

令和 4 年 6 月 3 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08960

研究課題名(和文) オキサシリン感性MRSAの感性化メカニズム解明によるラクタム薬耐性の統合的理解

研究課題名(英文) Integrated understanding of the beta-lactam resistant mechanisms in mutations responsible for the beta-lactam resistance in oxacillin susceptible MRSA

研究代表者

渡邊 真弥 (Watanabe, Shinya)

自治医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60614956

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：近年、ラクタム薬であるオキサシリンに感性を示すオキサシリン感性mecA陽性黄色ブドウ球菌(OS-MRSA)が散見される。OS-MRSAは、そのラクタム薬暴露により耐性化する可能性があることが臨床上的問題である。このラクタム薬耐性化メカニズムを明らかにするために、OS-MRSA株43株のゲノム解析を行ったところ、その遺伝学的背景は多様であった。さらにオキサシリン暴露による耐性化株100株の比較解析により、最も多い変異株はRNA合成酵素遺伝子rpoBCであった。rpoBC変異株は、細胞内にヌクレオチドや細胞壁の前駆物質が蓄積しており、この細胞内代謝変化がラクタム薬耐性に関与すると示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)は、院内感染の指標耐性菌のひとつであり、医療現場において監視が必要な耐性菌である。MRSAは、耐性遺伝子mecAを保有する。しかし、mecAを保有するにも関わらずラクタム系抗菌薬であるオキサシリンに感性を示す「オキサシリン感性mecA陽性黄色ブドウ球菌(OS-MRSA)」が度々臨床分離される。OS-MRSAはメチシリン感性黄色ブドウ球菌と誤判定されて、ラクタム薬治療が開始されると、そのラクタム薬暴露により耐性化する可能性があることが臨床上的問題である。本研究課題では、OS-MRSAのラクタム薬暴露による耐性化メカニズムの一端を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Recently oxacillin-susceptible mecA-positive *S. aureus* (OS-MRSA) have been increasingly reported worldwide. OS-MRSA may be prone to generate the highly beta-lactam-resistant mutants following antibiotic selection due to mecA carriage, ultimately leading to beta-lactam treatment failure. The research aim is to clarify mechanisms of beta-lactam susceptibility and beta-lactam resistance acquisition by beta-lactam exposure in OS-MRSA. Genome analysis of 43 OS-MRSA revealed a high diversity of genetic background. 100 oxacillin resistant mutants generated by oxacillin exposure carried a total of 141 mutations in 46 genes and 8 intergenic regions. Among them, the mutations were most frequently identified in RNA polymerase genes (rpoBC). The mutations on rpoBC disrupted in vivo RNA synthesis and caused accumulation of ribonucleotide triphosphate and peptidoglycan precursors. It might affect oxacillin resistance in the mutants.

研究分野：感染症学

キーワード：メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 MRSA 薬剤耐性菌 ラクタム薬 オキサシリン感性黄色ブドウ球菌

## 1. 研究開始当初の背景

抗菌薬の効かない耐性菌の出現と蔓延により、医療現場における治療薬の選択の幅が狭められ、細菌感染症治療が難航してきた。臨床で分離される細菌の中には、薬剤耐性遺伝子を獲得したにも関わらず耐性化せずに「感性」の表現型を示す菌が存在する。これらの菌は、耐性遺伝子の検査と薬剤感受性試験の結果の相違により認識される場合が多く、「ステルス型耐性菌」と呼ばれる。臨床細菌検査室では、一般的に感性菌に耐性遺伝子の検査を行わないためステルス型耐性菌の検出は困難である。さらに、ステルス型耐性菌を「感性」であると誤判定し抗菌薬治療を開始すると、抗菌薬暴露により、ステルス型耐性菌が高度耐性化することがある。つまり、ステルス型耐性菌の高度耐性化は、抗菌薬の再選択・治療期間の延長を引き起こす原因となり、細菌感染症治療をさらに困難なものとしている。

医療施設で最も分離頻度の高い耐性菌であるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は、PBP2' をコードする *mecA* 遺伝子を有し、ほぼ全てのラクタム薬に耐性を示す。しかし、*mecA* 陽性にも関わらず、MRSA スクリーニングに用いるオキサシリンに感性を示す「オキサシリン感性 *mecA* 陽性黄色ブドウ球菌 (OS-MRSA)」が、臨床分離メチシリン感性黄色ブドウ球菌 (MSSA) の中からしばしば検出される。OS-MRSA は、MSSA と誤判定されることでラクタム薬治療が開始され、そのラクタム薬暴露により耐性化することが臨床上の問題である。しかし、なぜ OS-MRSA が *mecA* 遺伝子を持っているにも関わらずラクタム薬に感性を示すのかに関する研究はあまり進んでおらず、OS-MRSA のラクタム薬感性化メカニズムの全体像は未だ明らかになっていない。また、OS-MRSA がラクタム薬暴露によりどのように耐性化するかに関しても、ほとんど明らかになっていない。

## 2. 研究の目的

本研究では、OS-MRSA のラクタム薬感性化機構およびラクタム薬暴露によるラクタム薬耐性化機構を明らかにし、MRSA のラクタム薬耐性メカニズムの全体像に迫ることを目的とする。

## 3. 研究の方法

1998 年から 2015 年に日本と台湾で臨床分離された OS-MRSA 43 株を収集し、本研究課題で使用した。OS-MRSA の特性を解析するために、以下の実験を行った。オキサシリンの MIC を CLSI に準拠し、E-test で測定した。PCR を用いて *mecA* 遺伝子を検出した。PBP2a の発現量を簡易的に決定するために、スライドラテックス凝集法を用いて測定した。

OS-MRSA をオキサシリン暴露により耐性化株を分離した。培養 24 時間から 48 時間後にオキサシリンの E-test の阻止円の中に生育したコロニーを分離した。一度、シングルコロニーアイソレーションした後ストックし、以降の実験に使用した。

OS-MRSA 株と耐性化株のゲノム解析を次世代シーケンサーにより行った。DNA を QIAamp DNA mini kit により抽出した。メイトペアライブラリーとペアエンドライブラリーを Nextera mate-pair library prep kit と Nextera XT DNA library prep kit を用いて調整した。ライブラリーをプールし、Miseq reagent kit v3 を用いて MiSeq プラットホームでシーケンスした。メイトペアシーケンスデータは、Velvet de novo assembly によりアセンブルし環状化した。ペアエンドライブラリーは、CLC Genomics Workbench によりアセンブルした。さらに、耐性化株はその親株とゲノム比較することによりその変異部位を同定した。同定した変異部位は、Sanger シーケンスにより確認した。OS-MRSA の系統樹は、kSNP3 を用いて構築した。

OS-MRSA の遺伝子発現解析を qRT-PCR と RNA-seq を用いて行った。対数増殖期の菌から、RNA を酸性フェノール抽出法により抽出した。qRT-PCR では、RNA を 1 本鎖 DNA に逆転写し、*mecA* と *rho* に設計した primer を用いて、リアルタイム PCR を用いて転写量を算出した。RNA-seq 解析では、リボソーム RNA を除去した後、RNA を逆転写し、二本鎖 DNA に変換した。ペアエンドライブラリーを構築した後、Miseq によりシーケンスした。CLC Genomics Workbench を用いて、発現量を解析した。

OS-MRSA とその耐性化株の *mecA* と *blaI* のノックアウト株を pKFT マーカーレス遺伝子欠損システムにより作製した。さらに、そのコンプリメント株をプラスミド pKAT により作製した。

OS-MRSA とその耐性化株の代謝変化を CE-TOFMS により解析した。

## 4. 研究成果

### 4 - 1. OS-MRSA の性状解析

合計で 43 株の OS-MRSA 株を日本と台湾の様々な臨床検体から収集した。オキサシリンの耐性

度を測定したところ、オキサシリンに対する MIC が 0.125 から 2 µg/mL であり、全ての株がオキサシリン感性であった。CLSI は、セフォキシチンを MRSA の検出指標抗菌薬として指定している。そこで、セフォキシチンの MIC を測定したところ、セフォキシチンに対する MIC が 1.5-12 µg/mL であり、セフォキシチンを用いた MRSA の定義を使用すると、56% (24/43) が OS-MRSA であった。

#### 4 - 2 . OS-MRSA のゲノム解析

43 株の OS-MRSA のゲノム配列を決定したところ、OS-MRSA の遺伝学的背景が多様であることが解った。本研究で使用した 43 株の OS-MRSA は、11 種の MLST 型 (ST1, ST5, ST8, ST59, ST89, ST91, ST121, ST338, ST772, ST1516, ST6217) に分類された。さらに、4 種の SCC<sub>mec</sub> 型 (II, IVa, IVc, V) に分類された。最も多い染色体型は、ST121-SCC<sub>mec</sub> V 型 (16 株, 37%) であり、次に ST59-SCC<sub>mec</sub> V 型 (7 株, 16%)、ST89-SCC<sub>mec</sub> V 型 (6 株, 14%)、ST89-SCC<sub>mec</sub> IVa 型 (3 株, 7%)、ST8-SCC<sub>mec</sub> IVa 型 (2 株, 4.7%)、ST6217-SCC<sub>mec</sub> V 型 (2 株, 4.7%) であった。さらに、ST1-SCC<sub>mec</sub> IVa 型、ST5-SCC<sub>mec</sub> II 型、ST59-SCC<sub>mec</sub> IVa 型、ST91-SCC<sub>mec</sub> IVa 型、ST338-SCC<sub>mec</sub> V 型、ST772-SCC<sub>mec</sub> V 型、ST1516-SCC<sub>mec</sub> IVc 型がそれぞれ 1 株ずつ存在した。

一定の OS-MRSA 株の *mecA* のプロモーター領域に変異が存在していた。JMUB1293 株 (SCC<sub>mec</sub> II 型) は、C -30 A (変異 *mecA* の CDS の 30 塩基上流に C が A に置換する変異) が存在していた。さらに、全ての SCC<sub>mec</sub> IVa 型の株には、G -7 T 変異、全ての SCC<sub>mec</sub> IVc 型の株と SCC<sub>mec</sub> V 型の株には、C -33 T 変異が存在していた。*mecA* の CDS 領域には、プレ MRSA 株である N315 株の塩基配列と比較して、全ての OS-MRSA 株で C75A シノニマス変異が存在し、全ての SCC<sub>mec</sub> V 型株で T675A (Ser225Arg) 変異が存在した。*mecA* の発現に関与する ラクタマーゼをコードする *bla* オペロンは 2 つの型が知られており、OS-MRSA の中で、12 株 (28%) が *bla* オペロン-1 を持っており、23 株 (53%) が *bla* オペロン-2 を持っていた。1 株が、*bla* オペロン-1 と *bla* オペロン-2 の両方を持っており、7 株 (16%) が *bla* オペロンを持っていなかった。

#### 4 - 3 . OS-MRSA の PBP2a の産生量と *mecA* の発現量

OS-MRSA の PBP2a の産生量を PBP2a ラテックス凝集反応法により半定量的に測定した。代表的なオキサシリン耐性 MRSA (OR-MRSA) 株 4 株とプレ MRSA である N315 株、および OS-MRSA JMUB217 株のノックアウト株を対称として、染色体型の異なる 7 株の代表株の PBP2a を測定した。その結果、OR-MRSA と比較して PBP2a の産生量が低下している OS-MRSA 株もあったが、OR-MRSA 株と同等の PBP2a を産生している株も存在していた。さらに、*mecA* の発現量を qRT-PCR を用いて定量したところ、PBP2a の産生量と同様に、*mecA* の発現量が低下している OS-MRSA も存在していたが、OR-MRSA と同程度の *mecA* を発現している株も存在していた。その結果、PBP2a の産生量と *mecA* の発現量は、オキサシリンの MIC との明らかな相関性は見られなかった。

#### 4 - 4 . OS-MRSA のオキサシリン耐性化株の分離

OS-MRSA の ラクタム薬耐性化機構を明らかにするために、26 の代表的な OS-MRSA 株からオキサシリン耐性化した株を合計 100 株分離した。親株とのゲノム比較解析により、合計で 141 の変異を同定した。耐性化株 100 株のうち 70 株が、1 か所の変異をゲノム上に持っていた。4 株が 2 か所の変異を 1 遺伝子内に持っていた。残りの 26 株が複数の変異を複数の遺伝子上または遺伝子間領域に持っていた。96 株が、少なくとも 1 か所のノンシノニマス変異またはフレームシフト変異を持っていた。残りの 4 株は、サイレント変異であった (HP7<sup>T450C</sup>, HP10<sup>C651T</sup>, *guaA*<sup>G1158A</sup>, and *tilsA*<sup>A1287C</sup>)。121 種のノンシノニマス変異は、46 種の遺伝子上に存在していたが、*mecA* 遺伝子を直接制御する *mec* オペロンや *bla* オペロン上には変異が無かった。46 種の変異遺伝子は 13 の機能カテゴリーに分類された。(1) DNA/RNA ポリメラーゼ: *rpoC* (22 変異)、*rpoB* (20 変異)、*dnaE* (1 変異)、(2) プリン合成系: *guaA* (9 変異)、*hprT* (3 変異)、(3) (p)ppGpp 合成系: *rel<sub>Sau</sub>* (4 変異)、*relQ* (1 変異)、(4) タンパク品質管理: *clpP* (6 変異)、*clpX* (3 変異)、*ftsH* (1 変異)、*yjbH* (1 変異)、(5) グリコペプチド系抗菌薬耐性に関与する膜タンパク質: *mprF* (4 変異)、*tcaA* (1 変異)、*vraT* (3 変異)、(6) 解糖系: *fruB* (5 変異)、*fbaA* (2 変異)、*ptsI* (1 変異)、*pykA* (1 変異)、(7) ペントースリン酸代謝経路: *rpiA* (1 変異)、*prs* (5 変異)、(8) tRNA 合成: *thrS* (1 変異)、*rliS* (1 変異)、*gltx* (1 変異)、*lysS* (1 変異)、(9) 葉酸合成: *folC* (1 変異)、(10) ペプチドグリカン合成系: *sgtB* (1 変異)、(11) 転写調節因子: *mraZ* (1 変異)、(12) 細胞外マトリックスタンパク: *ebhA* (1 変異)、(13) 機能未知: HP1-HP18 (27 変異) であった。つまり、OS-MRSA の ラクタム薬耐性化機構は多様であると示唆された。

#### 4 - 5 . オキサシリン耐性化株の *mecA* の耐性化への寄与

オキサシリン耐性化した変異株が最も多く分離され、その変異のバリエーション (24 変異、耐性化株のオキサシリン MIC = 1.5 から 256 µg/mL) が最も多い JMUB217 株を OS-MRSA の代表株とした。初めに *mecA* の過剰発現株を作製したところ、オキサシリンに対する MIC が 0.75 µg/mL

から 12 µg/mL に上昇した。次に、*mecA* の欠損株を作製したところ、オキサシリンに対する MIC が 0.75 µg/mL から 0.38 µg/mL に低下した。また、*mecA* 欠損株に *mecA* 過剰発現株作製時に使用したプラスミドを形質転換させたところ、オキサシリンに対する MIC が 12 µg/mL まで回復した。最後に、オキサシリン耐性化株 3 株 (RpoC<sup>P358L</sup>, RpoB<sup>G645H</sup>, RpoC<sup>G498D</sup>) の *mecA* 欠損株を作製したところ、オキサシリンに対する MIC が 4, 32, 256 µg/mL から 0.38 µg/mL まで低下した。このことから、*mecA* の発現はオキサシリン耐性化に必須であると結論付けた。

#### 4 - 6 . OS-MRSA のオキサシリン耐性化株の PBP2a の産生量と *mecA* の発現量

JMUB217 株のオキサシリン耐性化株 11 株の PBP2a の産生量を PBP2a ラテックス凝集反応法により半定量的に測定した。耐性化株では PBP2a の産生量に大きな違いがみられなかった。次に、*mecA* の発現量を qRT-PCR にて測定した。耐性化株 11 株中 9 株で、1.3 倍から 1.9 倍の *mecA* の発現量の増加がみられた。しかし、この *mecA* の発現量の増加は OR-MRSA と比べても低かった。また、MIC の増加量との強い相関性も見られなかった。

#### 4 - 7 . OS-MRSA のオキサシリン耐性化株のトランスクリプトーム解析

OS-MRSA のオキサシリン耐性化機構を明らかにするために、RNA-seq を用いて JMUB217 株とそのオキサシリン耐性化株 5 株 (JMUB217-7:RpiA<sup>A64E</sup>, JMUB217-11:RpoC<sup>P358L</sup>, JMUB217-18:RpoC<sup>V488G, K673N</sup>, JMUB217-20:RpoB<sup>V1016E, H1042Q</sup>, JMUB217-22:RpoB<sup>Q645H</sup>) のトランスクリプトーム解析を行った。野生株と比較した際に、*rpoC* に変異を持つ 2 株 JMUB217-11 と JMUB217-18 は、217 の発現変動遺伝子 (DEG) を共有しており、64 が上昇、153 が低下していた。同様に *rpoB* に変異を持つ 2 株は、297 の DEG を共有しており、168 が上昇、129 が低下していた。さらに、全 5 耐性化株を比較すると 28 の DEG を共有しており、13 遺伝子が上昇、15 遺伝子が低下していた。共通して発現変動していた遺伝子群は、トリプトファン生合成系 (*trpBDEFG*) が上昇しており、ヌクレオチドトランスポーターや生合成系 (*pyrRP*, *hisIG*) が低下していた。これらの遺伝子群は、(p)ppGpp の合成・分解に関与しており、緊縮応答 (stringent response) が耐性化に関与していると示唆された。さらに、*rpoBC* 変異株では、プリン生合成系 (*xprT*, *purF*, *guaB*) の発現低下が顕著であった。また、耐性化株で変異が同定されたタンパク質品質管理遺伝子 (*clpP*, *clpX*, *ftsH*) や tRNA 生合成遺伝子 (25 種のうち 16 種) の発現低下がみられたことから、これらの遺伝子上の点変異が緊縮応答やラクタム耐性化に寄与している可能性が示唆された。

#### 4 - 8 . OS-MRSA の *rpoBC* 変異株の総 RNA 量

OS-MRSA のオキサシリン耐性化株は、RNA ポリメラーゼ遺伝子 *rpoBC* に変異を持つ株が最も多く分離された。RNA ポリメラーゼの変異が RNA の合成に寄与するかを明らかにするために、JMUB217 株とそのオキサシリン耐性化株 6 株 (JMUB217-7:RpiA<sup>A64E</sup>, JMUB217-13:FruB<sup>A211E</sup>, JMUB217-23:RpoBH929P, JMUB217-22:RpoB<sup>Q645H</sup>, JMUB217-19:RpoC<sup>G950R</sup>, JMUB217-24:RpoC<sup>G498D</sup>) の総 RNA 量を測定した。その結果、*rpoB* と *rpoC* に変異を持つ株の RNA 量が低下していた。つまり、*rpoBC* の変異が RNA 合成低下を引き起こしていると示唆された。

#### 4 - 9 . OS-MRSA のオキサシリン耐性化株のメタボローム解析

OS-MRSA のオキサシリン耐性化株のトランスクリプトーム解析より、ヌクレオチド合成系を含む中心代謝系に発現変動が起きていた。オキサシリン耐性化株の代謝変動を明らかにするために、JMUB217 株とそのオキサシリン耐性化株 6 株 (JMUB217-7:RpiA<sup>A64E</sup>, JMUB217-13:FruB<sup>A211E</sup>, JMUB217-23:RpoBH929P, JMUB217-22:RpoB<sup>Q645H</sup>, JMUB217-19:RpoC<sup>G950R</sup>, JMUB217-24:RpoC<sup>G498D</sup>) から代謝産物を抽出し CE-TOFMS により代謝産物量を測定した。その結果、273 のピークが検出された。耐性化株と親株を比較したところ、*rpoB* と *rpoC* 変異株はすべて、ATP を除くリボヌクレオチド (GTP, CTP, UTP) が蓄積していた。これは、RNA ポリメラーゼ遺伝子の変異が RNA の生合成の減少を引き起こし、その前駆物質であるリボヌクレオチドが蓄積したと考えられた。このことは、リボヌクレオチドプリン生合成系の発現低下がみられた RNA-seq の結果と合致する。さらに、さらに、過剰な UTP が GlcNAc と結合した UDP-GlcNAc 等が細胞内に蓄積していた。UDP-GlcNAc は細胞壁の前駆体であるため、この蓄積がラクタム耐性に寄与することが推測された。本研究により、OS-MRSA のラクタム暴露による耐性化機構の一端が明らかになった。

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 1件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Boonsiri Tanit, Watanabe Shinya, Tan Xin-Ee, Thitiananpakorn Kanate, Narimatsu Ryu, Sasaki Kosuke, Takenouchi Remi, Sato 'o Yusuke, Aiba Yoshifumi, Kiga Kotaro, Sasahara Teppei, Taki Yusuke, Li Feng-Yu, Zhang Yuancheng, Azam Aa Haeruman, Kawaguchi Tomofumi, Cui Longzhu	4. 巻 10
2. 論文標題 Identification and characterization of mutations responsible for the $\beta$ -lactam resistance in oxacillin-susceptible mecA-positive <i>Staphylococcus aureus</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 16907
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-73796-5	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Kiga Kotaro, Tan Xin-Ee, Ibarra-Chavez Rodrigo, Watanabe Shinya, Aiba Yoshifumi, Sato 'o Yusuke, Li Feng-Yu, Sasahara Teppei, Cui Bintao, Kawauchi Moriyuki, Boonsiri Tanit, Thitiananpakorn Kanate, Taki Yusuke, Azam Aa Haeruman, Suzuki Masato, Penad's Jos? R., Cui Longzhu	4. 巻 11
2. 論文標題 Development of CRISPR-Cas13a-based antimicrobials capable of sequence-specific killing of target bacteria	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2934
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-16731-6	査読の有無 有
オープンアクセス 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 該当する

1. 著者名 Thitiananpakorn Kanate, Aiba Yoshifumi, Tan Xin-Ee, Watanabe Shinya, Kiga Kotaro, Sato 'o Yusuke, Boonsiri Tanit, Li Feng-Yu, Sasahara Teppei, Taki Yusuke, Azam Aa Haeruman, Zhang Yuancheng, Cui Longzhu	4. 巻 10
2. 論文標題 Association of mprF mutations with cross-resistance to daptomycin and vancomycin in methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 16107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-73108-x	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Aiba Yoshifumi, Watanabe Shinya, Tsukahara Rieko, Umemoto Naoka, Thitianapakorn Kanate, Boonsiri Tanit, Li Feng-Yu, Kiga Kotaro, Sato 'o Yusuke, Tan Xin-Ee, Taki Yusuke, Azam Aa Haeruman, Zhang Yuancheng, Sasahara Teppei, Demitsu Toshio, Cui Longzhu	4. 巻 9
2. 論文標題 Complete Genome Sequence of a Pantone-Valentine Leukocidin-Negative Staphylococcus aureus Strain Isolated from a Patient with Pervasive Necrotizing Soft Tissue Infection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00295-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.00295-20	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Watanabe Shinya, Cui Bintao, Kiga Kotaro, Aiba Yoshifumi, Tan Xin-Ee, Sato 'o Yusuke, Kawauchi Moriyuki, Boonsiri Tanit, Thitianapakorn Kanate, Taki Yusuke, Li Fen-Yu, Azam Aa Haeruman, Nakada Yumi, Sasahara Teppei, Cui Longzhu	4. 巻 10
2. 論文標題 Composition and Diversity of CRISPR-Cas13a Systems in the Genus Leptotrichia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 2838
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2019.02838	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Tulyeu, Kumagai, Jimbo, Watanabe, Yokoyama, Cui, Osaka, Mieno, Yamagata	4. 巻 7
2. 論文標題 Probiotics Prevents Sensitization to Oral Antigen and Subsequent Increases in Intestinal Tight Junction Permeability in Juvenile/Young Adult Rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microorganisms	6. 最初と最後の頁 463 ~ 463
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/microorganisms7100463	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

〔学会発表〕 計10件(うち招待講演 1件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 瀧 雄介, 渡邊 真弥, 佐藤 祐介, 李 峰宇, Kanate Thitianapakorn, XinEe Tan, 相羽 由詞, 氣駕 恒太郎, 笹原 鉄平, 崔 龍洙.
2. 発表標題 毒素性ショック症候群を発症した黄色ブドウ球菌の毒素産生制御機構の解明.
3. 学会等名 日本細菌学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西川 裕太郎, 氣駕 恒太朗, 渡邊 真弥, XinEe Tan, 鈴木 貴子, 下條 誉幸, 崔 龍洙
2. 発表標題 CRISPR-Cas13 を用いた細菌遺伝子検査用抗菌カプシドの作製条件の最適化.
3. 学会等名 日本細菌学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 李 峰宇, 氣駕 恒太朗, Xin-Ee Tan, 渡邊 真弥, 佐藤 祐介, 相羽 由詞, Kanate Thitianapakorn, 瀧 雄介, 笹原 鉄平, 崔 龍洙
2. 発表標題 Generation of phagemid-based CRISPR-Cas13 antimicrobials against MRSA.
3. 学会等名 日本細菌学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shinya Watanabe, Tanit Boonsiri, Kanate Thitianapakorn, Yusuke Sato 'o, Yoshifumi Aiba, Kotaro Kiga, Teppei Sasahara, Moriyuki Kawauchi, Aa Haeruman Azam, Feng-Yu Li, XinEe Tan and Longzhu Cui.
2. 発表標題 Genetic mechanisms of high-level $\beta$ -lactam-resistance in the mutants derived from oxacillin-susceptible mecA positive <i>Staphylococcus aureus</i> .
3. 学会等名 Staphylococcal Diseases, Gordon Research Conference 2019. (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡邊 真弥, Tanit Boonsiri, Kanate Thitianapakorn, XinEe Tan, 相羽 由詞, 佐藤 祐介, 氣駕 恒太朗, 瀧 雄介, 笹原 鉄平, 崔 龍洙
2. 発表標題 Oxacillin 感性 mecA 陽性黄色ブドウ球菌の $\beta$ -ラクタム薬 in vitro 高度耐性化機構の解析.
3. 学会等名 第93回 日本細菌学会総会.
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 瀧 雄介, 渡邊 真弥, 佐藤 祐介, 李 峰宇, Kanate Thitianapakorn, Tanit Boonsiri, 相羽 由詞, 氣鷲 恒太朗, 笹原 鉄平, 崔 龍洙
2. 発表標題 毒素性ショック症候群を発症した黄色ブドウ球菌の毒素産生制御機構の解明
3. 学会等名 第93回 日本細菌学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 ○Tanit Boonsiri, 渡邊真弥, Kanate Thitianapakorn, 佐藤祐介, 相羽由詞, 氣鷲恒太朗, 笹原鉄平, 李峰宇, Xin Ee Tan, 崔龍洙
2. 発表標題 Genetic Analysis of Highly $\beta$ -lactam-resistant Mutants Generated from OS-MRSA
3. 学会等名 第92回 日本細菌学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 毒素性ショック症候群を発症した黄色ブドウ球菌の毒素産生制御機構の解明
2. 発表標題 ○瀧雄介, 渡邊真弥, 佐藤祐介, 李峰宇, Kanate Thitianapakorn, Tanit Boonsiri, 相羽由詞, 氣鷲恒太朗, 崔龍洙
3. 学会等名 第92回 日本細菌学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 ○渡邊真弥, 李峰宇, 氣鷲恒太朗, 相羽由詞, 佐藤祐介, Xin Ee Tan, 河内護之, Tanit Boonsiri, Kanate Thitianapakorn, 崔龍洙
2. 発表標題 緑膿菌に広く感染するファージの分離・同定
3. 学会等名 第92回 日本細菌学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡邊真弥
2. 発表標題 試験管内で選択したカナマイシン耐性結核菌のマウスに対する病原性解析
3. 学会等名 第92回 細菌学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	相羽 由詞  (Aiba Yoshifumi)  (60783694)	自治医科大学・医学部・助教    (32202)	

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
---------	---------