

Application News

No. B50

MALDI-TOF 質量分析法 MALDI-TOF Mass Spectrometry

MALDI-TOF MS を用いた微生物二次代謝産物の簡便な検出 — 枯草菌における検討例 —

Detection of Secondary Metabolites of Bacteria Using Whole-Cell Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry.

マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析計 (MALDI-TOF MS) を用いた微生物同定法が、迅速・簡便な細菌同定検査法として近年注目を集めています。MALDI-TOF MS による微生物同定では、シングルコロニー量程度の微生物の菌体を MALDI のイオン化補助剤であるマトリックスと混合したものを測定し、検出されるペプチド・タンパク由来のピーク群を利用します。実際には、サンプル調製方法や測定条件を少し調整すれば低分子領域に微生物由来の脂

質や代謝産物が検出されるため、産生物によっては MALDI-TOF MS による微生物同定と同様の迅速・簡便な検出を行なうことも可能となります。

ここでは、当社の MALDI-TOF MS ラインナップである AXIMA Performance を用いて、枯草菌の二次代謝産物で抗菌性を持つ物質であるサーファクチンの簡便な検出が行なえた例を紹介します。

K. Shima

今回の分析のながれを Fig. 1 に示します。1) 微生物試料の採取を行います。今回の分析では、培養し凍結保存していた *Bacillus subtilis* からシングルコロニー量程度の菌体を採取しました。2) 採取した菌体をマトリックスと混合した溶液約 1 μ L をサンプルプレートに搭載し、自然乾燥させまし

た。3) 調製した菌体試料を、AXIMA Performance により測定しました。一連の流れに必要な時間は、条件にもよりますが十数分程度で、MALDI-TOF MS による測定自体は 1 分程度で完了します。

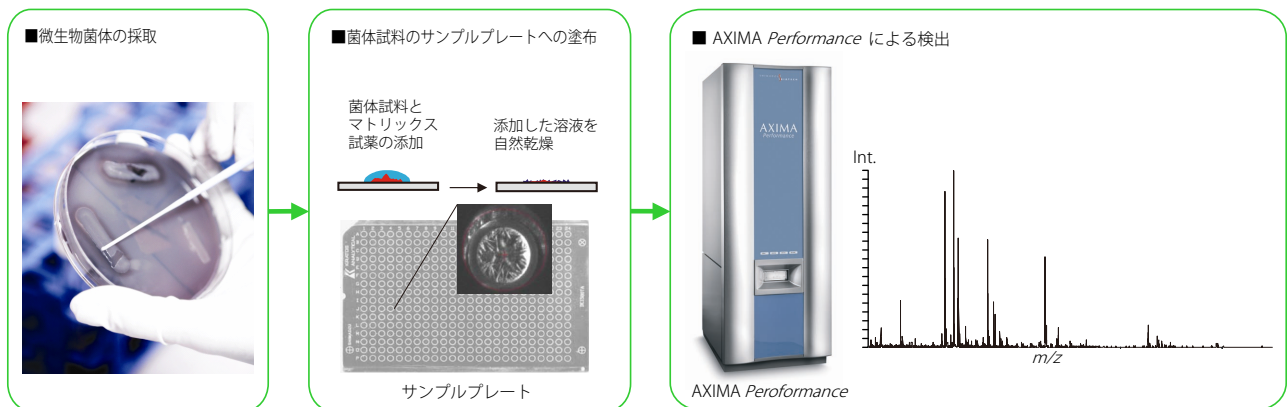


Fig. 1 MALDI-TOF MS による微生物の二次代謝物検出のながれ (イメージ図)
Schematic Overview of the Detection of Secondary Metabolites of Microorganisms Using MALDI-TOF MS

まず、微生物同定の際に用いる測定条件にて取得した *B. subtilis* のマススペクトルを Fig. 2 に示します。m/z 4000 から 15000 にかけてタンパク質成分由来のピークが複数検出されています。MALDI-TOF MS による微生物同定は、これらのピーク群のパターンが菌種毎に異なることを利用して行います。

次に、同じく *B. subtilis* について、測定条件を変更して取得したマススペクトルを Fig. 3 に示します。m/z 700 から 3000 の範囲に複数のピークが検出されています。使用したマトリックスがペプチドの検出にむいた CHCA であること、既報¹⁾をもとに、検出されたピークのいくつかは二次代謝産物の非リボソームペプチドであると推定されました。そこで、m/z 1042 のピークについて、非リボソームペプチドのデータベースである Norine²⁾ による検索を、分子量を

指標に行なったところ、サーファクチンが近い候補の一つとして選出されました。m/z 1042 の MS/MS の結果も、この検索結果を支持するものでした (Fig. 4)。

以上の結果から、MALDI-TOF MS による微生物同定と同様の簡便な手順で、二次代謝物など微生物のタンパク質以外の成分を検出することが可能である事が示されました。この手法は微生物のタイピングや有用産物のスクリーニングに利用できる可能性も報告されており^{3), 4)}、今後の応用が期待されます。

[参考文献]

1. Anal. Chem. 2003, 75, 1628-1637.
2. Norine: <http://bioinfo.lifl.fr/norine/>
3. J Mass Spectrom. 2007, 42, 1062-1068.
4. Comb Chem High Throughput Screen. 2003, 6, 557-567.

測定条件

Measurement Condition

装置 : AXIMA Performance
測定条件 : Positive/linear mode
試料 : *Bacillus subtilis* 細胞懸濁液
マトリックス : 飽和 CHCA 溶液

装置 : AXIMA Performance
測定条件 : Positive/Reflectron mode
試料 : *Bacillus subtilis* 細胞懸濁液
マトリックス : 飽和 CHCA 溶液 + リチウム塩

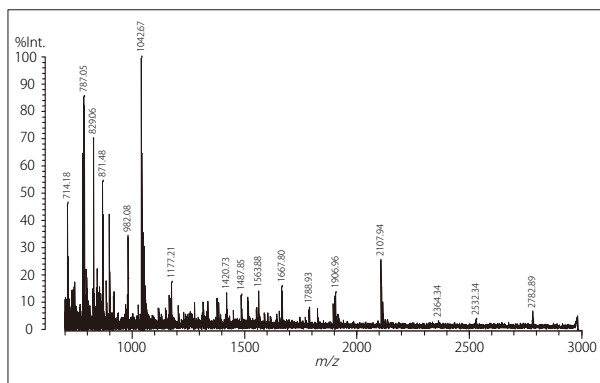
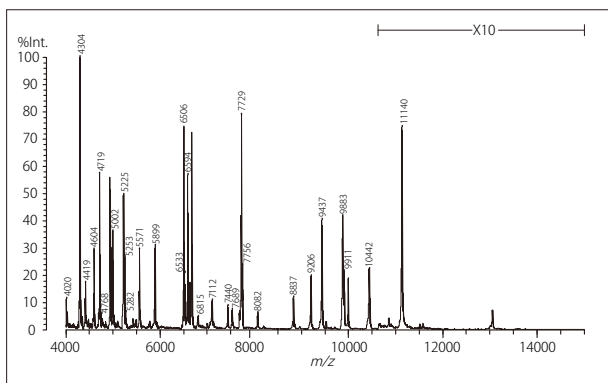


Fig. 2 微生物同定の際に用いる測定条件にて取得した *B. subtilis* のマススペクトル
Typical Mass Spectrum of *B. subtilis* Using Whole-Cell Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry.

Fig. 3 MALDI-TOF MS による *B. subtilis* の二次代謝物検出
Detection of Secondary Metabolites of *B. subtilis* Using Whole-Cell MALDI-TOF MS.

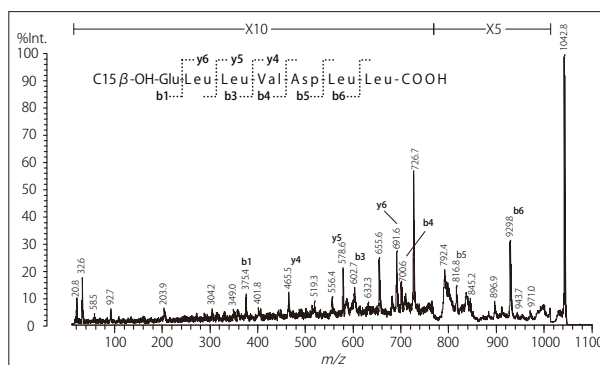


Fig. 4 m/z 1042 の MS/MS
MS/MS of m/z 1042.

＞ アンケート

関連製品 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



＞ AXIMA
Performance™
MALDI-TOFMS AXIMA™シリーズ

関連分野

＞ 環境

＞ 食品・飲料

＞ 価格お問い合わせ

＞ 製品お問い合わせ

＞ 技術お問い合わせ

＞ その他お問い合わせ