

## 用途・応用分野

- ・環境微生物制御
- ・食品製造や医療現場の衛生管理
- ・新規抗菌剤の作用特性の解析と作用機構の特定、バクテリア細胞の耐性化検定

## 本技術の特徴・従来技術との比較

- ・抗菌効力評価
- ・活性酸素発生の可視化と細胞の生死判定
- ・次世代シーケンサー解析によるゲノム構造比較・変異検出
- ・2D-PAGE 法や定量PCR法による細胞内タンパク質合成量や遺伝子の発現量調査

## 技術の概要

我々の研究室では、様々な抗菌剤の作用特性と作用機構を解析し、耐性菌が出現しない抗菌剤開発・微生物制御システム作りに向けた研究を行っている。

モデル抗菌剤として用いた陽イオン性第四アンモニウム塩(臭化トリメチルアンモニウム, CTAB)の抗菌特性に関する研究から、CTABの抗菌作用に活性酸素種の発生が寄与し(図1)、 $O_2$ 耐性に関わるSoxRSレギュロンの抑制が活性酸素発生に大きく関与していた。また、CTAB処理で多剤耐性菌が容易に取得され、変異株の詳細解析からsoxRSにSoxRSレギュロンを構成性とする変異が生じていることも確認された(表1)。この変異発生は活性酸素種蓄積による変異誘発かもしれない。一方で、低酸素状態でのCTAB処理では活性酸素の発生は確認されず、耐性菌が発生しない微生物制御システムの構築も可能と予想している。

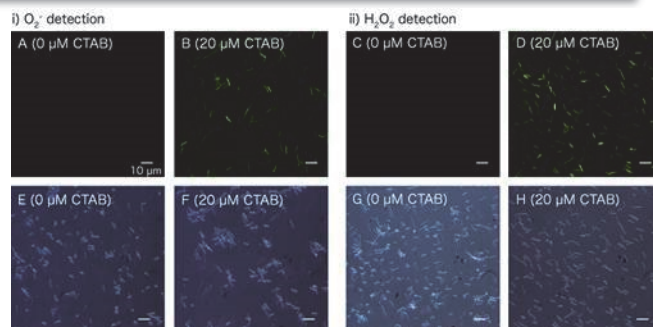


図1. 大腸菌細胞内で発生した $O_2^-$ と $H_2O_2$ の検出。大腸菌細胞を抗菌性界面活性剤(CTAB)で処理し、活性酸素特異的蛍光色素で染色した。上段が活性酸素発生の確認、下段が細胞観察

表1. 抗菌性界面活性剤耐性菌で観察されたゲノム変異

| Mutationsite: description                                              | Mutation               | Characteristic      |
|------------------------------------------------------------------------|------------------------|---------------------|
| <i>oppB</i> : Oligopeptide permease ABC transporter membrane component | 1301348                | IS186 insertion     |
| <i>ycdR</i> : Putative transcriptional regulator / aminotransferase    | A1508922C              | Silent mutation     |
| IVR: Intervening region locating between <i>vacJ</i> and <i>yfdO</i>   | Δ2463104-2463113       | -                   |
| <i>rpoN</i> : RNA polymerase $\sigma^{54}$ factor                      | Δ3342845-3342856       | Deletion 36-ELQQ-39 |
| <i>rpoB</i> : RNA polymerase $\beta$ subunit                           | G4179770A              | G168D               |
| <i>rpoC</i> : RNA polymerase $\beta'$ subunit                          | G4185383A              | G671S               |
| <i>soxR</i> : Redox-sensing activator of <i>soxS</i>                   | T insertion at 4275912 | Frameshift at E140  |

## 特許・論文

## ＜論文＞

1. Nakata, K., et al., *J. Appl. Microbiol.* **110**:258-579, 2011.
2. Nakata, K., et al., *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **87**:1895-1905, 2011.

## 研究者

松村 吉信

化学生命工学部 生命・生物工学科  
微生物制御工学研究室