

令和 5 年 6 月 17 日現在

機関番号：13801

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19214

研究課題名（和文）単一細菌を用いた抗菌活性測定法の開発と抗菌ペプチドの抗菌メカニズム解明への応用

研究課題名（英文）Development of single-cell analysis of the antimicrobial and bactericidal activities of the antimicrobial peptides and its application

研究代表者

山崎 昌一（YAMAZAKI, Masahito）

静岡大学・電子工学研究所・教授

研究者番号：70200665

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：単一細菌レベルでの抗菌ペプチド(AMP)や抗菌剤の抗菌活性および殺菌活性の測定法（単一細胞解析法）を開発し、AMPの殺菌活性のメカニズムの解明に応用した。この方法では、1個の細胞が増殖して形成するマイクロコロニー中の細胞数の時間変化を測定する。方法Aでは、種々の濃度のAMP存在下で単一細胞を増殖させ、1個の細胞しかないマイクロコロニーの割合 P_{single} のAMP濃度依存性を求め、MICを決定する。方法Bでは、AMPと細菌を一定時間相互作用させたのちに、AMPを除いて単一細胞の増殖を観測する。死んだ細胞の割合を意味する $P_{single}(t)$ を測定して、1個の細胞の死に必要な相互作用の時間を求める。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来の抗菌活性や殺菌活性は、たくさんの細菌細胞の懸濁液を用いる方法（最小発育阻止濃度（MIC）や最小致死濃度（MBC）の測定、タイム-キル・アッセイなど）により、たくさんの細胞の応答の平均値の測定から評価されてきた。最近では、1個の細菌細胞とAMPの相互作用の研究もおこなわれるようになり、単一細胞レベルでの抗菌活性や殺菌活性の測定法が必要になってきた。本研究で開発された単一細胞解析法は、単一細胞レベルでのAMPや抗菌剤の抗菌活性および殺菌活性の解析が可能であるので、1個の細胞とAMPの相互作用の研究と組み合わせることにより、AMPの殺菌活性のメカニズムの解明など今後の発展に期待できる。

研究成果の概要（英文）：We have developed a novel method to examine the antimicrobial and bactericidal activities of antimicrobial peptides (AMPs) and antibiotics at the single-cell level (i.e., single-cell analysis), and apply this method to examine the mechanism of AMPs' bactericidal activity. In this method, we monitor the proliferation of single cells on agar in a chamber and measure the distribution of the number of cells in each microcolony. In Method A, we incubate cells in the presence of various concentrations of AMPs for 3 h. AMP concentration dependence of the fraction of microcolonies containing only a single cell, P_{single} , provides the minimum inhibitory concentration. In Method B, after the interaction of a cell suspension with an AMP for a specific time, an aliquot is diluted to stop the interaction, and the proliferation of single cells then is monitored after 3-h incubation. The information of $P_{single}(t)$ provides the fraction of dead cells after the interaction time t of AMPs with the cells.

研究分野：生体膜の生物物理学

キーワード：抗菌ペプチド 単一細胞解析 抗菌活性 殺菌活性 抗菌剤 細胞膜損傷 ポア形成

1. 研究開始当初の背景

生物が産生するペプチドで細菌などの微生物の増殖の抑制や微生物を殺す活性を持つ抗菌ペプチド(AMP)の抗菌活性や殺菌活性を測定するためには、種々の抗菌剤の活性の測定と同様に、最小発育阻止濃度(MIC)や最小致死濃度(MBC)の測定、あるいはタイム-キル・アッセイ(Time-kill kinetics assay)などが使用されている。MICやMBCは、細菌と種々の濃度の抗菌物質を混合し、24時間インキュベーションした後の吸光度(細菌による光散乱)を測定して求める。タイム-キル・アッセイは細菌とある濃度の抗菌物質を混合し、ある時間間隔で少量の懸濁液を取り出して、そのコロニー形成単位(CFU)(目で見たコロニー数から導出)を24~48時間後に測定する。これらの従来の抗菌活性や殺菌活性の測定法は、多くの細胞の懸濁液を用いるので、多くの細菌の応答の平均値の測定のみが測定できる。また、24時間以上の長時間の測定が必要である。最近は、1個の細菌とAMPの相互作用の研究もおこなわれるようになり、単一細胞レベルでの抗菌活性や殺菌活性の測定法が必要になってきた。

単一細菌レベルでの代謝や成長などの研究により、細菌の集団を用いた研究ではわからなかったことが明らかになりつつある。我々は、1個の細菌とAMPの相互作用を研究し、抗菌ペプチドが誘起する細胞膜の損傷が細菌によって大きく異なる挙動をすることを見出した。しかし、AMPによる細胞膜の損傷と細胞の死の相関を示す直接的な実験結果は得られていない。本研究ではこれらの問題を解明するために、単一細菌レベルでの抗菌活性測定法を新しく開発し、AMPの抗菌メカニズムの解明を目指した。

2. 研究の目的

本研究では上記の問題を解明するために、単一細菌レベルでのAMPや抗菌剤の抗菌活性や殺菌活性の測定法(単一細菌解析法)を新しく開発し、その測定法を用いてAMPの抗菌活性や殺菌活性のメカニズムの解明を行うことを目的としている。

3. 研究の方法

(1) AMPや抗菌剤の抗菌活性や殺菌活性の単一細菌解析法

スライドガラス上のチャンパー(シリコンゴム中に小さな孔をあけて寒天培地をいれたもの)の上部に細菌の懸濁液をのせ、カバーガラスをかぶせて37°Cでインキュベーションを行い、細菌の成長を光学顕微鏡で観測する。1個1個の細胞がある程度の距離を置いて寒天培地上に存在し、1個のチャンパーに100~200個の細胞が存在するように細胞密度を制御した。インキュベーション時間が増加するにつれて、細胞が分裂して増殖し、1個の細菌細胞からスタートして増殖した細胞は元の細胞の近くに局在してマイクロコロニーを形成する。マイクロコロニーごとの細胞数はある分布をするが、その時間変化を光学顕微鏡で測定する。抗菌活性や殺菌活性の単一細菌解析法は以下の2つの方法がある。

<方法A>(抗菌活性測定法)種々の濃度のAMPや抗菌剤と一緒に1個の細菌細胞を上記の方法で3時間培養し、マイクロコロニーごとの細胞数の分布を測定して、それぞれのAMPや抗菌剤の濃度の関数として細胞数の分布を求める。

<方法B>(殺菌活性測定法)細菌の懸濁液中で種々の濃度のAMPや抗菌剤と細菌をある一定時間相互作用させた後で、抗菌活性がない程度まで十分に希釈し、1個の細菌細胞を上記の方法で3時間培養し、マイクロコロニーごとの細胞数の分布を測定して、相互作用の時間の関数とし

て細胞数の分布を求める。

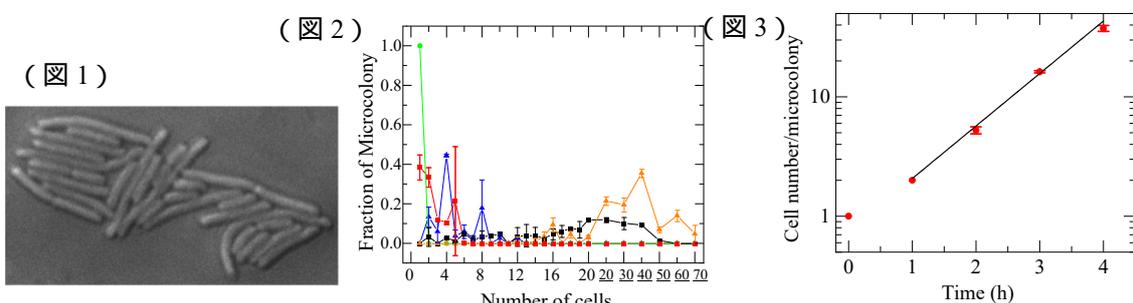
(2) AMP と巨大リボソーム (GUV) の相互作用

単一 GUV 法を用いて AMP・マガイニン 2 (Mag)とジオレオイルホスファチジルグリセロール(DOPG) / ジオレオイルホスファチジルコリン(DOPC) 膜や大腸菌由来の脂質 (*E. coli* polar lipids) の GUV との相互作用を 150 mM NaCl を含む緩衝液中で行った (*Phys. Chem. Chem. Phys.*, 16, 15752, 2014; *Biophys. Rev.* 11, 431, 2019)。Mag は通常の条件では DOPG/DOPC-GUV の膜中にナノポアを形成する。浸透圧下や大腸菌脂質の GUV との相互作用の結果 GUV の破裂が起こった場合は、その時の GUV 膜の構造変化を高い時間分解能で測定するために、蛍光ラベルされた脂質(NBD-PE)を膜に含ませ、GUV 膜の蛍光像を 5–10 ms の時間分解能で観測した。

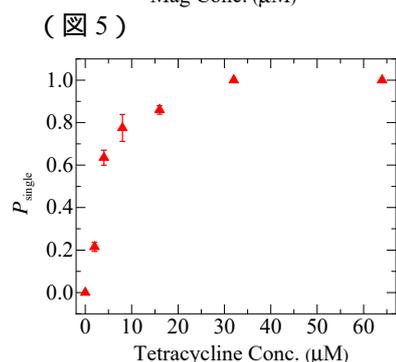
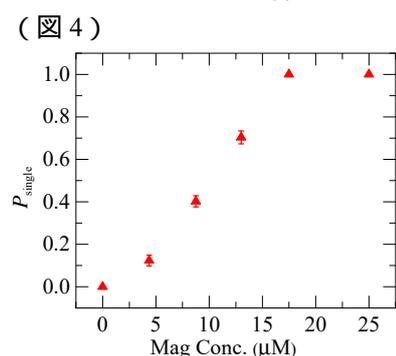
4. 研究成果

(1) AMP や抗菌剤 の抗菌活性や殺菌活性の単一細胞レベルでの解析法 (単一細菌解析法) の開発

まず、1 個の大腸菌細胞を上記の方法で培養して、図 1 のようなマイクロコロニーごとの細菌数の時間変化を測定した。その数は幅の広い分布をした (図 2: (緑●) 0 h, (赤■) 1 h, (青▲) 2 h, (黒■) 3 h, (橙▲) 4 h)。この結果は、細胞の世代時間が平均値から揺らいていることを示す。一方、すべてのマイクロコロニーの細菌数の平均値 $N(t)$ の時間変化 (図 3) から、 $N(t) = 2^{t/\tau}$ を用いて世代時間 τ を求めた。その値は、懸濁液の細菌の増殖曲線の解析から得られた世代時間とほぼ一致した。

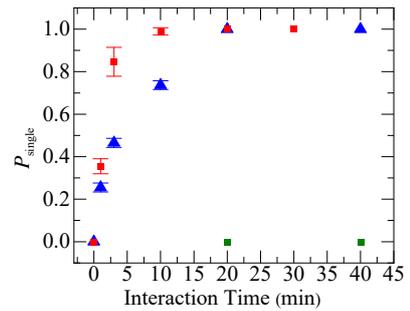


次に方法 A (抗菌活性測定法) を用いて、種々の濃度の AMP・マガイニン 2 (Mag) 存在下の大腸菌細胞を上記の方法で 3 時間培養したのちに、マイクロコロニーごとの細菌数の分布を測定した。1 個の細胞しか持たないマイクロコロニーの割合 (P_{single}) は、Mag の濃度とともに増加し、ある濃度以上で $P_{\text{single}} = 1$ となった (図 4)。この濃度は単一細菌解析法における MIC に相当し、この値は標準の MIC 測定法から求めた値とほぼ一致した。次に抗菌剤のテトラサイクリンと大腸菌の相互作用をこの方法 A を用いて調べた。 P_{single} は、テトラサイクリンの濃度とともに増加し、ある濃度以上で $P_{\text{single}} = 1$ となった (図 5)。 $P_{\text{single}} = 1$ より MIC を求めたが、この値は標準の MIC 測定法から求めた値とほぼ一致した。



次に方法 B (殺菌活性測定法) を用いて、種々の濃度の Mag と大腸菌を懸濁液中である時間相互作用させてから、十分に希釈して、それを上記の方法で 3 時間培養した。細菌が Mag との相互作用で死んでいる場合は希釈した後でも増殖ができないが、Mag 存在下で増殖が止まっただけでは、希釈後にまた増殖が起こると考えられる。Mag との相互作用の時間が増加するにつれて P_{single} は増加し、やがて 1 に達した (図 6: 赤■ と青▲)。この方法 B では、 P_{single} は死んだ細胞の割合を意味し、 $P_{\text{single}} = 1$ はすべての細胞が死んだことを示している。 P_{single} の相互作用時間依存性を測定して、1 個の細胞の死に必要な相互作用の時間を求めた。一方、テトラサイクリンでは 40 分相互作用させても $P_{\text{single}} = 0$ であり (図 6: 緑■)、殺菌活性がないことが分かった。

(図 6)



これらの結果は、新しく開発した単一細胞レベルでの抗菌活性および殺菌活性の測定法が有効で、単一細胞レベルでの殺菌のメカニズムの解明に応用できることを示している (*Microbiol. Spectr.*, 10, 00114-22, 2022)。

(2) AMP による細菌の細胞膜の損傷と細胞死の相関

3 種類の AMP について、AMP との相互作用により 1 個の大腸菌細胞の細胞膜にポア形成などの損傷が起こる確率 $P_{\text{damage}}(t)$ を実験的に求め、それが上記の単一細菌解析・方法 B から求めた AMP による大腸菌の細胞死の起こる確率 $P_{\text{single}}(t)$ と高い相関があることを見出した。この結果は、AMP が誘起する細胞膜の損傷が細胞死の原因であることを直接示す (論文は現在投稿中)。

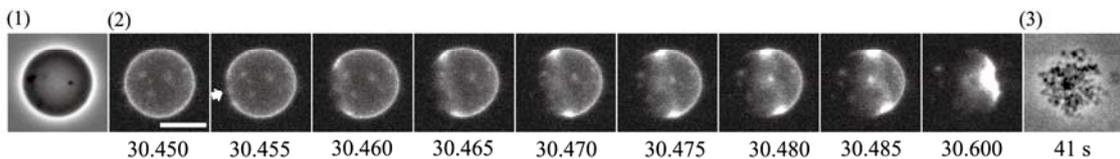
(3) 膜張力が AMP・マガニン 2 によるポア形成とその時間発展に与える効果

AMP のポア形成に対する膜張力の効果の研究は、そのポア形成のメカニズムやポアの特性を明らかにするために重要である (*Biophys. Rev.* 11, 431, 2019)。従来は、マイクロピペットを用いて巨大リポソーム (GUV) に膜張力を与え、その GUV と AMP の相互作用によるポア形成が研究されてきた (*Langmuir*, 31, 3391, 2015)。しかし、ポア形成と同時に GUV がマイクロピペット内に吸引され、十分な情報が得られなかった。最近、生理的な濃度のイオンを含む緩衝液中の GUV に浸透圧をかけたときに、GUV 膜にかかる張力を実験的に求めることに我々は成功し、その張力の値が理論から求められる値と実験誤差範囲内で一致することが分かった (*J. Phys. Chem. B*, 124, 5588, 2020)。本研究ではその方法を用いて、浸透圧による膜張力が AMP の Mag によるポア形成にどのような効果を持つかを研究した。そのために DOPG/DOPC (4/6)-GUV と Mag の相互作用を単一 GUV 法により測定した。浸透圧による膜張力が增大するにつれて、Mag によるポア形成の速度定数 k_p は増大した。膜張力が大きいときは、GUV が破裂することもあった。その GUV の破裂の詳細な過程を調べるために、GUV の膜に蛍光ラベルした脂質 (NBD-PE) を少量添加し、Mag によるポア形成から GUV 破裂までの膜中のポアサイズの変化や GUV の形態変化を 10 ms の時間分解能で観測した。ポアが形成された後の約 100 ms の間は GUV の直径が変化せずポアの直径だけが增大し、その後ポアの縁の膜厚が増大して、最後に膜の凝集体に変化することが明らかになった。また、浸透圧下の GUV と Mag の相互作用による膜の面積増加率を測定し、その他の実験結果も併せて、GUV の内側単分子膜の膜張力 σ_m を評価した。その結果、 σ_m が增大するにつれて、 k_p が増大することが明らかになった。以上の結果に基づいて、膜の張力が Mag のポア形成やそのポア構造の時間変化に与える効果を議論した (*Phys. Chem. Chem. Phys.*, 24, 6716, 2022)。

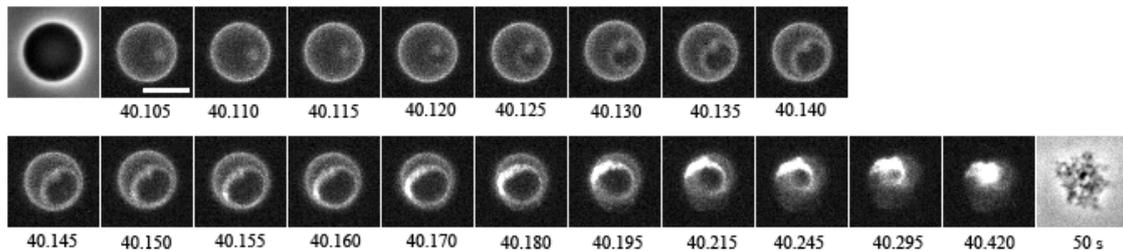
(4) AMP・マガニン2が誘起する大腸菌脂質のGUVの破裂

MagはDOPG/DOPC-GUVと相互作用によりナノサイズのポア(ナノポア)を形成する。本研究では、大腸菌の細胞膜から抽出された脂質(*E. coli* polar lipids: PE/PG/カルジオリピン=67/23/10 (wt%))(以後は大腸菌脂質と略)のGUVとMagの相互作用を等張(浸透圧がかかっていない)の条件で単一GUV法により研究した。Magは大腸菌脂質のGUVの破裂を誘起し、GUVは膜の凝集体に変化した。GUVの破裂の速度定数はMagの濃度とともに増大した。そのGUVの破裂の詳細な過程を調べるために、GUVの膜に蛍光ラベルした脂質(NBD-PE)を少量添加し、Magによるポア形成からGUV破裂までの膜中のポアサイズの変化やGUVの形態変化を5msの時間分解能で観測した。最初は、GUVの膜中に小さなポアが形成され(図7Aの白い矢印が示す膜上の小さな蛍光がない場所)、その後約50msの間はGUVの直径が変化せずにポアの直径だけが増大し、その後ポアの縁の膜厚が増大して、最後に膜の凝集体に変化することが明らかになった(図7A, 7B)。

(図7A)



(図7B)



蛍光ラベルしたMagを用いた実験より、GUVが破裂する直前までMagはGUVの外側の単分子膜のみに存在することが分かった。また、Magとの相互作用によるGUV膜の面積変化率は増大した。GUV膜の弾性率やその他の実験結果も併せて、GUVの内側単分子膜の膜張力 σ_{in} を評価した。さらに、一定張力によるGUVのポア形成(破裂)の実験を行い、破裂の速度定数と張力の関係を求めた。以上の結果を用いて、Magが誘起する大腸菌脂質のGUVの破裂やポア形成のメカニズムを議論した(*BBA-Biomembr.* 1865, 184112, 2023)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hossain Farzana, Billah Md Masum, Yamazaki Masahito	4. 巻 10
2. 論文標題 Single-Cell Analysis of the Antimicrobial and Bactericidal Activities of the Antimicrobial Peptide Magainin 2	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microbiology Spectrum	6. 最初と最後の頁 00114-22
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/spectrum.00114-22	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 Hasan Moynul, Hossain Farzana, Dohra Hideo, Yamazaki Masahito	4. 巻 630
2. 論文標題 Role of interfacial hydrophobicity in antimicrobial peptide magainin 2-induced nanopore formation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 50 ~ 56
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2022.08.094	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Billah Md. Masum, Or Rashid Md. Mamun, Ahmed Marzuk, Yamazaki Masahito	4. 巻 1865
2. 論文標題 Antimicrobial peptide magainin 2-induced rupture of single giant unilamellar vesicles comprising E. coli polar lipids	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes	6. 最初と最後の頁 184112 ~ 184112
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbamem.2022.184112	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tazawa Kanta, Yamazaki Masahito	4. 巻 158
2. 論文標題 Effect of monolayer spontaneous curvature on constant tension-induced pore formation in lipid bilayers	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 081101 ~ 081101
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1063/5.0135561	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hossain Farzana, Dohra Hideo, Yamazaki Masahito	4. 巻 203
2. 論文標題 Effect of Membrane Potential on Entry of Lactoferricin B-Derived 6-Residue Antimicrobial Peptide into Single Escherichia coli Cells and Lipid Vesicles	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Bacteriology	6. 最初と最後の頁 e00021-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JB.00021-21	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ali Md. Hazrat, Shuma Madhabi Lata, Dohra Hideo, Yamazaki Masahito	4. 巻 1863
2. 論文標題 Translocation of the nonlabeled antimicrobial peptide PGLa across lipid bilayers and its entry into vesicle lumens without pore formation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes	6. 最初と最後の頁 183680
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbamem.2021.183680	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Achadu Ojodomo J., Abe Fuyuki, Hossain Farzana, Nasrin Fahmida, Yamazaki Masahito, Suzuki Tetsuro, Park Enoch Y.	4. 巻 193
2. 論文標題 Sulfur-doped carbon dots@polydopamine-functionalized magnetic silver nanocubes for dual-modality detection of norovirus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biosensors and Bioelectronics	6. 最初と最後の頁 113540
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bios.2021.113540	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Moghal Md. Mizanur Rahman, Shuma Madhabi Lata, Islam Md. Zahidul, Yamazaki Masahito	4. 巻 2083
2. 論文標題 A Single GUV Method for Revealing the Action of Cell-Penetrating Peptides in Biomembranes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell-Penetrating Peptides: Methods and Protocols, third edition, Methods in Molecular Biology, Springer-Nature	6. 最初と最後の頁 167 ~ 179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-1752-6_11	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Billah Md. Masum, Saha Samiron Kumar, Or Rashid Md. Mamun, Hossain Farzana, Yamazaki Masahito	4. 巻 24
2. 論文標題 Effect of osmotic pressure on pore formation in lipid bilayers by the antimicrobial peptide magainin 2	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Physical Chemistry Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 6716 ~ 6731
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D1CP05764B	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 7件)

1. 発表者名 Farzana Hossain, Hideo Dohra, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Effect of membrane potential on entry of lactoferricin B-derived antimicrobial peptide into single bacterial cells and lipid vesicles
3. 学会等名 World Microbe Forum (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Md. Hazrat Ali, Madhabi Lata, Shuma, Hideo Dohra, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Translocation of the nonlabeled antimicrobial peptide PGLa across lipid bilayers and its entry into vesicle lumen without pore formation
3. 学会等名 2021 (20th) International Biophysics Congress (IUPAB) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Farzana Hossain, Hideo Dohra, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Effect of membrane potential on entry of lactoferricin B-derived antimicrobial peptide into single bacterial cells and lipid vesicles
3. 学会等名 2021 (20th) International Biophysics Congress (IUPAB) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Modes of action of antimicrobial peptides revealed by the single giant unilamellar vesicle method and single cell experiments
3. 学会等名 日本生物物理学会第59回年次大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Md. Masum Billah, Samiron Kumar Saha, Md. Mamun Or Rashid, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Effect of osmotic pressure on antimicrobial peptide magainin 2-induced pore formation in giant unilamellar vesicles
3. 学会等名 日本生物物理学会第59回年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Md. Hazrat Ali, Madhabi Lata, Shuma, Hideo Dohra, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Entry of nonlabeled antimicrobial peptide PGLa into giant unilamellar vesicle lumen without pore formation
3. 学会等名 日本生物物理学会第59回年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Farzana Hossain, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Minimum interaction time for bactericidal activity of antimicrobial peptides
3. 学会等名 日本生物物理学会第59回年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Farzana Hossain, Hideo Dohra, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Effect of membrane potential on entry of lactoferricin B-derived antimicrobial peptide into single bacterial cells and lipid vesicles
3. 学会等名 The 6th International Symposium on Biomedical Engineering (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Farzana Hossain, Hideo Dohra, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Effect of membrane potential on entry of lactoferricin B-derived antimicrobial peptide into single bacterial cells and lipid vesicles
3. 学会等名 The 8th International Symposium toward the Future of Advanced Research of Shizuoka University (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Farzan Hossain, Md. Mizanur Rahman Moghal, Md. Mamun Or Rashid, Md. Zahidul Islam, and Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Effect of membrane potential on action of cell-penetrating peptides and antimicrobial peptides in single giant unilamellar vesicles and single bacterial cells
3. 学会等名 令和3年度生体医歯工学共同拠点 成果報告会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 丹波之宏、杉田直哉、寺田美花、山崎昌一
2. 発表標題 緑茶由来フラボノイドにより誘起される巨大単一膜ベシクルの破裂の張力による阻害
3. 学会等名 令和3年度生体医歯工学共同拠点 成果報告会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Farzana Hossain, Md. Masum Billah, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Single-cell analysis of the antimicrobial and bactericidal activities of the antimicrobial peptide magainin 2
3. 学会等名 The 7th International Symposium on Biomedical Engineering (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Md. Masum Billah, Samiron Kumar Saha, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Effect of osmotic pressure on antimicrobial peptide magainin 2-induced pore formation and its evolution
3. 学会等名 The 7th International Symposium on Biomedical Engineering (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Farzana Hossain, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Single cell analysis for antimicrobial and bactericidal activities of antimicrobial peptides
3. 学会等名 日本生物物理学会第60回年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Md. Masum Billah, Samiron Kumar Saha, Md. Mamun Or Rashid, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Antimicrobial peptide magainin 2-induced pore formation and its evolution in single GUVs under osmotic pressure
3. 学会等名 日本生物物理学会第60回年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kanta Tazawa, Junichi Higuchi, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Effect of lipid composition and distribution on constant tension-induced pore formation in GUVs
3. 学会等名 日本生物物理学会第60回年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Md. Zahidul Islam, Farzan Hossain, Masahito Yamazaki
2. 発表標題 Single-cell analysis of the antimicrobial and bactericidal activities of the antimicrobial peptides
3. 学会等名 令和4年度生体医歯工学共同拠点 成果報告会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 丹波之宏、杉田直哉、寺田美花、山崎昌一
2. 発表標題 緑茶由来フラボノイドにより誘起される巨大単一膜ベシクルの膜面積の減少とその解析
3. 学会等名 令和4年度生体医歯工学共同拠点 成果報告会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

山崎研究室（静岡大学電子工学研究所）生体膜のイメージングからメカニズムへ
<https://wpp.shizuoka.ac.jp/masahito-yamazaki-la/>

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

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