



理論タンパク質情報を活用した新しいMALDI微生物同定法による

Acinetobacter属菌の同定 ○大久保 達樹¹、寺本 華奈江¹、川﨑 浩子²、山田 賢志¹、押川 倫憲¹、岩本 慎一¹、田中 耕一

MALDI-TOFMSによる微生物同定

MALDI-TOFMSを用いた微生物同定(MALDI微生物同定)

- 低コスト/迅速な測定/簡便な試料調製がメリット
- 臨床分野や食品分野で普及

MALDI微生物同定における課題

- 従来技術では識別が困難とされてきた微生物群の存在
- 代表例: A. calcoaceticus-baumannii (ACB) complex

A. baumanniiの重要性

- 院内肺炎起因菌として重要視
- 高い抗菌薬耐性による院内感染のリスクを包含

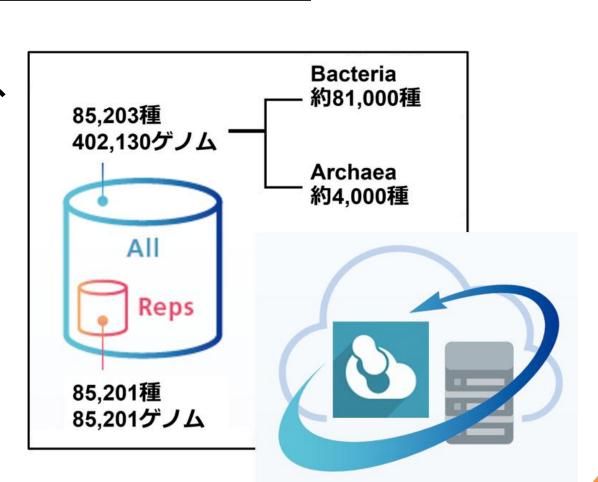
MicrobialTrackTMが切り拓く新たな微生物同定 -

MicrobialTrackの同定技術

- MALDIによる実測質量とゲノム情報から予測される理論質量の比較
- 特に<u>リボソームタンパク質</u>を重視した設計
- **膨大な菌種**を搭載した2種類のデータベース

MicrobialTrackのメリット

- クラウドサービスであるため専用PCは不要
- 設定パラメータが少なく、操作が容易
- マススペクトルに理論タンパク質の情報 が付加されるため詳細な解析が可能





測定対象微生物および培養と測定の条件

測定対象微生物

- ACB complexを構成する6種の内4種(*A. baumannii*, *A. calcoaceticus*, *A. nosocomialis*, *A. pittii*)
- 各菌種の基準株を含む33株

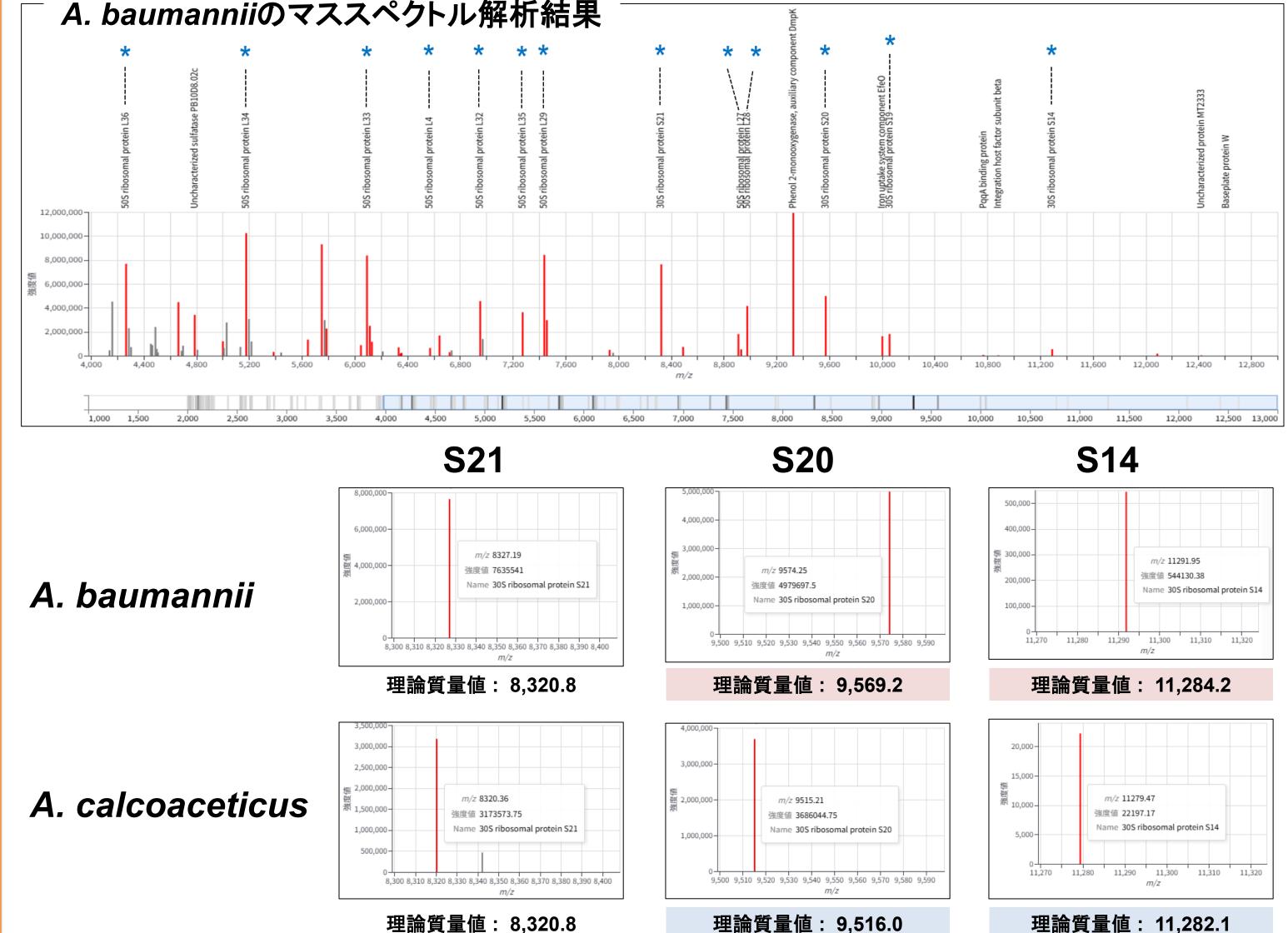
培養と測定の条件

- 培養: Heart Infusion Agar培地を用いて30°C/20時間
- 試料調製:ギ酸処理した試料菌体とマトリックス溶液(CHCA)
- 測定: AXIMA PerformanceTMのLinear Positiveモードを用いてm/z 2,000~20,000の範囲

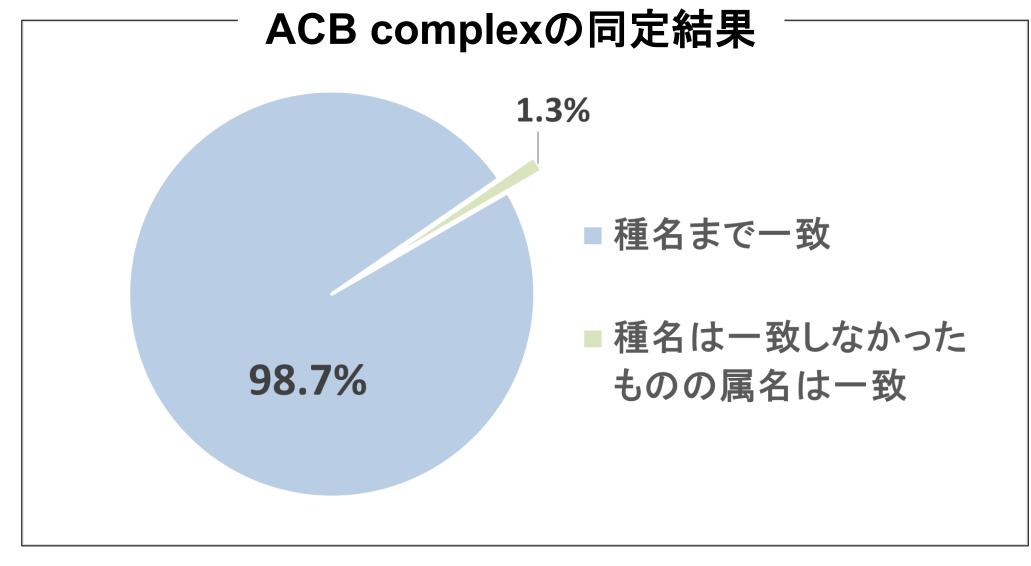
実験方法

- パラメータ(ノイズ除去のための閾値)はデフォルト値
- MicrobialTrack搭載の2種類のデータベースで 同一データを解析
- 2つの解析結果(第1候補の菌種名)が結果の信頼度 (4段階で表示される)を含めて一致するものを抽出
- マススペクトル解析結果の確認および同定結果の 集計を実施

MicrobialTrackによるACB complexの同定実験



- ・ 主要ピークは理論タンパク質と一致し、<u>約半分はリボソームタンパク質(*)</u> 4菌種(基準株)のマススペクトルでは、
 - S21の理論質量値は共通
 - S20の理論質量値はA. baumanniiとA. nosocomialisで共通し、 A. calcoaceticusとA. pittiiはそれぞれ特有
 - S14の理論質量値はA. nosocomialisとA. pittiiで共通し、 A. baumanniiとA. calcoaceticusはそれぞれ特有



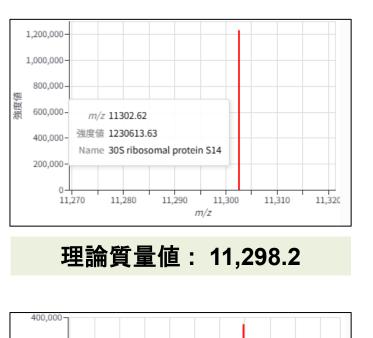
• 抽出された合計159データにおいて、<u>最も高い信頼度で結果が得られた156</u> データは、カルチャーコレクション等で表示される学名と98.7%一致 残り3データは信頼度が低い結果

A. nosocomialis



4,000,000-想 3,000,000-2,000,000 1,000,000 理論質量值: 9,569.2 12,000,000-

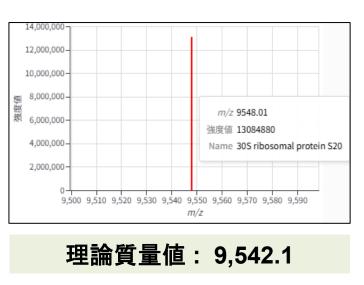
5,000,000

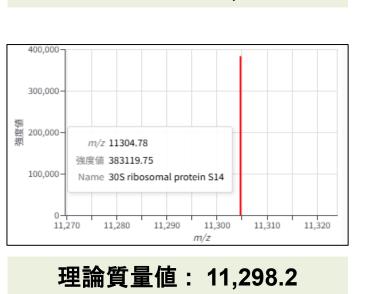




A. pittii 強度値 11748518 4,000,000-2,000,000 理論質量値: 8,320.8

10,000,000-





考察

- MicrobialTrackにおいては、<u>菌株を特徴付けるリボソームタンパク質</u>を 多数検出することが正しい同定に重要
- 2種類のデータベースと解析結果の信頼度を活用することで、 より高品質なデータを選別可能

まとめ

MicrobialTrackは、<u>タンパク質の理論質量を基にした新たな同定技術</u>により、 これまで同定が困難とされてきた微生物群の高精度な同定に有効

[Reference]

Nithichanon A, et al. "Acinetobacter nosocomialis Causes as Severe Disease as Acinetobacter baumannii in Northeast Thailand: Underestimated Role of A. nosocomialis in Infection" Microbiol Spectr 10:e02836-22. (2022). 2. Sekiguchi Y., et al. "A large-scale genomically predicted protein mass database enables rapid and broad-spectrum identification of bacterial and archaeal isolates by mass spectrometry" Genome Biol 24, 257 (2023).