつ正確に行えた例¹⁾をご紹介します。

K. Shima

注：AXIMA微生物同定システムの使用は研究用途に限りません。臨床診断目的の使用は行えません。

試料を，MALDI-TOF MSを用いた微生物同定システム，“AXIMA微生物同定システム”で解析することにより，試料の微生物種同定や分類が行えます。同定は，AXIMA微生物同定システムのスペクトルデータベース SuperSpectra™に登録されている微生物種毎のマススペクトルデータと，微生物サンプルのMALDI-TOF MS測定データを照合することにより行います。

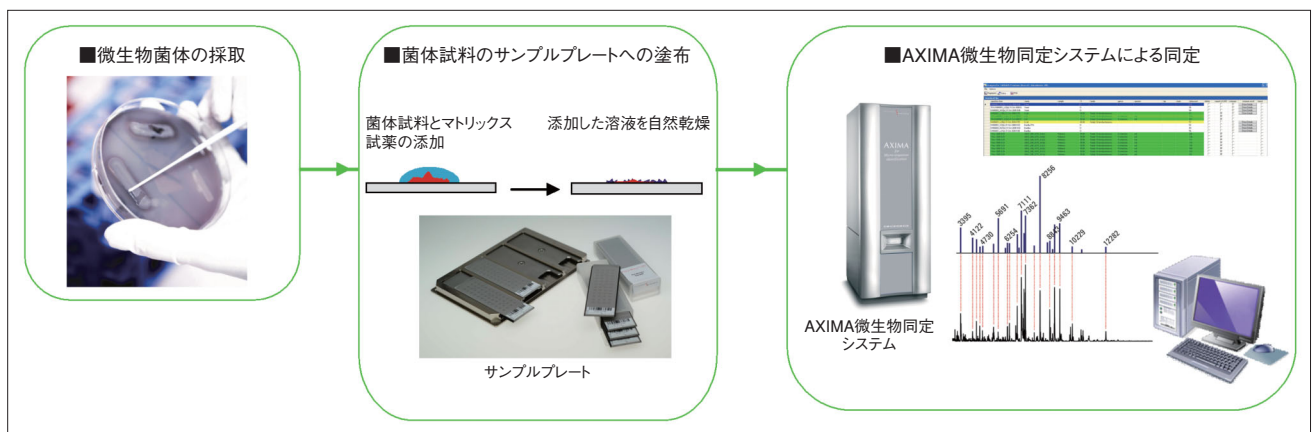


Fig. 1 AXIMA微生物同定システムによる微生物同定のながれ
Schematic Overview of The Analysis of MALDI-TOF Mass Spectra of Intact Cells of Microorganisms Using AXIMA Microorganism Identification System

今回分析した分離株の一覧と写真例をFig. 2とTable 1に示します。皮膚糸状菌症で一般に検出される菌種以外の真菌も存在することが分かります。

糸状菌のマススペクトル例をFig. 3に示します。それぞれの菌株について，*m/z* 3000-13000にかけておおよそ100程度のピークが検出されており，ピークパターンがそれぞれ異なっていることから，MALDI-TOF MSによる微生物分類は真菌類にも適用可能であることが示されています。なお，検出されているピーク群は，それぞれの菌株を構成するタンパク質成分由来と考えられます。

AXIMA微生物同定システムの解析ソフトによる各株のマススペクトルデータのデンドログラムをFig. 4に示しま

す。デンドログラムは菌種毎にクラスターを形成しており，MALDI-TOF MS測定データが真菌の区別に有用であることを示しています。“Unknown Species”についても，その分離株を別の方法で同定したうえで，AXIMA微生物同定システムのデータベースにそのマススペクトルデータを追加登録することにより，次回分析からは同定することが可能となります。

以上の結果から，AXIMA微生物同定システムにより真菌類の迅速分析が可能であることが示されました。従来法には無い特長を持つ本システムは，微生物の同定・分類が必要なあらゆる分野において強力なツールとなることが期待されます。

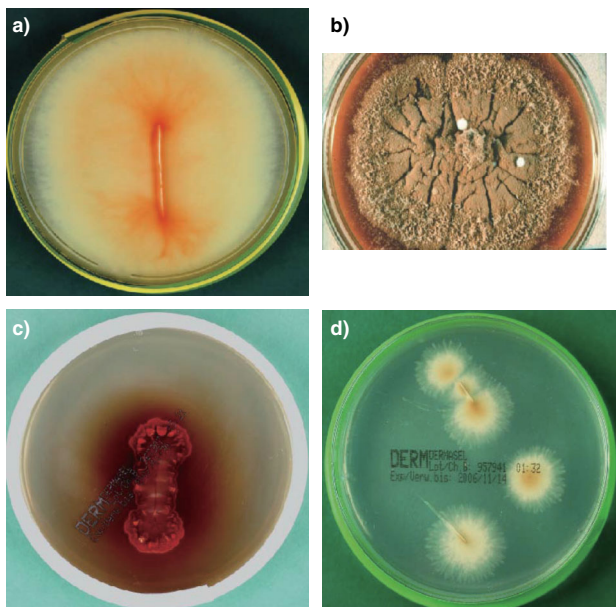


Fig. 2 二次培養した a) *Fusarium proliferatum*; b) *Scopulariopsis brevicaulis*; c) *Aspergillus vesicolor*; d) *Arthroderma fulvum*
Subcultures of a) *Fusarium proliferatum*; b) *Scopulariopsis brevicaulis*; c) *Aspergillus vesicolor* and d) *Arthroderma fulvum*

Table 1 分析した分離株一覧
Studied Isolates

Species	n	%
<i>Arthroderma benhamiae</i>	2	1.7
<i>Arthroderma fulvum</i>	1	0.8
<i>Aspergillus versicolor</i>	1	0.8
<i>Fusarium nygamai</i>	1	0.8
<i>Fusarium verticillioides</i>	1	0.8
<i>Fusarium sp.</i>	1	0.8
<i>Microsporium canis</i>	2	1.7
<i>Microsporium sp.</i>	1	0.8
<i>Microsporium keratinophilum</i>	1	0.8
<i>Penicillium sp.</i>	1	0.8
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	4	3.3
<i>Trichophyton interdigitale</i>	16	13.3
<i>Trichophyton rubrum</i>	79	65.8
<i>Trichophyton tonsurans</i>	1	0.8
<i>Trichophyton verrucosum</i>	1	0.8
unknown Species	7	5.8

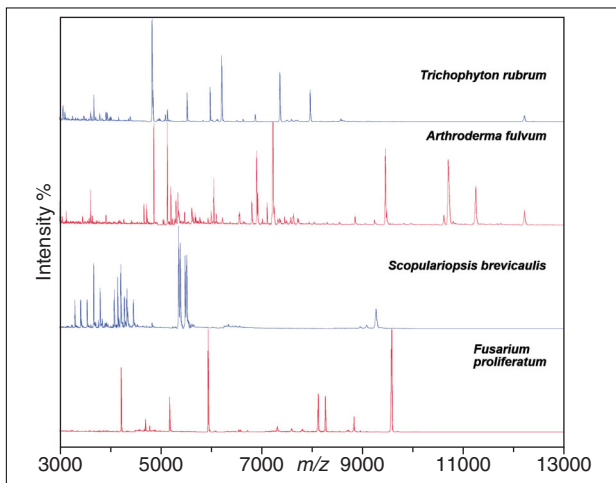


Fig. 3 糸状菌のマススペクトル例
Exemplary Mass Spectra of Filamentous Fungi

【謝辞】

本アプリケーションニュースはFriedrich Schiller University of JenaのDr. Uta-Christina HiplerとAnagnosTec社のDr. Marcel Erhardとの共同研究によって得られた結果をもとに作成しています。

初版発行：2010年7月

島津製作所 分析計測事業部 応用技術部

島津分析コールセンター

☎ 0120-131691 (携帯電話不可)
● 携帯電話専用番号 (075) 813-1691

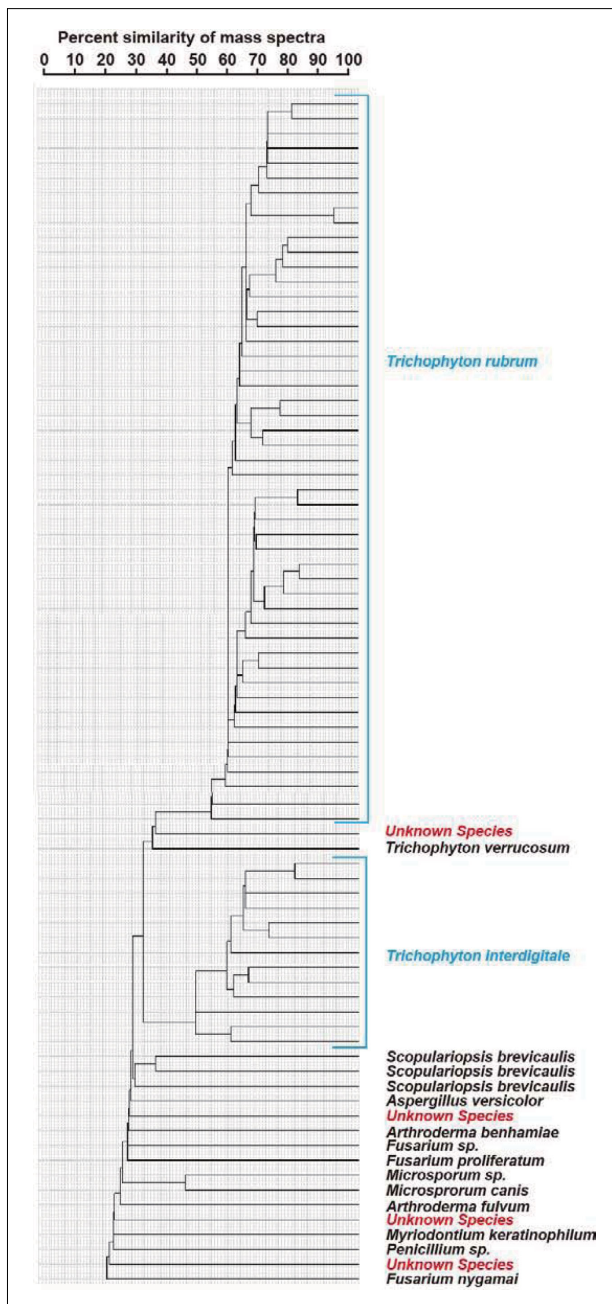


Fig. 4 各菌株のマススペクトルデータのクラスター解析結果
Dendrogram Based on Similarity of Mass Spectra of Individual Strains Calculated with The Software Using a Single-link Agglomerative Clustering Algorithm

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は下記の会員制Web Solutions Navigatorで閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>
会員制Webの閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。