

# 質量分析を用いたハダニの同定

農研機構 高度解析センター **梶原英之**

農研機構 中央農業研究センター **日本文典秀**

茨城大学 農学部 **後藤哲雄**

## はじめに

農作物は様々な微小害虫による被害を受け、それは収量および品質の低下の原因となっている。その中の一つであるハダニは1,200種以上も知られており、非常に小さくその識別は容易ではない。圃場のみならず、ハダニについては輸入植物検疫などでも重要な課題となっている。このハダニの種の識別は光学顕微鏡による同定が一般的であり現場でも使用されているが、正確な同定には熟練を要する。最近ではPCRあるいは塩基配列を調べる等のDNA解析技術を用いた分類同定も行われ始めている。しかし、DNA分析には少なくとも1日を要し、これにも相応の設備と技術が必要で、一定のコストがかかる。

分類同定が難しいという点においては微生物も同様で、DNA解析技術が取り入れられるようになってきている。やはり同定に1日必要という点が課題で、より早い方法が求められていた。特に、臨床検査では1日という時間が致命的になってしまうこともあり、より迅速な同定法が要求されていた。この実用的要求によって登場したのが、質量分析法を利用した同定法である (BUCHAN and LEDEBOER, 2014)。これは植物病原菌の同定にも応用されつつある (KAJIWARA, 2016)。

## I 質量分析 (MALDI-TOF MS) の原理

質量分析についてなじみのない読者が多いと思われるので概説する (図-1)。詳しい理論などについては成書を参照されたい。質量分析法にはいくつかの種類があるが、それぞれ測定原理が異なる全く別個の測定法である。得られる結果が質量ということでひとまとめにされているにすぎない。本稿で概説するハダニや微生物の同定に用いたのは、マトリックス支援飛行時間型質量分析法 (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-

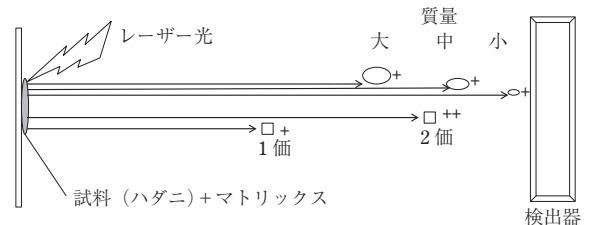


図-1 MALDI-TOF MSにおける測定の原理

of-Flight Mass Spectrometry, MALDI-TOF MS) である。特に質量スペクトルパターン (フィンガープリント) の差異を使って種の判別を行うことから MALDI biotyping と言われることもある。

MALDI-TOF MSはSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動あるいはゲルろ過になぞらえると理解しやすい。紫外線レーザー光を対象物に照射することによってイオン化させる。塩類や低分子化合物等はレーザー光のみでもイオン化するが、分子量の大きなタンパク質はそのままではなかなかイオン化しない。そのため、タンパク質のイオン化を支援するために有機化合物(マトリックス)を加える。マトリックスはレーザー光を効率よく吸収し、かつそれを近傍のタンパク質に伝える。これによって高分子量のものでもイオン化できるようになる。マトリックスにはいくつかの種類があるが、タンパク質およびペプチド用に使われるものがMALDI biotypingでも使用される。タンパク質は正または負にイオン化するが、そのうちMALDI biotypingでは正にイオン化したものを測定し比較する。イオン化したものは高真空状態のフライトチューブ内を電場に従って移動していくが、検出器にたどりつくまでの時間を測定する。電気泳動と同じように質量の小さいものは速く移動し、大きいものよりも先に検出器にたどりつく。この飛行時間の差を調べることによって質量を計算する。

ただし、いくつかの点で電気泳動とは異なる部分があるので注意を要する。電気泳動では分子量の等しいタンパク質は1本のバンドとして染色されるが、MALDI-TOF MS分析では常に1本のピークとして検出されるわけではない。前述のように負にイオン化してしまうこと

Identification of Spider Mites by Mass Spectrometry. By Hideyuki KAJIWARA, Norihide HINOMOTO and Tetsuo GOTOH

(キーワード: ハダニ, マトリックス支援飛行時間型質量分析, 種の識別, 微小害虫)