

# S10-GERMS法による簡便・迅速微生物同定システム

## MALDI-TOF MSによる菌種同定(種レベル): AXIMA微生物同定システム(島津製作所)

ステップ1: サンプル調製

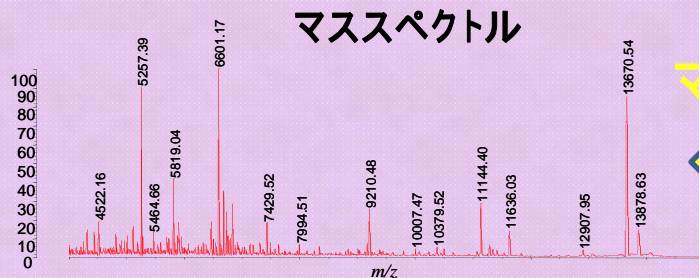
(マトリックス試薬溶液と菌コロニーを混ぜてサンプルプレートにのせるだけ)

ステップ2: MALDI-TOFマスペクトル測定(自動測定)

ステップ3: マスフィンガープリンティングによる種同定(自動データベース検索)

## S10-GERMS法

## ステップ4: リボソームタンパク質データベースによる株レベルの識別



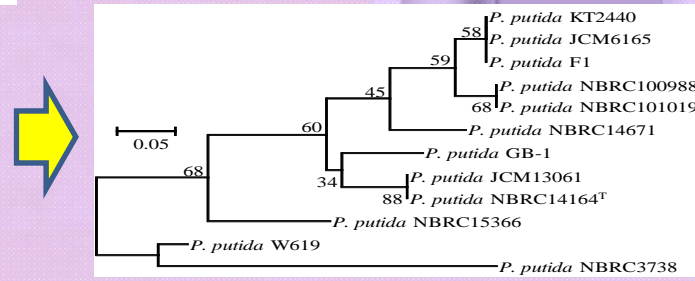
マッチング

## リボソームタンパク質データベース

Accession	Protein	Mass	Charge	Score	Identified
1.01	22472.69	22472.69	22472.69	22472.69	22472.69
1.02	22473.70	22473.70	22473.70	22473.70	22473.70
1.03	22474.71	22474.71	22474.71	22474.71	22474.71
1.04	22475.72	22475.72	22475.72	22475.72	22475.72
1.05	22476.73	22476.73	22476.73	22476.73	22476.73
1.06	22477.74	22477.74	22477.74	22477.74	22477.74
1.07	22478.75	22478.75	22478.75	22478.75	22478.75
1.08	22479.76	22479.76	22479.76	22479.76	22479.76
1.09	22480.77	22480.77	22480.77	22480.77	22480.77
1.10	22481.78	22481.78	22481.78	22481.78	22481.78
1.11	22482.79	22482.79	22482.79	22482.79	22482.79
1.12	22483.80	22483.80	22483.80	22483.80	22483.80
1.13	22484.81	22484.81	22484.81	22484.81	22484.81
1.14	22485.82	22485.82	22485.82	22485.82	22485.82
1.15	22486.83	22486.83	22486.83	22486.83	22486.83
1.16	22487.84	22487.84	22487.84	22487.84	22487.84
1.17	22488.85	22488.85	22488.85	22488.85	22488.85
1.18	22489.86	22489.86	22489.86	22489.86	22489.86
1.19	22490.87	22490.87	22490.87	22490.87	22490.87
1.20	22491.88	22491.88	22491.88	22491.88	22491.88
1.21	22492.89	22492.89	22492.89	22492.89	22492.89
1.22	22493.90	22493.90	22493.90	22493.90	22493.90
1.23	22494.91	22494.91	22494.91	22494.91	22494.91
1.24	22495.92	22495.92	22495.92	22495.92	22495.92
1.25	22496.93	22496.93	22496.93	22496.93	22496.93
1.26	22497.94	22497.94	22497.94	22497.94	22497.94
1.27	22498.95	22498.95	22498.95	22498.95	22498.95
1.28	22499.96	22499.96	22499.96	22499.96	22499.96
1.29	22500.97	22500.97	22500.97	22500.97	22500.97
1.30	22501.98	22501.98	22501.98	22501.98	22501.98
1.31	22502.99	22502.99	22502.99	22502.99	22502.99
1.32	22503.00	22503.00	22503.00	22503.00	22503.00
1.33	22504.01	22504.01	22504.01	22504.01	22504.01
1.34	22505.02	22505.02	22505.02	22505.02	22505.02
1.35	22506.03	22506.03	22506.03	22506.03	22506.03
1.36	22507.04	22507.04	22507.04	22507.04	22507.04
1.37	22508.05	22508.05	22508.05	22508.05	22508.05
1.38	22509.06	22509.06	22509.06	22509.06	22509.06
1.39	22510.07	22510.07	22510.07	22510.07	22510.07
1.40	22511.08	22511.08	22511.08	22511.08	22511.08
1.41	22512.09	22512.09	22512.09	22512.09	22512.09
1.42	22513.10	22513.10	22513.10	22513.10	22513.10
1.43	22514.11	22514.11	22514.11	22514.11	22514.11
1.44	22515.12	22515.12	22515.12	22515.12	22515.12
1.45	22516.13	22516.13	22516.13	22516.13	22516.13
1.46	22517.14	22517.14	22517.14	22517.14	22517.14
1.47	22518.15	22518.15	22518.15	22518.15	22518.15
1.48	22519.16	22519.16	22519.16	22519.16	22519.16
1.49	22520.17	22520.17	22520.17	22520.17	22520.17
1.50	22521.18	22521.18	22521.18	22521.18	22521.18
1.51	22522.19	22522.19	22522.19	22522.19	22522.19
1.52	22523.20	22523.20	22523.20	22523.20	22523.20
1.53	22524.21	22524.21	22524.21	22524.21	22524.21
1.54	22525.22	22525.22	22525.22	22525.22	22525.22
1.55	22526.23	22526.23	22526.23	22526.23	22526.23
1.56	22527.24	22527.24	22527.24	22527.24	22527.24
1.57	22528.25	22528.25	22528.25	22528.25	22528.25
1.58	22529.26	22529.26	22529.26	22529.26	22529.26
1.59	22530.27	22530.27	22530.27	22530.27	22530.27
1.60	22531.28	22531.28	22531.28	22531.28	22531.28
1.61	22532.29	22532.29	22532.29	22532.29	22532.29
1.62	22533.30	22533.30	22533.30	22533.30	22533.30
1.63	22534.31	22534.31	22534.31	22534.31	22534.31
1.64	22535.32	22535.32	22535.32	22535.32	22535.32
1.65	22536.33	22536.33	22536.33	22536.33	22536.33
1.66	22537.34	22537.34	22537.34	22537.34	22537.34
1.67	22538.35	22538.35	22538.35	22538.35	22538.35
1.68	22539.36	22539.36	22539.36	22539.36	22539.36
1.69	22540.37	22540.37	22540.37	22540.37	22540.37
1.70	22541.38	22541.38	22541.38	22541.38	22541.38
1.71	22542.39	22542.39	22542.39	22542.39	22542.39
1.72	22543.40	22543.40	22543.40	22543.40	22543.40
1.73	22544.41	22544.41	22544.41	22544.41	22544.41
1.74	22545.42	22545.42	22545.42	22545.42	22545.42
1.75	22546.43	22546.43	22546.43	22546.43	22546.43
1.76	22547.44	22547.44	22547.44	22547.44	22547.44
1.77	22548.45	22548.45	22548.45	22548.45	22548.45
1.78	22549.46	22549.46	22549.46	22549.46	22549.46
1.79	22550.47	22550.47	22550.47	22550.47	22550.47
1.80	22551.48	22551.48	22551.48	22551.48	22551.48
1.81	22552.49	22552.49	22552.49	22552.49	22552.49
1.82	22553.50	22553.50	22553.50	22553.50	22553.50
1.83	22554.51	22554.51	22554.51	22554.51	22554.51
1.84	22555.52	22555.52	22555.52	22555.52	22555.52
1.85	22556.53	22556.53	22556.53	22556.53	22556.53
1.86	22557.54	22557.54	22557.54	22557.54	22557.54
1.87	22558.55	22558.55	22558.55	22558.55	22558.55
1.88	22559.56	22559.56	22559.56	22559.56	22559.56
1.89	22560.57	22560.57	22560.57	22560.57	22560.57
1.90	22561.58	22561.58	22561.58	22561.58	22561.58
1.91	22562.59	22562.59	22562.59	22562.59	22562.59
1.92	22563.60	22563.60	22563.60	22563.60	22563.60
1.93	22564.61	22564.61	22564.61	22564.61	22564.61
1.94	22565.62	22565.62	22565.62	22565.62	22565.62
1.95	22566.63	22566.63	22566.63	22566.63	22566.63
1.96	22567.64	22567.64	22567.64	22567.64	22567.64
1.97	22568.65	22568.65	22568.65	22568.65	22568.65
1.98	22569.66	22569.66	22569.66	22569.66	22569.66
1.99	22570.67	22570.67	22570.67	22570.67	22570.67
2.00	22571.68	22571.68	22571.68	22571.68	22571.68

## ステップ5: 系統解析(プロファイルマッチング法)

Strain name	Reference peaks													
	L36	L30	L29	S17	S19	L23	S14	L24	S10	L22	L18	S13	S11	S08
KT2440	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
FI	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
JCM 6165	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
NBRC 100988	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
NBRC 101019	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
NBRC 14671	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1
JCM 13061	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
NBRC 14164 <sup>T</sup>	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
GB-1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1
NBRC 15366	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1
W619	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0
NBRC 3738	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0



特願「細胞識別装置及びプログラム」(島津製作所および名城大学の共同出願)

# 結果：S10-GERMS法による*Lactobacillus*属の同定

Table 1. *Lactobacillus*属Type strainのリボソームタンパク質データベース

	<i>Lb. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	<i>Lb. paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	<i>Lb. casei</i>	<i>Lb. zaeae</i>	<i>Lb. paracasei</i> subsp. <i>rhamnosus</i>	<i>Lb. gasseri</i>	<i>Lb. johnsonii</i>
	JCM 8130 <sup>T</sup>	JCM 1171 <sup>T</sup>	NBRC 15883 <sup>T</sup>	JCM11302 <sup>T</sup>	JCM 1136 <sup>T</sup>	JCM 1131 <sup>T</sup>	JCM 2012 <sup>T</sup>
L36	4449.49	4449.49	4449.49	4449.49	4449.49	4413.42	4413.42
L30	6618.76	6618.76	6661.79	6661.79	6661.79	6497.85	6497.85
S14	6992.34	6992.34	6992.34	6992.34	7006.41	7029.28	7029.28
L29	7479.71	7479.71	7578.85	7578.85	7578.85	7737.99	7737.99
S17	10071.73	10071.73	9985.52	9985.52	9985.52	10383.92	10383.92
S19	10446.96	10446.96	10446.96	10446.96	10446.96	10496.15	10496.15
L24	11231.09	11203.04	11231.09	11231.09	11247.13	8438.81	8468.83
L23	11561.44	11589.5	11564.36	11564.36	11533.35	11349.1	11363.12
L22	12599.45	12599.45	12599.45	12599.45	12599.45	12640.57	12640.57
L18	13001.81	13001.81	13015.79	13015.79	13015.79	13117.97	13132
S13	13360.53	13360.53	13426.58	13412.56	13426.58	12999.93	12999.93
S11	13641.62	13641.62	13641.62	13641.62	13641.62	13489.55	13489.55
S08	14644.04	14644.04	14676.1	14676.1	14644.04	14510.74	14524.77

*S10-spc-alpha* オペロンの配列決定により、  
リボソームタンパク質のデータベースを構築した。

# 結果：S10-GERMS法による*L. b. paracasei*の識別

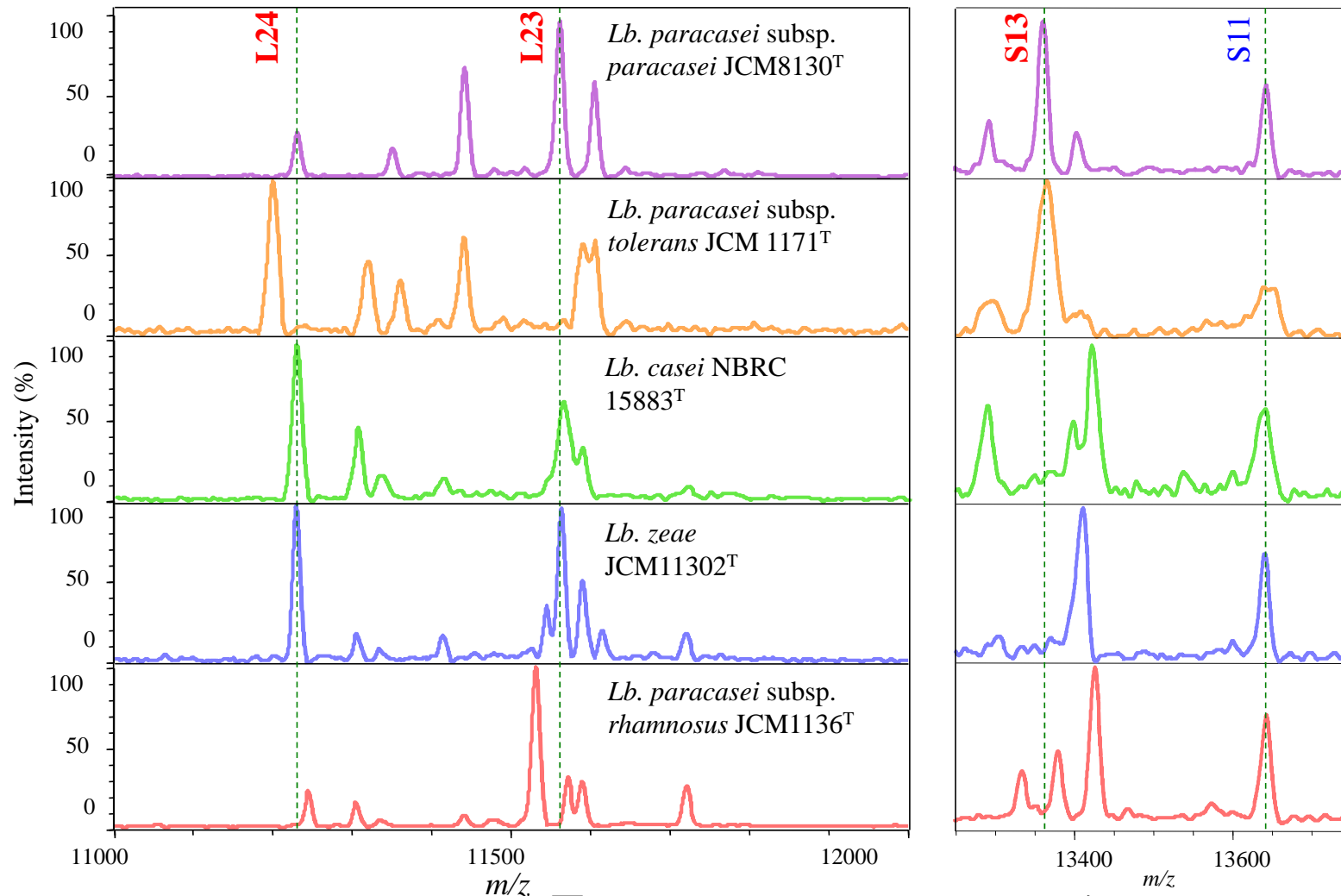
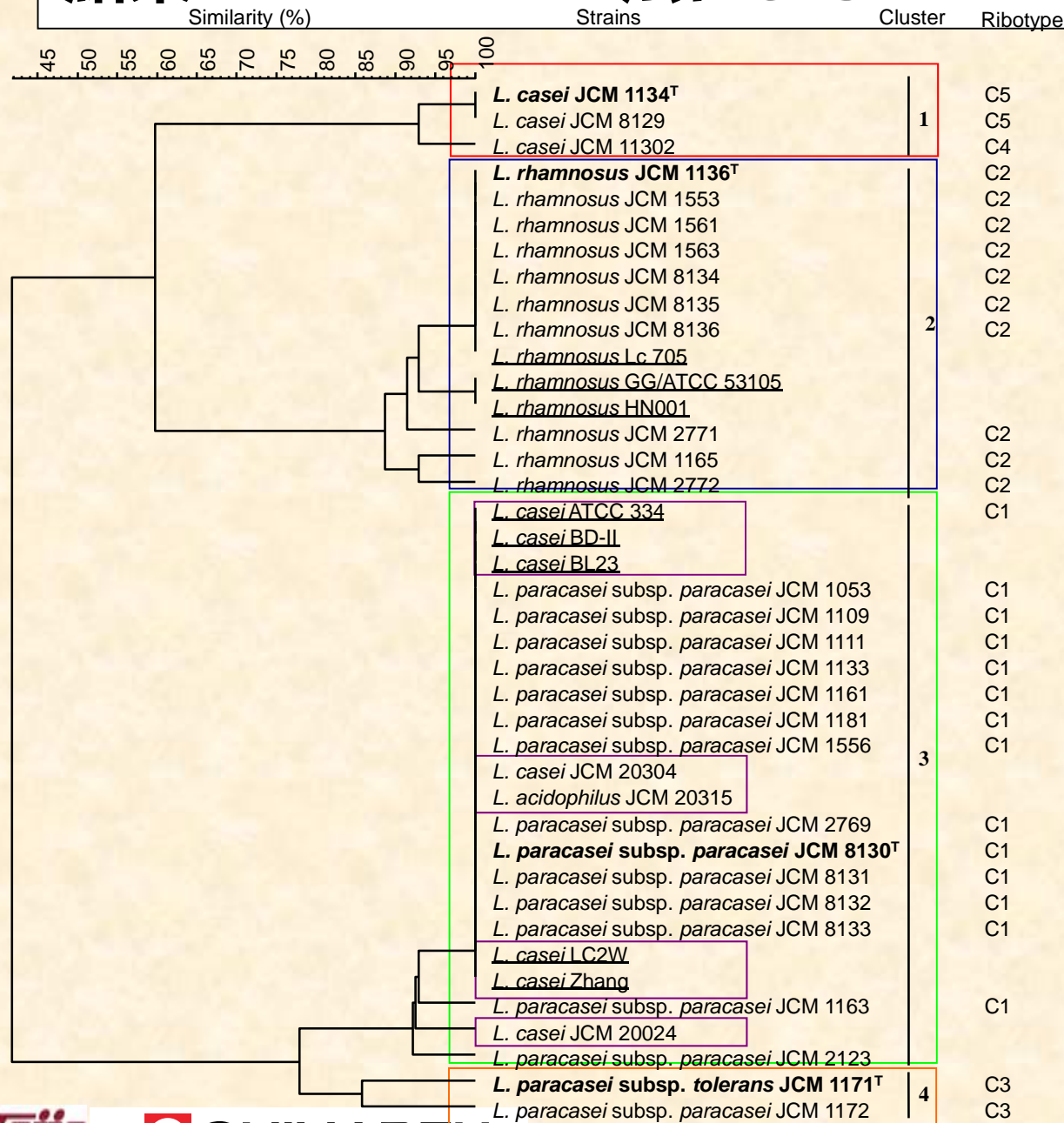


Fig. 3. *Lactobacillus* 属 Type strain の MALDI マススペクトル

S10-GERMS法：*L. b. paracasei*は、L23, L24およびS13の違いにより亜種レベルの識別が可能



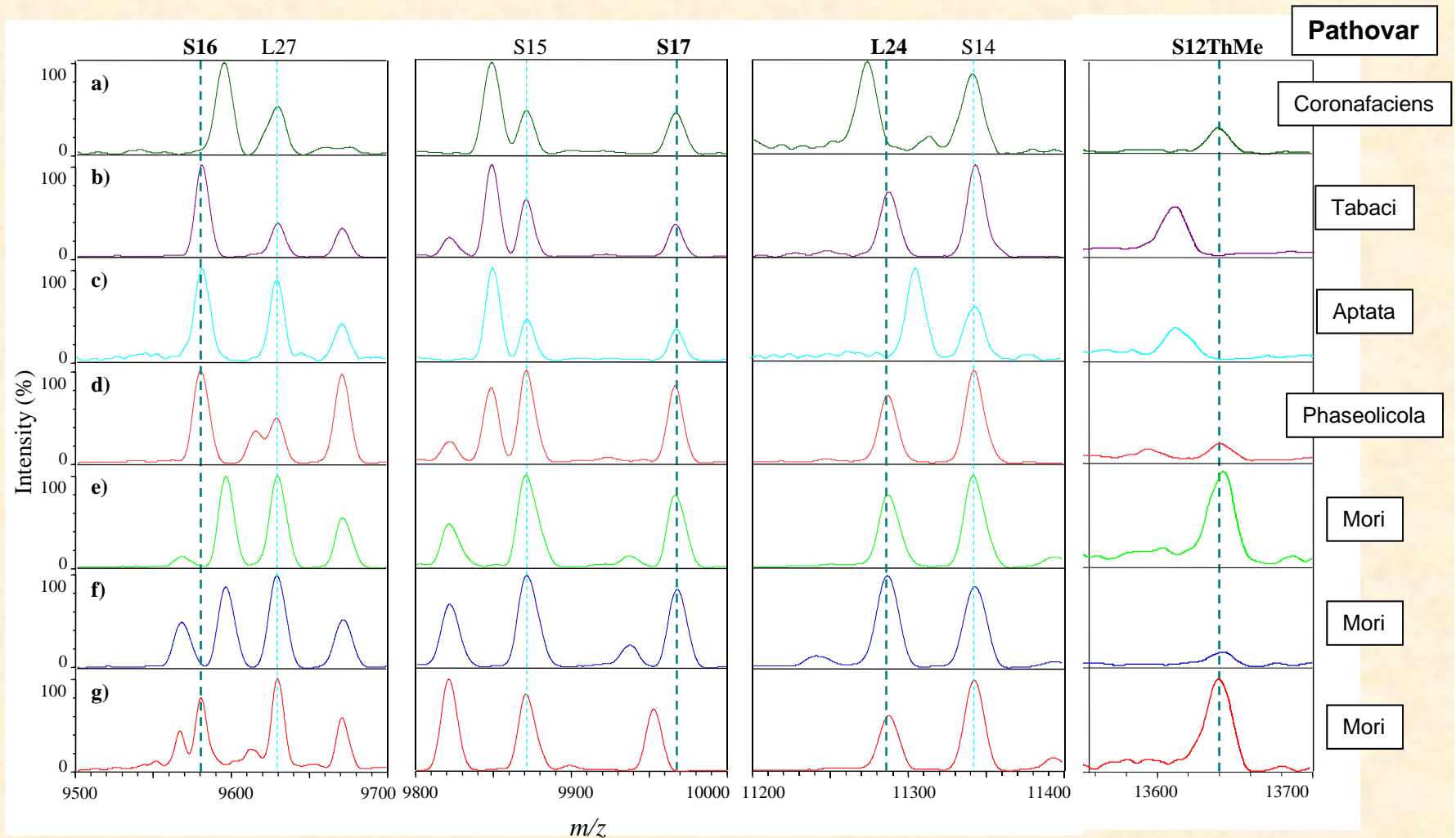
# 結果：S10-GERMS法による*L.b. casei* groupの識別



## S10-GERMS法：

- “ancient strains” 等の、正確な系統分類による再定義。
- スターターなど保有菌株の管理への展開

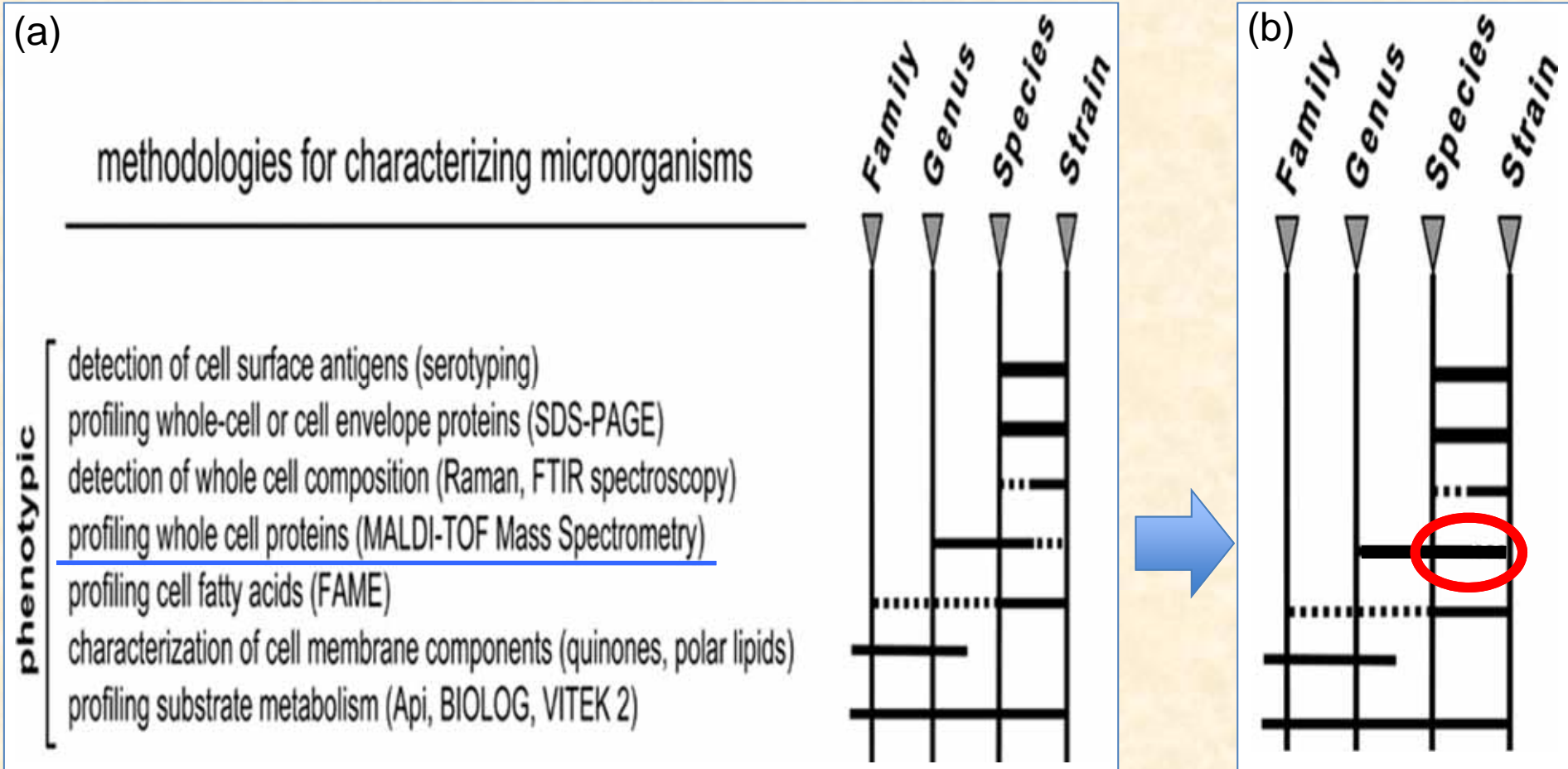
# 結果：S10-GERMS法による*P. syringae*の株識別



*P. syringae*: NBRC 3310 (a), NBRC 3508 (b), NBRC 12655 (c), NBRC 12656 (d), NBRC 14053 (e), NBRC 14083 (f), and NBRC 14084 (g).

**S10-GERMS法：植物病原菌*P. syringae*に選択的なバイオマーカーを用いた株 (pathovar) 識別の試み**

# S10-GERMS method goes bacterial identification into Next Generation



M. Welker, E.R.B. Moore, *Syst. Appl. Microbiol.* **34**, 2–11, 2011

**S10-GERMS**