

講演番号：1C3a05

講演日時：3月24日 09:44～ 1号館 C3会場

ヒトの皮膚常在菌 *Cutibacterium acnes* の MALDI-MS プロテオタイピング

MALDI-MS Proteotyping of Human Skin Bacteria *Cutibacterium acnes*

○寺本 華奈江、児嶋 浩一、山田 賢志、大久保 達樹、関谷 禎規、岩本 慎一、田中 耕一（株）島津製作所）

○Kanae TERAMOTO, Koichi KOJIMA, Yoshihiro YAMADA, Tatsuki OKUBO, Sadanori SEKIYA, Shinichi IWAMOTO, Koichi TANAKA (Shimadzu Co.)

【緒言】 *Cutibacterium acnes* は、通性嫌気性のグラム陽性細菌で、資化性や形態学的特徴などに基づき Type I, II, および III の3つのタイプに分けられている。近年では MLST など DNA の塩基配列解析に基づく分類法が検討されており、phyloptype の分類法が短期間にいくつも提案されている。さらに、MALDI-MS など質量分析による分類方法も検討され、数本の特徴的なピークを用いた指紋判定法によりタイプを分けられることが報告されている^{1, 2)}。しかし、この数本のピークを用いた指紋判定法では、phyloptype を完全に識別できないことが指摘されている。そこで本研究では、細菌の亜種あるいは株レベルの系統分類に利用できることが報告されているリボソームタンパク質を解析対象とした Proteotyping³⁾による *C. acnes* の分類を試みた。

【実験】 試験菌株として、MLST により5つの phyloptype (IA₁, IA₂, IB, II, および III) に分類された24株の *C. acnes* を用いた。ビーズ破碎と簡易な遠心分離により得たタンパク質画分とマトリックス試薬を用いて試料マトリックス混合結晶を調製した。 m/z 2000-30000 の範囲を MALDI-MS (AXIMA Performance™, 島津製作所製) により測定した。UniProtKB や GenBank などのタンパク質データベースに登録されている約90株の全ゲノム解読株のアミノ酸配列から計算した観測質量の理論値を用いて、Strain Solution™ (島津製作所製) によりマスペクトルを解析した。バイオマーカーピークの選択には統計解析ソフト eMSTAT Solution™ (島津製作所製) を用いた。全試料菌株について、Strain Solution™ を用いて各試料菌株のマスペクトルをクラスター解析し、デンドログラムを作成した。

【結果】 ビーズ破碎した *C. acnes* の全ゲノム解読株では、約35種類のリボソームタンパク質に関連するピークが観測された。本研究で用いた24菌株では、13種類のリボソームタンパク質が共通して観測され、それらのうち5種類が同種内でアミノ酸配列の変異を反映したピークシフトが認められた。クラスター解析により、本研究で用いた24株は5つに分類され、それらは MLST による phyloptype と一致した。また、本研究では phyloptype IC の菌株を入手できなかったが、タンパク質 DB のアミノ酸配列から、本研究で用いたバイオマーカーで分類できることを確認した。遺伝子の翻訳産物を分析する本分析法は、遺伝子の塩基配列とは異なる特徴をもつ優れた手法であると考えられた。

【参考文献】 1) Dekio I. *et al.*, *J. Med. Microbiol.*, **61**, 622-630 (2012). 2) Nagy E. *et al.*, *Anaerobe*, **20**, 20-26 (2013). 3) Teramoto K. *et al.*, *Anal. Chem.*, **79**, 8712-8719 (2007).

MALDI-MS Proteotyping, Phyloptype, *Cutuibacterium acnes*

発表責任者：寺本華奈江 (t_kanae@shimadzu.co.jp)