

©東成臣¹⁾阿部教行²⁾大野裕貴²⁾福田砂織²⁾河野久²⁾嶋田昌司²⁾松尾収二²⁾
天理医療大学 医療学部 臨床検査学科¹⁾ 公益財団法人 天理よろづ相談所病院 臨床検査部²⁾

【目的】質量分析計である MALDI-TOF MS の糸状菌測定において効率の高い蛋白質抽出法を確立すべく検討した。

【対象と使用機器】当院にて過去 2 年間に分離された *Aspergillus fumigatus* 6 株を対象とした。リファレンス株は *A. fumigatus* ATCC 204305 を用いた。機器は MALDI Biotyper (Bruker 社) を使用した。

【方法】①蛋白質の抽出：液体培養で得られた菌体を次の A～E の 5 つの方法で処理した。A 法：ビーズ法、B 法：液体窒素法、C 法：液体窒素＋ビーズ法、D 法：BioMasher 法および E 法：エタノール・ギ酸法とした。A～D 法はエタノール処理後、ビーズないし BioMasher による破碎を行った。B 法、C 法は破碎前に液体窒素で凍結した。②蛋白質抽出効率の比較：MALDI Biotyper のライブラリーに登録されている 12 株の *A. fumigatus* に認めるピーク (m/z) を検索し、中央値±400 ppm の範囲内に 10 株以上含まれた 13 種類のピークを共通ピークと定義した。対象の株を 3 重測定し、13 種類の共通ピークの内 3 回全てにおいて認めたピークの出現率を比較した。

【結果および考察】共通ピークは 3000～7700 m/z に集中しており、特に 5194.23 m/z は B 法で高率に出現した。このことから、液体窒素を用いることにより抽出効率が高くな

ることが示唆された。次に、各種前処理法における対象株の共通ピークの出現率の平均値(%)は高い順に B 法 62%、E 法 57%、C 法 48%、D 法 47%および A 法 42%で液体窒素法が最も高い結果となった。これは液体窒素による急速冷凍が細胞壁の破碎を容易にしたことによるものと示唆された。しかし、B 法に比べ E 法の出現率が高い株を認めたため、液体窒素法とエタノール・ギ酸法を組み合わせることでピークの出現効率が高くなり、菌種同定の確率が高まると考えられた。

【結語】液体窒素を用いることで *A. fumigatus* の蛋白質を効率よく抽出できた。

連絡先：天理よろづ相談所病院 0743-63-5611