

提出日:2024 年 5 月 31 日

2023 年度 Bio-SPM 技術共同研究事業

研究成果の概要

実験課題名		鈴木 定彦
申請者 (実験責任者)	氏名	北海道大学
	所属機関名・部局名	人獣共通感染症国際共同研究所
	職名	教授
利用した Bio-SPM 技術 (該当の技術の右欄に○)		<input type="checkbox"/> 原子分解能/3D-AFM <input checked="" type="checkbox"/> 高速 AFM <input type="checkbox"/> SICM <input type="checkbox"/> 細胞測定 AFM
NanoLSI 受入担当教員名		柴田 幹大 教授
<p>抗菌薬耐性(AMR)は、抗菌薬の使用量の増加とその急速な拡大により、世界的に複雑で困難な問題となっており、抗菌薬耐性病原体は、持続可能な開発目標(SDGs)の達成に対する世界的な健康負担であり、国際社会による緊急対策が必要である。ネズミチフス菌(<i>Salmonella enterica subsp. enterica</i> serovar Typhimurium)は、世界的に食中毒の重要な原因菌であり、重症例にはキノロン系抗菌薬による治療が推奨されている。そのため、サルモネラのキノロン耐性株の出現は、公衆衛生上の大きな懸念となっている。プラスミド媒介性キノロン耐性(PMQR)はいくつかのタンパク質をコードしており、特に Penta Peptide Repeat Family に属する Qnr タンパク質は、DNA ジャイレースをキノロン系抗菌薬の阻害から保護し、キノロン系抗菌薬耐性を付与する可能性がある。さらに、PMQR 遺伝子の存在は、DNA ジャイレースのキノロン耐性決定領域(QRDR)のアミノ酸置換など、より強力な耐性メカニズムの獲得を促進し、高レベルのキノロン系抗菌薬耐性株の出現につながる可能性がある。しかしながら、Qnr タンパク質が耐性を示すメカニズムはまだ十分に解明されておらず、このタンパク質を阻害する薬剤は現在のところ存在しない。Qnr タンパク質の発見から 20 年以上が経過したが、効果的な対策や新規薬剤の開発に必要な確かな知識はまだ不足している。その結果、予防・対策への対応が遅れ、薬剤耐性感染症の蔓延につながっている。本研究の目的は、QnrB19 の存在に伴う <i>S. Typhimurium</i> の動態を明らかにすることである。本研究は、高速分子間力顕微鏡(HS-AFM)という最先端の可視化ツールを用いて、Qnr が発現する耐性メカニズムを直接観察する初めての試みであり、薬剤耐性菌との闘いにおける大きな前進となる。</p> <p>上記研究の第一段階として、DNA ジャイレースの基質である弛緩型プラスミド DNA をマイカ上に適切な濃度で結合させることを目指して、脂質二重膜によりマイカ表面コート、3-Aminopropyltriethoxysilane によるマイカ表面コートとマイカプレートそのものを基盤とすることを比較し、マイカプレートをそのまま基盤として用いたものにおいて最も良好な結果が得られるという結論に達した。また、DNA ジャイレース反応系として 2 種類の緩衝液を持ちいて、マイカプレートそのものを基盤として、弛緩型プラスミド DNA と DNA ジャイレースの相互作用を観察したところ、50 mM HEPES, 20 mM KCl, 5 mM MgCl₂, 1 mM EDTA, 2 mM spermidine を緩衝液として用いたところ、良好な弛緩型プラスミド DNA と DNA ジャイレースの相互作用が観察された。しかしながら、今回の共同研究においては、基盤となる情報はある程度得られたが、当初の目標である DNA ジャイレースによる弛緩型プラスミド DNA の超螺旋化の動画が撮影できていない。同様に、当該反応へのキノロン剤の影響、更に QnrB19 によるキノロン剤の作用の緩和についてのデータも得られていない。可能であれば、共同研究をも継続実施を通じた当初目標の達成をめざしたい。</p>		

※本様式 3 は、“事業成果報告”として、NanoLSI Web サイトにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限:2024 年 5 月 10 日(金) ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先:金沢大学 WPI-NanoLSI Bio-SPM 技術共同研究事業担当係 山崎 E-mail: nanolsi_openf01@ml.kanazawa-u.ac.jp