

平成 30 年 5 月 23 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26293100

研究課題名(和文) バイオフィーム形成機構に立脚した阻害法の開発

研究課題名(英文) Development of the methods that inhibits staphylococcal biofilm formation.

研究代表者

水之江 義充 (Mizunoe, Yoshimitsu)

東京慈恵会医科大学・医学部・教授

研究者番号：20157514

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：黄色ブドウ球菌の分泌タンパク質Eapと細胞壁タンパク質SasGのバイオフィーム(BF)形成と病原性への関与を調べた。EapとSasGの二重欠損のBF形成、病原性は低下したが、単独欠損では変化しなかった。以上よりEapとSasGの相補的な機能を解明した。BF形成阻害剤を探索し、norgestimate (NGM)がMRSAのBF形成を阻害することを見出した。また、NGMが細胞外マトリックスの産生を抑制することを明らかにした。黄色ブドウ球菌は、ヌクレアーゼ産生により環境中pH依存的にBF dispersalを引き起こした。BFからの遊離細菌は好中球に貪食されにくくマウスにおいて高い病原性を示した。

研究成果の概要(英文)：The combined deletion of Eap and SasG reduced biofilm biomass of *Staphylococcus aureus*, whereas single deletion did not. Combined deletion of Eap and SasG decreased both roughness and thickness. The pathogenicity of Eap SasG was significantly decreased. Our findings highlight the relationship between Eap and SasG in *S. aureus* biofilm formation and pathogenesis. High-throughput screening identified norgestimate (NGM) as an inhibitor of biofilm formation by staphylococcal strains, including MRSA. NGM inhibited the production of extracellular matrix components that are important for biofilm formation, thereby inhibiting biofilm formation by clinical isolates with diverse matrix components. *S. aureus* caused biofilm dispersal by nuclease production and this depended on environmental pH. Dispersed bacteria showed highly virulence than planktonic bacteria in vitro and in vivo. Dispersed bacteria decreased phagocytosis by PMN and caused a lethal infection in mouse within 24 h.

研究分野：細菌学, 分子生物学

キーワード：バイオフィーム 黄色ブドウ球菌 バイオフィーム阻害剤 Eap SasG 細胞壁タンパク質

## 1. 研究開始当初の背景

従来の細菌学研究においては、液体培養により増殖した浮遊細菌、いわゆる単個細胞としての性質が詳細に調べられてきた。しかし、細菌は感染後、組織や医療材料上に付着・増殖するとタンパク質・多糖類・細胞外 DNA から構成されるマトリクスに囲まれたバイオフィームという共同体を形成する。バイオフィーム内の細菌は、薬剤や免疫に抵抗性を示し難治性のバイオフィーム感染症を惹起する。しかしながら、バイオフィーム感染症の確固たる予防法や治療法は存在せず、重篤な感染症で死に至るか移植した医療機器を摘出せざるを得ないのが現状である。院内感染症の原因菌として重要な黄色ブドウ球菌とりわけ MRSA によるバイオフィーム感染症は、難治性の重篤な感染症となり緊急の対策が望まれる。そのために、バイオフィーム形成・破壊のメカニズムを詳細に解析し、今までにない新規のバイオフィーム感染症対策を構築する必要がある。

## 2. 研究の目的

研究の目的は大きく3つに分けられる。

(1) 黄色ブドウ球菌の分泌タンパク質 Eap と細胞壁タンパク質 SasG のバイオフィーム形成と病原性への関与の解析

黄色ブドウ球菌のバイオフィームは、多糖、核酸、タンパク質(細胞壁アンカータンパク質、分泌タンパク質、細胞質タンパク質)から構成される。それら個々の分子の重要性は報告されているが、相互作用、相補性といった関係性について不明な点が多い。近年、東京慈恵会医科大学附属病院より分離された黄色ブドウ球菌のバイオフィーム形成能を網羅的に解析した結果、それらのバイオフィーム形成は菌株および培養条件により大きく異なることがわかった。その MRSA コレクションのうち MR23 株は、グルコース存在下で高いバイオフィーム形成能を示し、強固なタンパク質性のバイオフィームを形成した。我々が考案したマトリクスの回収法とプロテオーム解析を組み合わせることで、MR23 株のマトリクスには分泌タンパク質である Eap が多量に含まれることが判明した。Eap は 60~70 kDa の黄色ブドウ球菌にのみ存在する分泌タンパク質であり、血漿タンパク質、血小板などに結合すると報告されているが、バイオフィームにおける機能は明らかになっていない。Eap 精製標品をバイオフィーム形成の低い黄色ブドウ球菌臨床分離株の培養液に添加することでバイオフィーム形成の劇的な促進が認められたことから、Eap はバイオフィーム形成に重要な機能を有すると考えられる。一方、MR23 株において eap 遺伝子を欠損させてもバイオフィーム形成の低下は認められなかった。以上の結果より、MR23 株には Eap 以外にもバイオフィーム形成に重要なタンパク質が存在し、それらが相補的に機能すると考えられる。そこで本研

究では、MR23 株の様々な遺伝子を欠損させた株を作製し、それらのバイオフィーム形成を評価することでバイオフィーム形成に重要な遺伝子の探索を試みた。

(2) バイオフィーム形成阻害剤の探索

バイオフィーム感染症の治療は極めて困難であり、有効な治療法・予防法の開発が求められている。本研究では、東京大学創薬機構が保有する化合物ライブラリーからバイオフィーム形成阻害剤のスクリーニングを行い、その作用機序を解析した。

(3) バイオフィーム dispersal のメカニズム解析

細菌は増殖・菌体外マトリクス産生しながらバイオフィームを形成後、そこから遊離・分散(dispersal)する。バイオフィームからの菌の遊離は生体内において感染拡大に繋がると考えられ、黄色ブドウ球菌の dispersal メカニズムと病原性について解析した。

## 3. 研究の方法

(1) MRSA の MR23 株を親株として、in-frame deletion 法により種々の単一遺伝子欠損株および多重遺伝子欠損株を作製した。細菌の培養には BHI 培地、BHI1%グルコース添加(BHIG)培地を使用した。バイオフィーム形成条件は、各種細菌を BHI 培地で 37℃、16 時間振盪培養し、BHIG 培地で 1000 倍希釈した培地を 96 ウェルプレートに入れ、37℃で 24 時間静置培養した。プレートを PBS で洗浄し、0.05%クリスタルバイオレットで染色し、吸光度を測定した。また BHIG 培地で 1000 倍希釈した培地から、細胞外マトリクス、細胞壁画分、培養上清を回収し、解析を行った。また、共焦点型レーザー顕微鏡を用いて、ガラスボトムディッシュ上に作製したバイオフィームの立体構造を観察した。遺伝子欠損株の病原性の解析はカイコを用いて行った。BHI 培地で培養した菌液を 0.6%食塩水で希釈し、カイコの背脈管より投与し、60 時間室温で観察し、生存数を観察した。

(2) バイオフィーム感染症に有効な治療薬・予防薬の開発を目指し、黄色ブドウ球菌のバイオフィーム形成を阻害する低分子化合物のスクリーニングに着手した。高精度かつ迅速なスクリーニングを行うため、96 ウェルプレートを使用した安定的なアッセイ系を確立し、スクリーニングを自動で行うロボットシステムを構築した。構築したシステムは、化合物の分注、バイオフィーム形成条件下での培養、ウェル底面に形成されたバイオフィームの洗浄および染色、吸光度の測定までの一連の操作を自動で行うものであり、1日に最大 960 化合物のスクリーニングが可能である。細菌の増殖を阻害する化合物の使用は新たな耐性菌の出現を招く危険性があるため、

「黄色ブドウ球菌の増殖は阻害せずバイオフィーム形成を選択的に阻害する」というコンセプトでスクリーニングを行った。得られたヒット化合物が黄色ブドウ球菌の細胞外マトリックスの産生や遺伝子発現に与える影響をプロテオーム解析やトランスクリプトーム解析により調べることで作用機序を解析した。

(3)

細菌の培養：黄色ブドウ球菌 SH1000 株を BHI 培地で一晚振盪培養後、BHI に植菌し 37 °C で静置培養してバイオフィームを形成させ 24h 後に遊離した菌を dispersed 細菌、振盪培養したものを planktonic 細菌とした。

バイオフィームアッセイ：96 ウェルプレートで形成させたバイオフィームについて、PBS 洗浄、風乾、サフラニン染色を行い、吸光度 (492nm) を測定した。

ヌクレアーゼアッセイ：培養上清中の酵素活性はバッファー存在下 (pH8) と非存在下 (native pH) で FRET 法により測定し、タンパクはウェスタンブロット法で検出した。

変異株、相補株の作製：*nuc* 変異株の作製は pKOR1 mutagenesis system (Plasmid 2006, 55: 58–63) を用いて行った。*nuc* 遺伝子をプロモーター領域から挿入した相補プラスミドを作製し *nuc* 変異株に導入した。

PMN 貪食アッセイ：分離した PMN に細菌 (planktonic 又は dispersed) を添加し、37 °C で培養後、PMN を回収し、細胞を溶解後、細胞内菌数をコロニーカウント法により測定した。

マウス感染実験：細菌 (planktonic 又は dispersed) をマウスに腹腔内投与し、生存を観察した。

#### 4. 研究成果

(1) 細胞壁アンカータンパク質をペプチドグリカンへ結合させる Sortase A 遺伝子 (*srtA*) の欠損はバイオフィーム形成量に影響しなかったが、 $\Delta eap \Delta srtA$  株では顕著に低下することを見出した。この結果は、細胞壁アンカータンパク質がバイオフィーム形成において Eap と相補的に機能することを示唆している。そこで、複数の細胞壁アンカータンパク質欠損株を作製したところ、 $\Delta eap \Delta sasG$  株でバイオフィーム形成量が低下することがわかった。低下したバイオフィーム形成量はプラスミドからの野生型 SasG の発現で回復したが、細胞壁へのアンカリングに必須な LPXTG モチーフを欠損した SasG 変異体の発現では回復しなかった。すなわち、SasG は細胞壁にアンカーした状態でバイオフィーム形成に寄与すると考えられる。また、共焦点レーザー顕微鏡でバイオフィームを観察すると、野生株では分厚く凹凸の大きいバイオフィームが観察されたのに対し、 $\Delta eap$  株では平坦な、 $\Delta eap \Delta sasG$  株では薄く平坦なバイオフィームが観察された。さらに、

$\Delta eap \Delta sasG$  株のカイコに対する病原性が顕著に低下し、 $\Delta eap$  株では病原性が部分的に低下した。以上より、Eap と SasG はバイオフィームの形成量、立体構造および病原性において部分的に相補的な機能をする事が解明された。

(2) 東京大学創薬機構が所蔵する化合物ライブラリーに含まれる約 60,000 化合物を使用してスクリーニングを行った結果、プロゲステンの一種である norgestimate (NGM) が黄色ブドウ球菌のバイオフィーム形成を阻害することを見出した。複数の黄色ブドウ球菌と表皮ブドウ球菌の臨床分離株に対する NGM の活性スペクトルの評価を行った結果、使用した黄色ブドウ球菌 8 株と表皮ブドウ球菌 2 株すべてのバイオフィーム形成を阻害し (50% 阻害濃度: 12 ~ 22.5  $\mu\text{M}$ )、幅広いタイプのバイオフィームに対して有効であることが示唆された。次に、ABC-JK2 が細胞外マトリックスの産生に与える影響を評価した。まず、NGM が細胞外多糖の産生に与える影響を調べるため、NGM の存在・非存在下で黄色ブドウ球菌の培養を行い、細胞外多糖を蛍光標識した Wheat germ agglutinin で染色したところ、コントロール条件下で観察された細胞外多糖由来の繊維構造が NGM 存在下では観察されなかった。細胞外マトリックス画分に含まれる多糖の定量結果からも、NGM が細胞外多糖の産生を抑制することが示された。また、NGM は多糖に非依存的なバイオフィームを形成する黄色ブドウ球菌に対しても有効であったため、細胞外マトリックスに含まれるタンパク質の定量を行ったところ、NGM 存在下ではその量が有意に減少していた。加えて、NGM が黄色ブドウ球菌のタンパク質合成に与える影響をプロテオーム解析により評価したところ、NGM 存在下ではバイオフィーム形成への関与が報告されている Surface protein G や Enolase の発現が低下することが示された。これらの結果から、NGM は細胞外マトリックスに含まれる多糖とタンパク質の産生を抑制し、性質の異なる幅広いブドウ球菌属のバイオフィームに対して形成阻害活性を示すことが明らかになった。細胞壁合成への影響を透過電子顕微鏡観察により調べたところ、NGM 存在下では細胞壁の肥厚化や異常な隔壁合成が認められた。さらに、トランスクリプトーム解析の結果から、細胞壁の合成と分解に関与する複数の遺伝子の発現が NGM 存在下で上昇することを明らかになった。ある種の抗菌薬は細菌の細胞壁合成を阻害することで作用を発揮する。そこで、NGM が抗菌薬の活性に与える影響を調べたところ、驚くべきことに NGM は  $\beta$ -ラクタム系抗菌薬に対する黄色ブドウ球菌の感受性を有意に上昇させることが明らかになった。最も効果のあった MRSA 株では、コントロールで 32  $\mu\text{g/ml}$  であったオキサシリンの最少発

育阻止濃度が 1 µg/ml となり、32 倍の感受性上昇が見られた。NGM がβ-ラクタム系抗菌薬に対する感受性を上昇させるメカニズムの詳細は未だ不明であるが、β-ラクタム系抗菌薬の標的分子である細胞壁合成関連タンパク質 penicillin binding-protein 2 の発現を上昇させる効果や、上述のような細胞壁の構造異常をもたらす効果と関係しているものと推察される。以上の結果から、NGM は黄色ブドウ球菌のバイオフィーム形成に重要な ECM 成分の産生を抑制するのみならず、細胞壁の恒常性に影響を及ぼすことでβ-ラクタム系抗菌薬に対する黄色ブドウ球菌の感受性を誘導することが示唆された。

(3)

dispersal メカニズムの解析

バイオフィーム量は 24h では減少し (図 1A) 培養上清をバイオフィームに添加したところ 20-24h の上清で dispersal 活性がみられた (図 1B)。菌体外マトリクス解析からヌクレアーゼの関与が示唆され、ヌクレアーゼ変異株を作製したところ、dispersal は起こらなかった。相補株では野生株同様に起きたことからヌクレアーゼが要因であることが示された (図 1C)。培養上清中のヌクレアーゼ活性・量は時間とともに増加したが (図 1D)、native pH 下でのヌクレアーゼ活性は dispersal 活性と同様に 20-24h で検出された (図 1E)。精製ヌクレアーゼを用いたアッセイで酵素活性は pH7 以上で検出されたことから (図 1F)、菌のヌクレアーゼ活性は、産生量と環境中の pH 依存的に生じることが示唆された。

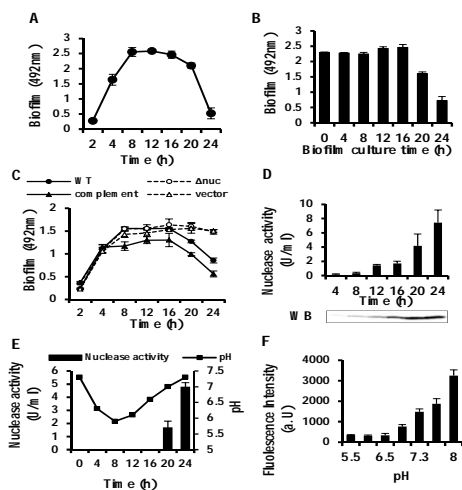


図 1

病原性の解析

バイオフィームからの遊離細菌 (dispersed 細菌) の病原性について planktonic 細菌と比較したところ好中球による貪食に抵抗性を示し (図 2A)、またマウス感染モデルにおいて、生存率を著しく低下させた (図 2B)。よってバイオフィームから遊離した菌は病原性が高くなっていることが考えられた。

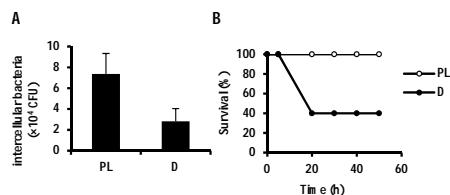


図 2

以上より、黄色ブドウ球菌はバイオフィーム形成後にヌクレアーゼ産生により dispersal を引き起こし、遊離細菌によって、感染を悪化させる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計 17 件)

1. Okuda K, Nagahori R, Yamada S, Sugimoto S, Sato C, Sato M, Iwase T, Hashimoto K, Mizunoe Y: The Composition and Structure of Biofilms Developed by *Propionibacterium acnes* Isolated from Cardiac Pacemaker Devices. *Front Microbiol.* 9: 182, Feb. 2018. doi: 10.3389/fmicb.2018.00182. 査読有
2. Iwase T, Okai C, Kamata Y, Tajima A, Mizunoe Y: A straightforward assay for measuring glycogen levels and RpoS. *J Microbiol Methods.* 145: 93-7, Feb. 2018. doi: 10.1016/j.mimet.2017.12.008. 査読有
3. Sugimoto S, Sato F, Miyakawa R, Chiba A, Onodera S, Hori S, Mizunoe Y: Broad impact of extracellular DNA on biofilm formation by clinically isolated Methicillin-resistant and -sensitive strains of *Staphylococcus aureus*. *Sci Rep.* 8(1): 2254, Feb. 2018. doi: 10.1038/s41598-018-20485-z. 査読有
4. Yoshii Y, Okuda K, Yamada S, Nagakura M, Sugimoto S, Nagano T, Okabe T, Kojima H, Iwamoto T, Kuwano K, Mizunoe Y: Norgestimate inhibits staphylococcal biofilm formation and resensitizes methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to β-lactam antibiotics. *NPJ Biofilms Microbiomes.* 3: 18, Jul. 2017. doi: 10.1038/s41522-017-0026-1. 査読有
5. 水之江義充, 杉本真也, 奥田賢一: バイオフィーム感染症制圧に向けての展望.

家畜感染症学会誌. 5(4): 113-120, Dec. 2016. 査読無

6. Sugimoto S, Okuda K, Miyakawa R, Sato M, Arita-Morioka K, Chiba A, Yamanaka K, Ogura T, Mizunoe Y, Sato C: Imaging of bacterial multicellular behaviour in biofilms in liquid by atmospheric scanning electron microscopy. *Sci Rep.* 6: 25889, May. 2016. doi: 10.1038/srep25889. 査読有
7. Koyama R, Okuda K, Matsushita K, Beppu M, Mizunoe Y: Antimicrobial and antibiofilm effects of ozonated water for prevention and treatment of bone and joint infections. *J. St. Marianna Univ.* 6(1): 1-7, Jun. 2015. doi: 10.17264/stmarieng.6.1. 査読有
8. Chiba A, Sugimoto S, Sato F, Hori S, Mizunoe Y: A refined technique for extraction of extracellular matrices from bacterial biofilms and its applicability. *Microb Biotechnol.* 8(3): 392-403, May. 2015. doi:10.1111/1751-7915.12155. 査読有
9. Arita-Morioka K, Yamanaka K, Mizunoe Y, Ogura T, Sugimoto S: Novel strategy for biofilm inhibition by using small molecules targeting molecular chaperone DnaK. *Antimicrob Agents Chemother.* 59(1): 633-41, Jan. 2015. doi: 10.1128/AAC.04465-14. 査読有
10. 水之江義充, 杉本真也, 岩瀬忠行: 常在細菌による黄色ブドウ球菌排除メカニズム. *呼吸器内科.* 26(1): 49-52, Jul. 2014. 査読無
11. 水之江義充: バイオフィーム感染症制圧の新たな試み. *Bacterial Adherence & Biofilm.* 27: 25-6, May. 2014. 査読無

[学会発表](計 100 件)

1. 田嶋亜紀子, 水之江義充: 黄色ブドウ球菌バイオフィーム dispersal と病原性の解析. 第 91 回日本細菌学会総会. 福岡国際会議場(福岡県福岡市) 2018/3/27 ~ 29
2. 杉本真也, 有田 森岡健一, 山中邦俊, 小椋光, 水之江義充: ミリセチン類縁体による菌体外アミロイド線維依存的バイオフィームの制御. 第 91 回日本細菌

学会総会. 福岡国際会議場(福岡県福岡市) 2018/3/27 ~ 29

3. 吉井悠, 奥田賢一, 山田聡美, 永倉茉莉, 杉本真也, 長野哲雄, 岡部隆義, 小島宏建, 岩本武夫, 水之江義充: Norgestimate は黄色ブドウ球菌のバイオフィーム形成を阻害し  $\beta$ -ラクタム薬感受性を誘導する. 第 91 回日本細菌学会総会. 福岡国際会議場(福岡県福岡市) 2018/3/27 ~ 29
4. 奥田賢一, 山田聡美, 吉井悠, 水之江義充: Mechanism of action of the small molecule inhibitor against *Staphylococcus aureus* biofilm formation. 第 91 回日本細菌学会総会. 福岡国際会議場(福岡県福岡市) 2018/3/27 ~ 29
5. 米本圭吾, 千葉明生, 杉本真也, 斉藤充, 丸毛啓史, 水之江義充: Redundancy of a secretory protein and cell wall-anchored proteins on biofilm formation in *S. aureus*. 第 91 回日本細菌学会総会. 福岡国際会議場(福岡県福岡市) 2018/3/27 ~ 29
6. 千葉明生, 杉本真也, 水之江義充: MRSA 臨床分離株のバイオフィーム形成能とマトリクス成分の解析. 第 31 回日本バイオフィーム学会. つくば大学大会館(茨城県つくば市) 2017/7/7 ~ 8
7. 杉本真也, 水之江義充: 菌体外アミロイド線維 curli の細胞内品質管理機構の解明. 第 31 回日本バイオフィーム学会. つくば大学大会館(茨城県つくば市) 2017/7/7 ~ 8
8. Iwase T: *Staphylococcus epidermidis* Esp inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and nasal colonization. *Pasteur - Jikei Joint Symposium.* Paris(France) 2017/4/24 ~ 26
9. 杉本真也, 千葉明生, 宮川玲奈, 寺尾明莉, 米本圭吾, 水之江義充: バイオフィームマトリクス成分の新機能. 第 90 回日本細菌学会総会. 仙台国際センター(宮城県仙台市) 2017/3/19 ~ 21
10. 田嶋亜紀子, 水之江義充: ヌクレアーゼによる黄色ブドウ球菌バイオフィーム dispersal. 第 90 回日本細菌学会総会. 宮城県仙台市 2017/3/19 ~ 21

11. 奥田賢一, 山田聡美, 梶山茉莉, 吉井悠, 長野哲雄, 岡部隆義, 小島宏建, 水之江義充: 黄色ブドウ球菌バイオフィルム形成阻害物質のスクリーニングと活性評価. 第90回日本細菌学会総会. 仙台国際センター(宮城県仙台市) 2017/3/19 ~ 21
  12. Chiba A, Sugimoto S, Yonemoto K, Mizunoe Y: Characterization of extracellular nucleic acids in bacterial biofilms. Advanced Genome Science International Symposium "The Start New Genomic". 東京大学(東京都文京区) 2017/1/10 ~ 11
  13. 水之江義充, 杉本真也, 奥田賢一: バイオフィルム感染症制圧に向けての展望. 第6回家畜感染症学会学術集会. 九州大学西新プラザ(福岡県福岡市) 2016/12/2 ~ 3
  14. 奥田賢一: ケミカルバイオロジーによるバイオフィルム形成機構の解明と抗バイオフィルム感染症薬開発に向けた試み. 第1回バイオフィルム研究者若手ワークショップ. 早稲田大学(東京都新宿区) 2016/7/1
  15. 杉本真也, 有田健一, 山中邦俊, 小椋光, 水之江義充: 分子シャペロン DnaK によるバイオフィルムの形成制御メカニズム. 第1回バイオフィルム研究者若手ワークショップ. 早稲田大学(東京都新宿区) 2016/7/1
  16. 千葉明生, 杉本真也, 水之江義充: Extracellular small RNA はバイオフィルムの構造維持に重要である. 第1回バイオフィルム研究者若手ワークショップ. 早稲田大学(東京都新宿区) 2016/7/1
  17. 吉井悠, 奥田賢一: Identification of ABC-JK2 a small molecule inhibitor of staphylococcal biofilm formation. 第1回バイオフィルム研究者若手ワークショップ. 早稲田大学(東京都新宿区) 2016/7/1
  18. Chiba A, Yonemoto K, Sugimoto S, Mizunoe Y: Extracellular RNA serves as a building material in bacterial habitats. 2016 ASM Microbe. Boston (USA) 2016/6/16 ~ 20
  19. Okuda K, Yamada S, Sugimoto S, Iwase T, Sato M, Sato C, Mizunoe Y: Genotypic and biofilm profiles of *Propionibacterium acnes* isolated from pacemakers without clinical signs of infection. 2016 ASM Microbe. Boston (USA) 2016/6/16 ~ 2
  20. Sugimoto S, Okuda K, Miyakawa R, Sato M, Chiba A, Sato C, Mizunoe Y: High resolution imaging of aqueous biofilms by atmospheric scanning electron microscopy. 2016 ASM Microbe. Boston (USA) 2016/6/16 ~ 20
  21. Yoshii Y, Okuda K, Yamada S, Nagakura M, Sugimoto S, Nagano T, Okabe T, Kojima H, Mizunoe Y: Identification of ABC-JK2 a small molecule inhibitor of staphylococcal biofilm formation. Biofilms7. Porto (Portugal) 2016/6/26 ~ 28
  22. 杉本真也: 蛍光プローブチオフラビン T による分子レベル・細胞レベルの RNA 代謝の高感度モニター. 環境バイオテクノロジー学会 2016 年度大会. サテライトキャンパスひろしま(広島県広島市) 2016/6/14
6. 研究組織
- (1)研究代表者  
水之江 義充 (MIZUNOE, Yoshimitsu)  
東京慈恵会医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 20157514
- (2)研究分担者  
杉本 真也 (SUGIMOTO, Shinya)  
東京慈恵会医科大学・医学部・准教授  
研究者番号: 60464393
- 田嶋 亜紀子 (TAJIMA, Akiko)  
東京慈恵会医科大学・医学部・講師  
研究者番号: 70317973
- 奥田 賢一 (OKUDA, Kenichi)  
東京慈恵会医科大学・医学部・講師  
研究者番号: 70624245
- 岩瀬 忠行 (IWASE, Tadayuki)  
東京慈恵会医科大学・医学部・准教授  
研究者番号: 80385294