

## 奨 励 賞

寺本華奈江 氏 [日本電子株式会社, 博士(工学)]



### [業績] MALDI-MS による細菌の迅速同定および分類手法の開発

寺本華奈江氏は、1999 年名城大学農学部農芸化学科を卒業、2001 年同大学大学院農学研究科（農学専攻）修士課程を修了、太陽化学株式会社総合研究所を経て、2005 年 1 月より独立行政法人産業技術総合研究所環境管理技術研究部門に勤務、その後、2007 年 11 月に日本電子株式会社に入社し（開発本部勤務）、現在に至っている。その間、2008 年 6 月に、名古屋工業大学において博士号（工学）を取得した。

寺本氏は、産業技術総合研究所に異動後、現在に至るまで、一貫して質量分析の応用研究に携わってきており、特に細菌を迅速かつ正確に同定・分類する簡便な分析手法の開発においては顕著な業績を有する。すなわち、MALDI-MS を用いて、生物の細胞に普遍的かつ多量に存在するリボソームタンパク質群を指標とした、斬新かつ実用的な細菌同定・分類技術の開発を行った。氏の開発した技術は、特定の遺伝子の塩基配列解析に依存している今日の細菌の系統分類法に対して一石を投じるものであり、迅速・簡便であると同時に高い信頼性が要求される実際の細菌検査への適用も期待されている。以下に氏の業績について、その概要を述べる。

#### (1) リボソームタンパク質を用いた細菌種の迅速同定法の開発

リボソームには 50 種類以上のサブユニットタンパク質が含まれる。本手法は、塩基配列の翻訳によって得られたアミノ酸配列情報からなるタンパク質データベースを用いて個々のサブユニットタンパク質の質量を予測し、それらとリボソームタンパク質群のマスマスペクトル上に実際に観測されるピークを比較して、細菌種を迅速に同定するものである。手法の概念は米国の研究者らによって提案されていたが、実際の細菌分析にどの程度適用できるかは検証されていなかった。そこで、まず、タンパク質データベース上のアミノ酸配列情報がおおむね正確であることを確認するために、ゲノム解読された乳酸菌をモデルとして用い、プロテオーム解析の手法により、各リボソームタンパク質の発現を調べる研究に携わった [7]。この成果を元に、寺本氏は、同一種内で複数株のゲノム塩基配列が解読されている細菌について解析、マスマスペクトルおよび翻訳アミノ酸配列情報を比較しながらタンパク質データベースの登録情報を詳細に検証し、配列の誤りを修正するとともに、アミノ酸配列に変異が起こるリボソームタンパク質を明らかにする手法を提案した [2]。この研究過程で、菌体破砕液を精製しないでリボソームタンパク質のピークを明確に観測できることを明らかにし、極めて簡便な測定法を開発した。さらに、ゲノム解読された 8 種の乳酸菌の菌体破砕液を MALDI-MS で測定、ピークが帰属されたリボソームタンパク質の種類を比較し、高い信頼性で同定を行うためのマーカータンパク質を選択するための指針を提案した [5]。これらの成果をもとに、実際に研究室で保存している乳酸菌試料のコンタミネーションを判定、本法が保存菌株管理に応用できることを実証した [1]。本法は、実際に清酒醸造所で発生した火落ち菌の迅速同定にも応用された [8]。

#### (2) 細菌の株レベルでの分子系統分類法の開発

寺本氏は、上記の研究を通じて、同種であっても菌株の違いによって、一部のリボソームタンパク質のアミノ酸配列がわずかに変異しており、それによる質量変異をマスマスペクトル上で明確なピークシフトとして検出できることに着目した。そして、各リボソームタンパク質に対して観測される質量変異の有無をもとに系統樹を作成する方法を考案した。実際に土壌微生物の株レベルでの分類を試み、得られた結果が従来の遺伝子解析法に基づく分子系統分類の結果と極めてよく一致することを明らかにした [3]。本法による分類は、リボソームタンパク質の分子進化により生じたアミノ酸配列の変異に基づくものである。微生物の分子進化に基づく分類法である「分子系統分類」を、DNA 塩基配列解析を行わずに質量分析法で達成できることを初めて実証した点において極めて意義深い。この研究成果の ASMS での発表に際しては、本会 BMS 研究会より、2007 年度 BMS トラベルアワードが授与されている。本法を、低温増殖性乳酸菌の迅速同定および株レ

ベルでの分類に適用し、本法が有用微生物のスクリーニングに対して有効な手法になりうることを示した [4]. また、共同研究者らとともに、化学物質分解菌のスクリーニングにも応用した [9]. さらに、ゲノム解読されていない微生物に対しても本法の適用範囲を拡張することを試み、参照株の精製リボソームタンパク質のマスマスペクトルを指標として、特徴的な抗菌活性を有する放線菌の株レベルでの分類を行った [6]. これは、現在の遺伝子解析法のみでは信頼性を確保した分類ができないほど類縁性の高いバクテリア群を、リボソームタンパク質の質量変異という明確な根拠に基づいて分類できることを示したもので、本手法の分類解像度の高さを実証した。

以上のように、寺本華奈江氏は、遺伝子の塩基配列解析に依存した従来のバクテリア同定・分類手法に対してさまざまな優位性をもった、MALDI-MS を用いた独創的な解析方法論を提案し、バクテリア分析の分野において質量分析法の有効性を拡張している。その研究成果は、総説・解説 [10~12] にまとめられているほか、微生物に関する他学会からも注目されている。現在は、超高分解能測定を可能にするらせん軌道型 MALDI-TOFMS (MALDI Spiral-TOFMS) の開発にも携わり、これを用いたバクテリア脂質の精密な組成解析を行って、リボソームタンパク質と脂質の両者を指標とした新しい分類法の開発にも精力的に取り組んでいる。その業績より、寺本華奈江氏は質量分析の発展に大きく寄与するものと期待され、日本質量分析学会奨励賞にふさわしいと認められた。

#### 【受賞対象となった業績（原著論文）】

- 1: 寺本華奈江, 佐藤浩昭, 孫 麗偉, 鳥村政基, 田尾博明, “マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法による微生物の迅速識別法と微生物管理の試み”, *分析化学*, **55**, 987-922 (2006).
- 2: K. Teramoto, H. Sato, L. Sun, M. Torimura, and H. Tao, “A simple intact protein analysis by MALDI-MS for characterization of ribosomal proteins of two genome-sequenced lactic acid bacteria and verification of their amino acid sequences,” *J. Proteome Res.*, **6**, 3899-3907 (2007).
- 3: K. Teramoto, H. Sato, L. Sun, M. Torimura, H. Tao, H. Yoshikawa, Y. Hotta, A. Hosoda, and H. Tamura, “Phylogenetic classification of *Pseudomonas putida* strains by MALDI-MS using ribosomal subunit proteins as biomarkers,” *Anal. Chem.*, **79**, 8712-8719 (2007).
- 4: 寺本華奈江, 佐藤浩昭, 孫 麗偉, 鳥村政基, 田尾博明, 和栗伸伍, 林 利哉, 芳賀聖一, “マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法による低温増殖性乳酸菌の迅速同定及び分類”, *分析化学*, **56**, 1063-1070 (2007).
- 5: 寺本華奈江, 孫 麗偉, 佐藤浩昭, 鳥村政基, 田尾博明, 新谷智吉, “マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法による乳酸菌ゲノム解読株のリボソームタンパク質の比較解析”, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **56**, 1-11 (2008).
- 6: K. Teramoto, H. Sato, H. Tao, W. Kitagawa, and T. Tamura, “Phylogenetic analysis of *Rhodococcus erythropolis* based on the variation of ribosomal proteins as observed by matrix-assisted laser desorption ionization-mass spectrometry without using genome information,” *J. Biosci. Bioeng.*, **108**, 348-353 (2009).

#### 【その他、関連した業績（原著論文・総説等）】

- 7: L. Sun, K. Teramoto, H. Sato, M. Torimura, H. Tao, and T. Shintani, “Characterization of ribosomal proteins as biomarkers for matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectral identification of *Lactobacillus plantarum*,” *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **20**, 3789-3798 (2006).
- 8: 孫 麗偉, 寺本華奈江, 佐藤浩昭, 鳥村政基, 田尾博明, “マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法による火落ち菌の迅速同定”, *分析化学*, **56**, 1071-1079 (2007).
- 9: Y. Ichiki, N. Ishizawa, H. Tamura, K. Teramoto, H. Sato, and H. Yoshikawa, “Environmental distribution and novel high-throughput screening of APEO-degrading bacteria using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-MS),” *J. Pestic. Sci.*, **33**, 122-127 (2008).
- 10: 寺本華奈江, 佐藤浩昭, 孫 麗偉, 鳥村政基, 田尾博明, “リボソームタンパク質をバイオマーカーとしたマトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析によるバクテリアの迅速分類同定”, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **55**, 209-216 (2007).
- 11: 寺本華奈江, 佐藤浩昭, “質量分析法によるバクテリアの迅速同定・分類法の進歩”, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **56**, 83-90 (2008).
- 12: 寺本華奈江, 佐藤浩昭, “質量分析法によるバクテリアの分子系統分類法の開発”, *化学と生物*, **46**, 819-821 (2008).