

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：33919

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H00415

研究課題名（和文）バイオマーカを可視化した質量分析による皮膚マイクロバイオーーム株レベル識別法確立

研究課題名（英文）Discrimination of skin microbiome at strain level by visualization of biomarkers using MALDI-TOF MS

研究代表者

田村 廣人（Tamura, Hiroto）

名城大学・農学部・教授

研究者番号：90267972

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 33,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は指標タンパク質の質量の違いにより細菌を同定・識別するS10-GERMS法を発展・進化させ、皮膚細菌叢のStaphylococcus 属細菌の6種を対象とし、単離せず混合菌の状態ですべて迅速・簡便に同定する信頼性のある識別法の確立を目的とした。その結果マトリックス剤をシナピン酸としたプレコーティング法にてバイオマーカを再現性良く100%検出できた。次に、臨床単離株33株を用いて分析した結果、選択したバイオマーカにて首尾よくStaphylococcus属細菌6種を同定できた。さらに、バイオマーカを可視化するソフトを検証した結果、混合菌の混合比率は不正確であったが、目的とする構成菌は識別できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒト皮膚マイクロバイオーームの解析はNGSやMALDI-TOF MSフィンガープリント法では株レベル識別が困難であり、菌叢解析の技術的制約から臨床的な視点での病態解明に十分アプローチできていない。本研究は皮膚マイクロバイオーームの構成菌を単離せず混合菌の状態ですべて迅速・簡便に同定可能な信頼性のあるバイオマーカの探索と100%検出する手法を確立し、皮膚常在菌の種・亜種レベルでの解析の可能性を見出した。本成果は学術的独自性と創造性に優れており、国内外のヒトマイクロバイオーームのバランスを整える治療へ甚大なインパクトを与えるのみならず、食品産業および環境分野等へも応用可能であり、社会的意義が高い。

研究成果の概要（英文）：By further developing the S10-GERMS method which discriminates bacteria based on the difference in the mass (m/z) of the biomarker proteins, the aim of this research was to establish a simple, rapid and reliable discrimination method of the mixed bacteria in skin microbiome without isolating bacteria by visualizing the selected biomarkers of 6 species of Staphylococcus bacteria including *S. aureus*, *S. capitis*, *S. caprae*, *S. epidermidis*, *S. hominis* and *S. lugdunensis* using MALDI-TOF MS. As results, the precoating method using sinapinic acid as the matrix reagent detected the biomarkers at 100% detection rate with an adequate reproducibility. The isolated 33 bacterial strains from clinical environment were successfully identified by using the selected biomarkers. Furthermore, as a result of verifying the software for visualizing biomarkers, the target constituent bacteria could be determined in species level, though the mix ratio of the mixed bacteria was inaccurate.

研究分野：環境微生物学

キーワード：MALDI-TOF MS 微生物同定 皮膚マイクロバイオーーム プロテオタイピング S10-GERMS法

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

ヒト諸臓器の細菌叢 (マイクロバイーム) の解析は、16S rRNA 遺伝子を用いた非培養的・網羅的解析法が普及したことにより、2000 年代前半から飛躍的に進んでいる。当初から解析が最も進んできたのは腸内細菌叢であるが、皮膚マイクロバイームの解析も、それに数年遅れて、2005 年の研究分担者出来尾らの報告を皮切りに、健常人と疾患者の比較や、部位ごとの解析が多数報告されている。2000 年代後半の次世代シーケンサー (NGS) の普及により、属レベルの解析であれば細菌叢の精細な解析ができるようになった。この研究分野でのマイルストーンとなったのは、ヒト皮膚の 20 か所の詳細な細菌叢マッピング (Kong *et al.* *Trends Mol. Med.*, 2011) である。しかし、皮膚マイクロバイームの分野においても、多くの知見が集積されたにもかかわらず、菌叢解析の技術的制約から臨床的な視点での病態解明に十分アプローチできていないことが浮き彫りになってきた。例えば、先進国人口の 10-20% が罹患しているアトピー性皮膚炎 (AD) 患者においては、「悪玉菌」と考えられている黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) の保菌数は、健常人保菌者に比べ 10-1000 倍多い。しかし、皮膚を守る有益な常在菌と考えられているコアグラゼ陰性ブドウ球菌 (CNS) 群も AD 患者は、健常人保菌者に比べ 10-100 倍多い。つまり、AD のこの現象は、属レベルのマイクロバイームでは、説明しにくい病態である。

CNS 群には 8 種程度のブドウ球菌種が含まれており、CNS 群内の特定の菌種のみが AD 患部にて増加し、「悪玉菌」として黄色ブドウ球菌と同様の挙動を示している可能性がある。しかし、そのカギを握る CNS 群に含まれる菌種の解析は、次の 2 つの理由により十分に行われていない。

1) 培養法：選択培地を用いて黄色ブドウ球菌と CNS の区別は容易である。しかし、CNS 群内の種レベル解析は個別の菌株について糖分解などの代謝解析または 16S rRNA 遺伝子の解析を行う必要があり、時間がかかりかつ大量に行うことができない。

2) NGS を用いた非培養的・網羅的解析：16S rRNA 遺伝子のうち約 500 bp を用いた解析のため、種レベルの解析が困難である。種レベルの解析には、16S rRNA 遺伝子の全配列を用いたクローンライブラリー法が必須であり、解析に非常に手間がかかる (AD 患者皮膚における唯一の解析例：Kong *et al.*, *Genome Res.*, 2012)。

近年、質量分析計 (MALDI-TOF MS) を用いた細菌同定の研究が進み、臨床現場では菌株同定に広く用いられるようになった。しかし、この方法 (フィンガープリント法) による菌種同定の問題点は、観測される個別のピークの同定を行わずに、全体のピークパターンで同定を行っているため、得られたピークパターンが市販のデータベースと異なる時は同定結果が正確であるとはいえない。さらに、近縁種の同定も難しい場合がある。Xu らは、フィンガープリント法にて黄色ブドウ球菌とその近縁種 200 余株の樹状図を作成した。しかし、CNS 群を構成する *S. capitis* と *S. caprae* は、16S rRNA 遺伝子の相同性が 99% をわずかに越えている非常に近い種であるため、この樹状図には *S. caprae* が存在せず、*S. capitis* の枝に混在している可能性が高い。また、同じ CNS 群に含まれる *S. epidermidis* にはフィンガープリント法では同定が難しい亜種レベルタイプが 5 つ程度存在する。この様に、CNS 群の異なる種・亜種が同じ種に括られているが、CNS 群の異なる種・亜種がそれぞれ皮膚上で振る舞っている可能性がある。

つまり、Xu らのフィンガープリント法では、お互いに系統樹上で近接する異なる種を正しく見分けられているのか不明である。このことは、バイオマーカを特定しないフィンガープリント法には限界があり、近縁種を明確に識別できる新たなブレイクスルーが必要であることを示している。

## 2. 研究の目的

申請者らは、まさにこの CNS 群の皮膚マイクロバイームにおける構成を解明することが、AD

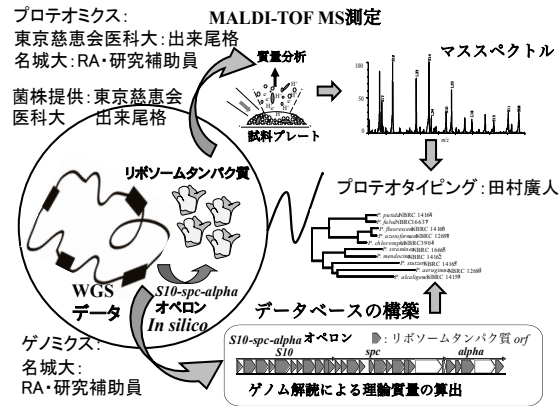
などの皮膚疾患の病態解明とその治療の鍵になると考えている。つまり、核心をなす学術的「問い」は、NGS では出来ない皮膚マイクロバイオーーム解明のための迅速・簡便かつ信頼性のある「株レベル識別法の確立」である。

そこで、本研究は、フィンガープリント法の限界を克服する、近縁種を明確に識別できる新たなブレイクスルーとして、何を=CNS 群の解析に必須の表皮ブドウ球菌等の皮膚マイクロバイオーーム構成菌を対象として、どのように=S10-GERMS 法を基盤とした高質量バイオマーカの同定により、どこまで=「皮膚マイクロバイオーーム構成菌を迅速・簡便かつ信頼性が高く識別できる手法の確立」を目的とした。

### 3. 研究の方法

本目的を達成するため、申請者らが確立した S10-GERMS (S10-*spc-alpha* operon Gene Encoded Ribosomal protein Mass Spectrum) 法を活用した。申請者らは、同じ番号のリボソームサブユニットタンパク質が種や株レベルでその質量が異なっていることを見出し、細菌を種および株レベルで識別するには、遺伝情報を反映しているリボソームサブユニットタンパク質が質量分析のバイオマーカとして有効であることを報告している。つまり、同一番号でも質量の違うリボソームサブユニットタンパク質を指標として種および株レベルで識別できることを明らかにした。

図 S10-GERMS法によるプロテオタイピングの研究手法と研究体制



この知見をもとに確立した学術的独自性の高い S10-GERMS 法は、細菌に共通に存在する S10-*spc-alpha* オペロンにコードされる約 25 個のリボソームサブユニットタンパク質のゲノム情報を活用し、理論質量を計算後、同一番号で質量の違うリボソームサブユニットタンパク質をバイオマーカとして選抜し、MALDI-TOF MS にてバイオマーカ質量の違いにより細菌を同定・識別するゲノミクスとプロテオミクスを融合させた独創

的な識別法 (プロテオタイピング) である (図)。

本研究では、野外分離株を含む供試菌 6 種 (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. caprae*, *S. hominis*, *S. lugdunensis*) を用い、以下の実験フローに従ってバイオマーカーを選定した。

#### 3.1 バイオマーカーの探索

**ステップ 1:** MALDI-TOF MS の測定は寒天培地上のシングルコロニーまたは液体培養液を遠心分離して得られた菌株を直接供試する WC-MS 法で行った (Whole Cell MALDI-TOF MS)。

**ステップ 2:** S10-*spc-alpha* オペロンの塩基配列解読のため、ゲノム解読株より得られる S10-*spc-alpha* オペロンの共通塩基配列情報よりプライマーを設計した。

**ステップ 3:** S10-*spc-alpha* オペロンの DNA 塩基配列を決定し、アミノ酸配列へ変換した。解読した塩基配列情報に対応するアミノ酸配列への変換は、EMBOSS Transeq ([www.ebi.ac.uk/Tools/emboss/transeq/index.html](http://www.ebi.ac.uk/Tools/emboss/transeq/index.html)) を用いた。

**ステップ 4:** 解読した供試菌株のリボソームサブユニットタンパク質のアミノ酸配列情報から計算した全ての理論質量値 (理論値) データベースを構築した。

アミノ酸配列情報に基づく理論値は、ExPASy proteomics server 中の Compute pI/Mw tool ([au.expasy.org/tools/pi\\_tool.html](http://au.expasy.org/tools/pi_tool.html)) を用いて算出した。

**ステップ5** : 算出した各リボソームサブユニットタンパク質の理論値は、MALDI-TOF MS の WC-MS 測定で帰属した各ピークの実測値 (ステップ1) と比較することにより精査した。特に、これまでの知見により、N-end rule (N-末端メチオニン残基の切断)、メチル化およびアセチル化などの翻訳後修飾ならびにアノテーションミスによる誤解読に留意し、正確な質量データベースを構築した。

**ステップ6** : ピーク検出感度や再現性を考慮し、表皮ブドウ球菌を含む供試菌の識別が可能なバイオマーカを申請者らが開発した統計解析ソフト eMSTAT™ を用いて主成分分析等により解析し、統計学的にも有意なバイオマーカをそれぞれ選択した。

**ステップ7** : 確定したバイオマーカは、申請者らが開発した Strain Solution™ を用いて構築する質量特性の違いによるデータ表をもとに識別 (プロテオタイピング) した。

さらに、選定したバイオマーカの可視化と定量化を目的とした外部委託して作成したソフトは供試菌 (*S. aureus* と *S. epidermidis*) を用いて検証した。

3.2 **質量分析** : MALDI-TOF MS 質量分析は島津製作所 AXIMA Performance を用いた。サンプル調製はエタノール・ギ酸抽出法を適用した。つまり、16 時間培養した *Staphylococcus* 属各菌株、コロニー10 個相当 (直径約 1 mm) を 200  $\mu$ L の dH<sub>2</sub>O に懸濁し、600  $\mu$ L の 99.5%エタノールと混合した。遠心後 (10,000 rpm, 4 °C for 2 min) 上清を完全に除き、遠心エバポレーター (MicroVac) で 5 min 沈殿を乾燥させた。沈殿を 15  $\mu$ L の 70%ギ酸で溶解し、5 min 室温で静置後、そのうち 2  $\mu$ L を 10  $\mu$ L のマトリックス剤と激しく混合した。この混合物 0.8  $\mu$ L をサンプルプレートの well にスポットし (8 スポット/サンプル)、クリーンベンチ内で 30 min 乾燥させた。プレコーティング法は、まずマトリックス剤をサンプルプレートの well にスポットし、乾燥後、同様にサンプルをスポットし (8 スポット/サンプル)、クリーンベンチ内で 30 min 乾燥させた。サンプルプレートは装置にセットし減圧後、照射レーザー強度 80、検出器を (Linear, 2,750 V) に設定し、ウェルごとにレーザーを 100 回照射、積算スペクトルを取得した。

3.3 **m/z protein table** : 各細菌株を培養し MALDI-TOF-MS 測定により mass spectrum (観測値) を得た。この観測値と上記 3.1 の塩基配列情報より構築した m/z 理論値表とを照合することにより、*Staphylococcus* 属細菌のマイクロバイーム解析に有望な種同定用のバイオマーカタンパク質を選別し、それらを m/z protein table として構築した。この m/z protein table は微生物同定ソフトウェア Strain Solution version 2.0 (島津製作所) に登録し、野外株で観測された同一の m/z ピークをバイオマーカタンパクとして識別した。なお、理論値の m/z と実測値の m/z 間の許容量は 700 ppm に設定した。

#### 4. 研究成果

4.1 **質量分析** : 本研究では、バイオマーカの m/z 値は 10000 以上の高質量タンパク質が多かつ

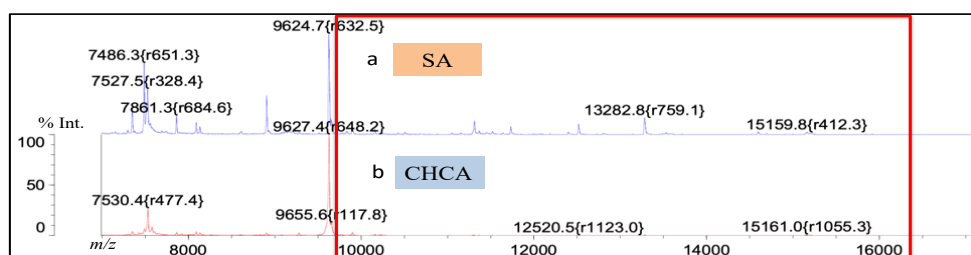


図 S. epidermidis JCM5693 のマスペクトル (a:SA. b:CHCA)

た。従って、使用するマトリックス剤は、フィンガー

プリント法で用いられている CHCA では無く、シナピン酸 (SA) が適切であった (図)。

次に、プレコーティング法は、プレミックス法のみ比、スポットした 8 スポット全てが安定して観測されるバイオマーカー数が増加し、バイオマーカーの測定には優れていた。従って、本研究における MALDI-TOF MS 測定は、マトリックス剤を SA としたプレコーティング法で実施した。

4.2 バイオマーカーの決定：供試菌した *Staphylococcus* 属細菌の 6 種 (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. caprae*, *S. hominis*, *S. lugdunensis*) のバイオマーカーは、それぞれ、*S. aureus* (10 本), *S. epidermidis* (10 本), *S. capitis* (10 本), *S. caprae* (5 本), *S. hominis* (10 本), *S. lugdunensis* (10 本)を選定した。なお、本研究で決定したバイオマーカーは、知財に関連するため非公開にした。

4.3 野外株の識別：選定したバイオマーカーを用いて臨床単離 33 株を識別した結果、市販の同定ソフト (SARAMIS) では判定できなかった菌株も首尾よく同定することができた (表)。さらに、バイオマーカーを可視化するソフトを検証した結果、混合菌の混合比率は不正確であったが、目的とする構成菌は識別できた。特に、*S. aureus* のみに存在するバイオマーカーが 1 個存在することを明らかにした。従って、可視化ソフトの改善により、*S. aureus* 特異的な本バイオマーカーの定量的モニタリングが可能になれば、皮膚マイクロバイオーーム内の *S. aureus* の変化を把握することにより、治療効果を視覚化できる可能性があることが示唆された。

| 菌株名 | SARAMIS判定      | Strain Solution判定 | 菌株名  | SARAMIS判定      | Strain Solution判定 |
|-----|----------------|-------------------|------|----------------|-------------------|
| C19 | S. aureus      | S. aureus         | W22  | 判定不可           | S. lugdunensis    |
| C20 | 判定不可           | S. lugdunensis    | W29  | S. epidermidis | S. epidermidis    |
| C21 | S. aureus      | S. aureus         | W30  | S. epidermidis | S. epidermidis    |
| C22 | S. aureus      | S. aureus         | C38D | S. epidermidis | S. epidermidis    |
| C23 | S. aureus      | S. aureus         | C38E | S. epidermidis | S. epidermidis    |
| C24 | S. aureus      | S. aureus         | C40  | S. epidermidis | S. epidermidis    |
| C29 | S. epidermidis | S. epidermidis    | C42  | 判定不可           | S. capitis        |
| C30 | S. epidermidis | S. epidermidis    | S3   | S. epidermidis | S. epidermidis    |
| C31 | S. epidermidis | S. epidermidis    | S6   | 判定不可           | S. lugdunensis    |
| C32 | S. epidermidis | S. epidermidis    | S7   | 判定不可           | S. lugdunensis    |
| C33 | 判定不可           | S. epidermidis    | S19  | S. aureus      | S. aureus         |
| C34 | S. epidermidis | S. epidermidis    | S21  | 判定不可           | S. caprae         |
| C35 | 判定不可           | S. epidermidis    | W18B | 判定不可           | S. lugdunensis    |
| C36 | S. epidermidis | S. epidermidis    | W24  | S. epidermidis | S. epidermidis    |
| C37 | S. epidermidis | S. epidermidis    | W25A | S. epidermidis | S. epidermidis    |
| W20 | 判定不可           | S. lugdunensis    | W40  | S. epidermidis | S. epidermidis    |
| W21 | 判定不可           | S. lugdunensis    |      |                |                   |

#### 4.4 研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は皮膚マイクロバイオーームの構成菌を迅速・簡便に同定可能な信頼性のあるバイオマーカーの選別、それらを 100%検出する手法の確立し、皮膚常在菌の種レベルでの解析の可能性を見出した。本研究成果は AD などの皮膚疾患における CNS 群の解析による病態解明を飛躍的に進め、国内外のヒトマイクロバイオーームのバランスを整える治療に貢献できる社会的にも意義深い研究であり、かつ、マイクロバイオーームのモニタリングを可能とするため学術的独自性と創造性に優れており、医療分野のみならず食品分野そして環境分野へ幅広く応用でき、その貢献できる裾野が広い。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

|                                                                                                                                                                                                 |                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| 1. 著者名<br>I. Dekio, Y. Sugiura, S. Hamada-Tsutsumi, Y. Murakami, H. Tamura and M. Suematsu                                                                                                      | 4. 巻<br>9            |
| 2. 論文標題<br>What Do We See in Spectra?: Assignment of High-Intensity Peaks of Cutibacterium and Staphylococcus Spectra of MALDI-TOF Mass Spectrometry by Interspecies Comparative Proteogenomics | 5. 発行年<br>2021年      |
| 3. 雑誌名<br>Microorganisms                                                                                                                                                                        | 6. 最初と最後の頁<br>1243   |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.3390/microorganisms9061243                                                                                                                                        | 査読の有無<br>有           |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である）                                                                                                                                                           | 国際共著<br>-            |
| 1. 著者名<br>I. Dekio, K. Okuda, M. Nishida, S. Hamada-Tsutsumi, T. Suzuki, S. Kinoshita, H. Tamura, K. Ohnuma, Y. Murakami, Y. Kinjo and A. Asahina                                               | 4. 巻<br>9            |
| 2. 論文標題<br>Common features and intra-species variation of Cutibacterium modestum strains, and emended description of the species                                                                | 5. 発行年<br>2021年      |
| 3. 雑誌名<br>Microorganisms                                                                                                                                                                        | 6. 最初と最後の頁<br>2343   |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.3390/microorganisms9112343                                                                                                                                        | 査読の有無<br>有           |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である）                                                                                                                                                           | 国際共著<br>-            |
| 1. 著者名<br>N. Takahashi, S. Nagai, A. Fujita, Y. Ido, K. Kato, A. Saito, Y. Moriya, Y. Tomimatsu, N. Kaneta, Y. Tsujimoto and H. Tamura                                                          | 4. 巻<br>91           |
| 2. 論文標題<br>Discrimination of psychrotolerant Bacillus cereus group based on MALDI-TOF MS analysis of ribosomal subunit proteins                                                                 | 5. 発行年<br>2020年      |
| 3. 雑誌名<br>Food Microbiology                                                                                                                                                                     | 6. 最初と最後の頁<br>103542 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1016/j.fm.2020.103542                                                                                                                                             | 査読の有無<br>有           |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である）                                                                                                                                                           | 国際共著<br>-            |
| 1. 著者名<br>T. Ojima-Kato, S. Nagai, A. Fujita, J. Sakata and H. Tamura                                                                                                                           | 4. 巻<br>11           |
| 2. 論文標題<br>Proteotyping of Campylobacter jejuni by MALDI-TOF MS and Strain Solution version 2 software                                                                                          | 5. 発行年<br>2023年      |
| 3. 雑誌名<br>Microorganisms,                                                                                                                                                                       | 6. 最初と最後の頁<br>202    |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.3390/microorganisms11010202                                                                                                                                       | 査読の有無<br>有           |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である）                                                                                                                                                           | 国際共著<br>-            |

|                                                                                                                   |                   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| 1. 著者名<br>S. Chen, T. Hirano, Y. Hayashi and H. Tamura                                                            | 4. 巻<br>47        |
| 2. 論文標題<br>Biological soil disinfestation compatible with renewable energy production for sustainable agriculture | 5. 発行年<br>2022年   |
| 3. 雑誌名<br>J. Pestic. Sci.                                                                                         | 6. 最初と最後の頁<br>1-7 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1584/jpestics.D22-010                                                              | 査読の有無<br>有        |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)                                                                            | 国際共著<br>-         |

|                                                                                                                                                                                                   |                         |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|
| 1. 著者名<br>N. Takahashi, S. Nagai, Y. Tomimatsu, A. Saito, N. Kaneta, Y. Tsujimoto and H. Tamura                                                                                                   | 4. 巻<br>85              |
| 2. 論文標題<br>Simultaneous Discrimination of Cereulide-Producing Bacillus cereus and Psychrotolerant B. cereus Group by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry | 5. 発行年<br>2022年         |
| 3. 雑誌名<br>J. Food Protect.                                                                                                                                                                        | 6. 最初と最後の頁<br>1192-1202 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.4315/JFP-21-450                                                                                                                                                    | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難                                                                                                                                                            | 国際共著<br>-               |

[学会発表] 計6件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 3件)

|                                                                                                                                                                              |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>N. Takahashi, S. Nagai, A. Fujita, Y. Ido, K. Kato, A. Saito, Y. Moriya, Y. Tomimatsu, N. Kaneta, Y. Tsujimoto and H. Tamura                                      |
| 2. 発表標題<br>MALDI-TOF MS Analysis for Simultaneous Discrimination of Cereulide Producing Bacillus cereus and Psychrotolerant Bacillus cereus Group from Other B. cereus Group |
| 3. 学会等名<br>International Association for Food Protection (IAFP2020) (国際学会)                                                                                                   |
| 4. 発表年<br>2020年                                                                                                                                                              |

|                                                                           |
|---------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>田村 廣人                                                          |
| 2. 発表標題<br>MALDI-TOF MSを用いた細菌近縁種のプロテオタイピング-残留微生物識別の試み-                    |
| 3. 学会等名<br>International Life Science Institute Japan (ILSI Japan) (招待講演) |
| 4. 発表年<br>2020年                                                           |

|                                                                                                                                                   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>I. Dekio, K. Okuda, M Nishida, S. Hamada-Tsutsumi, T. Suzuki, S. Kinoshita, H. Tamura, K. Ohnuma, Y. Murakami, Y, Kinjo and A. Asahina |
| 2. 発表標題<br>Common feature and intra-species variation of Cutibacterium modestum strains                                                           |
| 3. 学会等名<br>FEMS Conference on Microbiology (国際学会)                                                                                                 |
| 4. 発表年<br>2022年                                                                                                                                   |

|                                                         |
|---------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>田村廣人                                         |
| 2. 発表標題<br>生物農薬の残留分析 質量分析を用いたプロテオタイピングによる残留微生物識別・定量の試みー |
| 3. 学会等名<br>第39回農薬環境科学研究会 (招待講演)                         |
| 4. 発表年<br>2022年                                         |

|                                                                                                |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>Hiroto Tamura                                                                       |
| 2. 発表標題<br>Feasibility of Residue Analysis of Biopesticides by Proteotyping Using MALDI-TOF MS |
| 3. 学会等名<br>18th EUCHEMS INTERNATIONAL CONFERENCE ON CHEMISTRY AND THE ENVIRONMENT (国際学会)       |
| 4. 発表年<br>2023年                                                                                |

|                                               |
|-----------------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>Hiroto Tamura                      |
| 2. 発表標題<br>微生物同定は遺伝子から質量分析の時代へ-食中毒細菌も重さでわかる！- |
| 3. 学会等名<br>日本油化学会第60回年会 (招待講演)                |
| 4. 発表年<br>2021年                               |



〔図書〕 計1件

|                                                                                                                                                                                                                               |                 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 1. 著者名<br>Hiroto Tamura, edited by H. N. Shah, A. Shah, S. E. Gharbia, E. Tranfield and C. K. Thompson                                                                                                                        | 4. 発行年<br>2023年 |
| 2. 出版社<br>John Wiley & Sons                                                                                                                                                                                                   | 5. 総ページ数<br>560 |
| 3. 書名<br>A MALDI-TOF MS proteotyping approach for Environmental, Agricultural and Food Microbiology in Microbiological Identification using MALDI TOF and Tandem Mass Spectrometry: Industrial and Environmental Applications |                 |

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)            | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)           | 備考 |
|-------|--------------------------------------|---------------------------------|----|
| 研究分担者 | 出来尾 格<br>(Dekio Itaru)<br>(80338128) | 東京慈恵会医科大学・医学部・講師<br><br>(32651) |    |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

|         |         |
|---------|---------|
| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|