

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 9 月 15 日現在

機関番号：32651

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2015

課題番号：24780079

研究課題名(和文)細胞外分子シャペロンの新たな機能と病原細菌のバイオフィーム形成機構

研究課題名(英文) Novel extracellular function of molecular chaperones and mechanisms of biofilm formation in pathogenic bacteria

研究代表者

杉本 真也 (SUGIMOTO, SHINYA)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：60464393

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：細胞質でタンパク質の品質管理を担う分子シャペロンClpBおよびDnaKは、黄色ブドウ球菌の細胞外マトリクスにも含まれ、バイオフィームの形成を正に制御する。ClpBは6量体リング構造を形成し、凝集した基質タンパク質の脱凝集を担うが、菌体外ではこれらの生理構造・機能とは全く異なる様式でバイオフィーム形成に関与することを見出した。これら分子シャペロンの機能を抗体や低分子化合物を用いて阻害することで、バイオフィーム形成や薬剤寛容性の菌の出現を抑制できることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Molecular chaperones play key roles in protein quality control in the cell. We found that cytoplasmic molecular chaperones ClpB and DnaK are incorporated into extracellular matrixes of *Staphylococcus aureus* and are involved in biofilm development. We here report that extracellularly excreted ClpB promotes biofilm formation in an oligomerization- and disaggregation activity-independent manner. Inhibition of these molecular chaperones using antibodies or small compounds leads to prevention of biofilms and persists. These findings provide a novel mechanistic insight into molecular chaperones as well as a therapeutic strategy for chronic infectious diseases.

研究分野：微生物学

キーワード：バイオフィーム 分子シャペロン ClpB DnaK マトリクス 黄色ブドウ球菌 抗体 阻害剤

1. 研究開始当初の背景

バイオフィームは微生物により形成される膜状の構造体であり、医療の現場では、生体組織やカテーテルなどの医療器具の表面に形成される。バイオフィームを形成する病原細菌のなかでも黄色ブドウ球菌は、ヒトに種々の化膿性疾患・肺炎・腸炎・心内膜炎などを引き起こし、主要な院内感染菌として重要視されている。バイオフィーム内部の細菌は抗菌剤や免疫系・食細胞系の働きに高度の耐性を示すため(図1左)、バイオフィームに関連する感染症(バイオフィーム感染症)は慢性化・難治化の一途をたどることが多い。現代社会において、黄色ブドウ球菌などの病原細菌によって引き起こされるバイオフィーム感染症の的確な予防法・治療法の開発は喫緊の課題である。

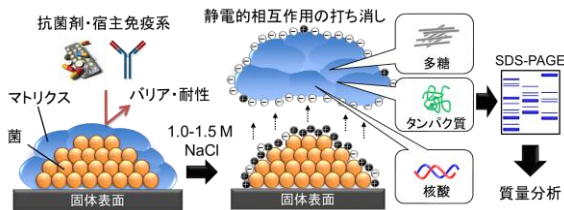


図1. バイオフィームの概念図とマトリクスの単離・解析法

2. 研究の目的

黄色ブドウ球菌のバイオフィームは菌体とそれを包み込むマトリクスにより構成される。マトリクスの成分としては細胞外多糖、タンパク質、DNA が含まれ、生育環境や遺伝的背景の違いによってマトリクスの成分が異なることが知られている。マトリクスを構成するタンパク質は、黄色ブドウ球菌バイオフィーム感染症に対するワクチン開発に利用できると考えられるが、その実態は全くわかっていなかった。これまでに我々は、黄色ブドウ球菌のバイオフィームマトリクス構成タンパク質に関する網羅的解析(図1)と、生化学的・細胞生物学的手法を用いた多面的なアプローチにより、「細胞外において黄色ブドウ球菌のバイオフィーム形成を促進する」という分子シャペロン(ClpB および DnaK)の新しい機能を見出した。本研究では、この知見をさらに発展させ、病原細菌のバイオフィーム形成メカニズムと分子シャペロンに関わる新たなパラダイムの発見への道を開き、それを基盤としたバイオフィーム感染症に対する新たな予防法・治療法の糸口をつかむことを目的とする。

3. 研究の方法

(1) AAA⁺型脱凝集シャペロン ClpB の機能

分子シャペロン ClpB は AAA⁺(ATPase associated with diverse cellular activities)ファミリータンパク質の一種であり、熱変性などにより凝集した基質タンパク質を脱凝集する。分子内に ATP の加水分解を担うドメインを2つ有し(D1 と D2)、6量体のリング構造を形成することが、生理機能に極めて重要である(図2)。また、D1 と D2 の間に存在する Middleドメインが他の AAA⁺タンパク質には存在しない ClpB に特異的な構造であり、脱凝集活性に必須である。

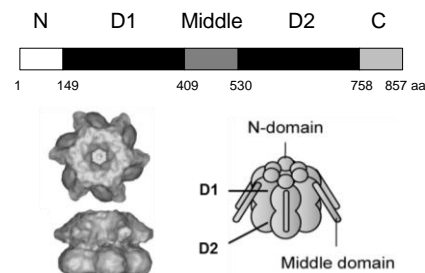


図2. ClpB の構造(Lee et al. Cell 2003 を改変)

通常、分子シャペロンは細胞内で機能するため、単純な遺伝学的手法(遺伝子破壊によるフェノタイプの変化の観察)では、細胞内の様々な生理機能にも影響を及ぼしてしまい、細胞外での機能だけを明らかにすることは困難である。そこで本研究では、(i) 精製したタンパク質をバイオフィーム形成能の低い黄色ブドウ球菌株の培養液に添加することで、バイオフィーム形成の変化を調べる、(ii) 様々な変異体の解析により、ClpB の脱凝集活性や6量体構造の重要性を調べるという2通りのアプローチにより、細胞外 ClpB の機能を評価した。(ii)に関して具体的には、N 末端ドメイン欠損(Δ N)、C 末端領域欠損(Δ C)、Middleドメイン欠損(Δ M)、MiddleドメインからC末端領域の欠損(1-409)、D2 からC末端領域の欠損(1-567)、NドメインからMドメインの欠損(551-857)変異体を用いた。

(2) 細胞外 ClpB の局在

ClpB の細胞外での局在を可視化することは、バイオフィーム形成における ClpB の役割を知る上で重要である。そこで、黄色ブドウ球菌由来の ClpB を組換えタンパク質として発現・精製し、それを抗原としてウサギ抗 ClpB 抗血清を作製した。プロテイン A カラムを用いて、得られた抗血清に含まれる IgG を精製した。その後、間接蛍光抗体法や液中での電顕観察が可能な大気圧走査電子顕微鏡(ASEM)を用いた免疫電顕法により、細胞表面での ClpB の局在を解析した。免疫電顕を行うに当たって、黄色ブドウ球菌が細胞壁に発現する Spa や Sbi(いずれも IgG の Fc 部分に結合する)の存在は、抗原特異的なシグナルの検出を妨げるため、(i) spa sbi 二重欠損株を用いる、(ii) 一次抗体に Fab 断片を用いる、(iii) 二次抗体の代わりに金粒子で標識した Spa を用いる、という3通りの抗体ラベル法を開発した。

(3) 抗体を用いたバイオフィーム形成の阻害

細胞外での ClpB の機能を特異的に阻害することで、バイオフィーム形成を阻害できるかを評価した。具体的には、抗 ClpB ポリクローナル抗体を培地中に添加することで、細胞外 ClpB の機能を特異的に阻害し、バイオフィーム形成能の変化を調べた。Spa や Sbi が存在すると、非特異的な IgG でも黄色ブドウ球菌のバイオフィ

ルム形成が阻害されるため、前述の *spa sbi* 二重欠損株を用いた。

(4) ClpB の相互作用因子の同定

菌体外に排出された ClpB がバイオフィルム形成の過程で黄色ブドウ球菌の表面に結合することが分かったので、ClpB が認識する分子の探索を試みた。プロテアーゼ処理前後での菌体への ClpB の結合を比較し、細胞表面タンパク質の重要性を調べた。また、プルダウンアッセイにより、ClpB が認識する表面タンパク質を ClpB との複合体として回収し、LC-MS/MS により同定した。さらに同定されたタンパク質をコードする遺伝子の欠損株を作製し、ClpB の結合活性の変化を調べた。

(5) 多菌種への外挿

黄色ブドウ球菌以外の菌種においても細胞外の ClpB がバイオフィルム形成に重要であるかを調べた。具体的には、表皮ブドウ球菌、大腸菌、緑膿菌、コレラ菌に対するバイオフィルム形成促進効果を解析した。

(6) 新規なバイオフィルム制御因子の同定とバイオフィルム阻害法の開発

大腸菌やサルモネラを含む腸内細菌科の細菌は、8型分泌装置を介してバイオフィルム形成に極めて重要な細胞外アミロイド線維「curli」を産生する。本研究では、大腸菌非必須遺伝子欠損株ライブラリーを用いて、curli に依存したバイオフィルムの形成に重要な遺伝子の探索を行った。

分子シャペロン DnaK が curli の産生に重要な役割を果たしていることが分かったため、DnaK の機能を阻害する低分子化合物を用いて大腸菌のバイオフィルム形成に対する阻害活性を評価した。バイオフィルム形成を阻害する化合物に関して、dnaK 欠損株に見られる表現型を指標にして、その作用点が DnaK であるかを評価した。また、既存の抗菌薬との併用効果や黄色ブドウ球菌のバイオフィルムに対する効果についても検討した。

上記で得られた活性物質について構造活性相関の解析を行い、より活性が高く、人体への安全性の高い化合物の取得を試みた。ケミカルプルダウンアッセイと遺伝子・タンパク質発現解析を組み合わせて、得られた高活性化合物の作用機序の解明を試みた。さらに、薬剤感受性の細菌集団に存在する薬剤寛容性の少数の菌 (persister) に対する効果についても検討した。

4. 研究成果

(1) AAA⁺型脱凝集シャペロン ClpB の機能

ClpB の変異体解析により、バイオフィルム形成促進効果が著しく低下するものと、そうでないものがあつた。細胞外においてバイオフィルム形成を促進する際には、6量体リング構造も基質タンパク質を脱凝集するシャペロン活性も重要ではないことが明らかとなった。つまり、ClpB は細胞内と細胞外でまったく異なる様式で機能する

と考えられる。

(2) 細胞外 ClpB の局在

抗 ClpB ポリクローナル抗体を用いて、バイオフィルム内部における ClpB の分布を調べた。間接蛍光抗体法を用いて観察した結果、ClpB の大部分が黄色ブドウ球菌の表面に局在していた。さらに、ASEMを用いて ClpB の局在をマイクロレベルでも可視化した。ClpB に由来する金粒子のシグナルは、黄色ブドウ球菌の表面に観察された(図3)。

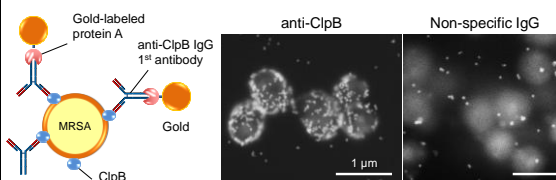


図3. Immuno-ASEMによる細胞外 ClpB の局在観察

(3) 抗体を用いたバイオフィルム形成の阻害

ClpB が菌の表面に結合することが確認されたので、抗体を用いて細胞外での ClpB の機能を阻害すれば、黄色ブドウ球菌のバイオフィルム形成を阻害できると考えた。まず、*spa sbi* 二重欠損株が野生株と同様にバイオフィルムを形成することを確認した。次に、抗 ClpB ポリクローナル IgG を培地中に添加したときのバイオフィルム形成能の変化を調べた。その結果、抗 ClpB ポリクローナル IgG を添加した場合には、バイオフィルム形成が優位に低下したが、非特異的なウサギ IgG では効果はなかった。この成果はワクチン開発の観点からも興味深い。

(4) ClpB の相互作用因子の同定

ClpB がどのような機構で菌体表面に結合するかを明らかにするため、ClpB と黄色ブドウ球菌との相互作用を解析した。あらかじめプロテアーゼ処理によって菌表面のタンパク質を分解した場合には、菌体への ClpB の結合が低下したことから、ClpB は何らかのタンパク質を認識している可能性が考えられた。そこで、菌体表面に付着したタンパク質を回収し、N末端にヒスタグを付加した ClpB 精製標品 (His-ClpB) が結合するタンパク質をプルダウン法により取得した。得られた相互作用因子を質量分析により解析した結果、Eap (extracellular adherence protein) が同定された。Eap および His-ClpB を用いたプルダウン法でも両者の結合が確認された。また、黄色ブドウ球菌 *eap* 欠損株に対する ClpB の結合が低下したことから、ClpB は Eap を足場として黄色ブドウ球菌の細胞表面に結合すると考えられる。

(5) 多菌種への外挿

黄色ブドウ球菌以外の菌種として、表皮ブドウ球菌、大腸菌、緑膿菌、コレラ菌を選択し、これらのバイオフィルム形成に対する ClpB の促進効果を解析した。その結果、いずれの菌種においても促進効果が認められた。

(6) 新規なバイオフィーム制御因子の同定とバイオフィーム阻害法の開発

網羅的な遺伝学解析の結果、大腸菌の *curli* に依存したバイオフィームの形成に必須な因子として、分子シャペロン *DnaK* を同定した。プラスミドを用いた相補試験と変異体解析の結果から、*DnaK* の生理機能が *curli* の産生に極めて重要であることが分かった。

次に、*in vitro* において *DnaK* の機能を阻害することが報告されている低分子化合物を用いて、大腸菌のバイオフィーム形成を阻害できるかを評価した。その結果、植物由来のポリフェノールである *Myricetin* (*Myr*) (図 4A) が、大腸菌の増殖を阻害せず濃度依存的にバイオフィーム形成を抑制できることを明らかにした(図 4B)。これは、*Myr* を添加した際に、バイオフィームの形成に重要な *curli* の産生が抑制されているためであることが示された(図 4C)。野生株に *Myr* を添加した際には、*dnaK* 欠損株と同様の表現型が観察されたことから、*Myr* は *DnaK* の機能を阻害することでバイオフィームの形成を抑制することが示された。また、グラム陰性菌には効かないとされていた抗生物質「バンコマイシン」が、*Myr* を同時に添加することで有効になることも明らかになった。このことは既存の抗生物質の適用範囲を拡張するという観点から意義深い。さらに *Myr* は、メチシリン耐性株を含む黄色ブドウ球菌のバイオフィーム形成も抑制した。以上の結果より、分子シャペロン *DnaK* はバイオフィーム形成に重要で、*DnaK* がグラム陰性菌のみならずグラム陽性菌の抗バイオフィーム薬の標的となりうることを示された。

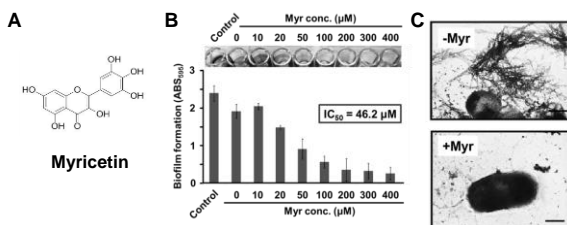


図 4. 大腸菌のバイオフィーム形成に与える *Myr* の効果

Myr の類縁体が大腸菌のバイオフィーム形成に与える影響を調べた。その結果、*Myr* の類縁体 No. 4 (MD4: *Myricetin Derivative No. 4*) が *Myr* を加えた場合より効果的にバイオフィームの形成を抑制できることを見出した。MD4 の 50% バイオフィーム阻害濃度 (IC₅₀) は 5.6 μM であり、*Myr* (IC₅₀=46.2 μM) よりもおよそ 10 倍高い活性を示した。透過型電子顕微鏡で細胞外構造体を観察したところ、MD4 を添加した場合に *curli* の産生が抑制されていることが示された。また、*curli* の産生に関わるタンパク質の発現を確認したところ、MD4 の添加により *curli* の産生に必須な *CsgD* および *RpoS* の量が減少することを見出した。さらに RT-PCR の結果から、*csgD* mRNA および *rpoS* mRNA が MD4 添加時に減少することが分かった。これらの結果より、MD4 は *RpoS* より上流の制御因子の機能を阻害している可能性が示唆された。次に、薬剤寛容性(トレランス)

を示す *persisters* の出現に *RpoS* が重要であると報告されていることから、MD4 を用いることで *persisters* を抑制できるかを検討した。その結果、MD4 と抗菌剤との併用により薬剤抵抗性の菌を効率的に殺菌できることが示された。以上より、バイオフィームを阻害することだけに留まらず *persisters* も抑制できることから、MD4 は慢性感染症の予防に有効であると考えられる。

以上、本研究の成果は、分子シャペロンの新しい側面を浮き彫りにしたことだけでなく、バイオフィーム感染症のような慢性的な細菌感染の予防を通して、人類の医療および保健の向上に資すると期待される。

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 8 件)

- ① Shinya Sugimoto, Ken-ichi Okuda, Reina Miyakawa, Mari Sato, Ken-ichi Arita-Morioka, Akio Chiba, Kunitoshi Yamanaka, Teru Ogura, Yoshimitsu Mizunoe, Chikara Sato. Imaging of bacterial multicellular behaviour in biofilms in liquid by atmospheric scanning electron microscopy. *Scientific Reports* 6: 25889 (2016). doi: 10.1038/srep25889. (査読有)
- ② Ken-ichi Arita-Morioka, Kunitoshi Yamanaka, Yoshimitsu Mizunoe, Teru Ogura, Shinya Sugimoto. Novel strategy for biofilm inhibition by using small molecules targeting molecular chaperone *DnaK*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 59(1): 633–641 (2015). doi: 10.1128/AAC.04465-14. (査読有)
- ③ Akio Chiba, Shinya Sugimoto, Fumiya Sato, Seiji Hori, Yoshimitsu Mizunoe. A refined technique for extraction of extracellular matrixes from bacterial biofilms and its applicability. *Microbial Biotechnology* 8(3):392–403 (2015). doi: 10.1111/1751-7915.12155. (査読有)
- ④ Takaaki Kinoshita, Yosio Mori, Kazumi Hirano, Shinya Sugimoto, Ken-ichi Okuda, Shunsuke Matsumoto, Takeshi Namiki, Tatsuhiko Ebihara, Masaaki Kawata, Hidetoshi Nishiyama, Mari Sato, Mitsuo Suga, Kenichi Higashiyama, Kenji Sonomoto, Yoshimitsu Mizunoe, Shoko Nishihara, Chikara Sato. Immuno-electron microscopy of primary cell cultures from genetically modified animals in liquid by atmospheric scanning electron microscopy. *Microscopy and Microanalysis* 20: 469–483 (2014). doi:

10.1017/S1431927614000178. (査読有)

- ⑤ 杉本真也, やれたらやりかえす-6 型分泌装置を介した細菌同士の死闘- . *生物工学*, 92: 513 (2014).
- ⑥ Ken-ichi Okuda, Takeshi Zendo, Shinya Sugimoto, Tadayuki Iwase, Akiko Tajima, Satomi Yamada, Kenji Sonomoto, Yoshimitsu Mizunoe. Effects of bacteriocins on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 57 (11): 5572-5579 (2013). doi: 10.1128/AAC.00888-13. (査読有)
- ⑦ Shinya Sugimoto, Takeo Iwamoto, Koji Takada, Ken-ichi Okuda, Akiko Tajima, Tadayuki Iwase, Yoshimitsu Mizunoe. *Staphylococcus epidermidis* Esp degrades specific proteins associated with *Staphylococcus aureus* biofilm formation and host-pathogen interaction. *Journal of Bacteriology* 195 (8): 1645-1655 (2013). doi: 10.1128/JB.01672-12. (査読有)
- ⑧ 水之江義充, 岩瀬忠行, 杉本真也, 奥田賢一, 千葉明生. 細菌感染症 グラム陽性球菌感染症 ブドウ球菌感染症 コアグラ-ゼ陰性ブドウ球菌(MRCNSを含む)感染症. *日本臨床 別冊感染症症候群(上)*, 44-47(2013).

[学会発表] (計 20 件)

- ① 杉本真也, 奥田賢一, 宮川玲奈, 佐藤真理, 千葉明生, 水之江義充, 佐藤主税. 大気圧走査電子顕微鏡によるバイオフィルムの液中高分解能観察. 第 49 回日本無菌生物ノ-ートバイオロジー学会総会, 2016 年 1 月 29-30 日(仙台) (招待講演)
- ② 杉本真也, 奥田賢一, 宮川玲奈, 佐藤真理, 千葉明生, 佐藤主税, 水之江義充. 高分解能液中電顕観察から見えてきたバイオフィルム内部におけるメンブランベシクルの産生と多彩な機能. 第 89 回日本細菌学会総会, 2016 年 3 月 23-25 日(大阪) (ワークショップ)
- ③ 杉本真也, 有田(森岡)健一, 山中邦俊, 小椋光, 水之江義充. 細胞外アミロイド産生におけるコシャペロン非依存的な分子シャペロン DnaK の機能. 第 38 回日本分子生物学会, 2015 年 12 月 1-4 日(神戸)
- ④ Ken-ichi Arita-Morioka, Kunitoshi Yamanaka, Yoshimitsu Mizunoe, Teru Ogura, Shinya Sugimoto. Inhibition of bacterial biofilms by small compounds targeting molecular chaperone DnaK. *Microbial*

Stress: From Molecule to Systems, 2015 年 11 月 12-15 日 (Sitges, Spain)

- ⑤ Akio Chiba, Shinya Sugimoto, Fumiya Sato, Seiji Hori, Yoshimitsu Mizunoe. A refined technique for extraction of extracellular matrices from bacterial biofilms and its applicability. *Microbial Stress: From Molecule to Systems*, 2015 年 11 月 12-15 日 (Sitges, Spain)
- ⑥ 杉本真也. 8 型分泌装置の発動における細胞質分子シャペロンの機能. 第 98 回日本細菌学会関東支部総会シンポジウム, 2015 年 10 月 29-30 日(東京) (招待講演)
- ⑦ 杉本真也, 有田健一, 水之江義充, 山中邦俊, 小椋光. 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. 第 29 回バイオフィルム学会学術集会, 2015 年 7 月 10-11 日(蒲郡)
- ⑧ 杉本真也, 有田健一, 山中邦俊, 小椋光, 水之江義充. DnaK/Hsp70 シャペロンシステムは VIII 型分泌装置の発現と品質を制御する. 第 12 回 21 世紀大腸菌研究会, 2015 年 6 月 4-5 日(滋賀)
- ⑨ 杉本真也, 有田(森岡)健一, 山中邦俊, 小椋光, 水之江義充. DnaK/Hsp70 シャペロンシステムは 8 型分泌装置の発現と品質を制御する. 第 88 回日本細菌学会総会, 2015 年 3 月 26-28 日(岐阜) (ワークショップ)
- ⑩ 杉本真也, 有田(森岡)健一, 山中邦俊, 小椋光, 水之江義充. 分子シャペロン DnaK はタンパク質のフォールディングと局在化を介してバイオフィルム形成を制御する. 第 37 回日本分子生物学会, 2014 年 11 月 25-27 日(横浜)
- ⑪ Shinya Sugimoto, Ken-ichi Okuda, Mari Sato, Chikara Sato, Yoshimitsu Mizunoe. Fine structures of biofilms in solution visualized by atmospheric scanning electron microscopy. *19th World Congress on Advances in Oncology and 17th International Symposium on Molecular Medicine*. 2014 年 10 月 9-11 日 (Athens, Greece) (招待講演)
- ⑫ 杉本真也, 奥田賢一, 千葉明生, 佐藤主税, 水之江義充. 大気圧走査電子顕微鏡によるバクテリアの多細胞的形態“バイオフィルム”の液中高分解能観察. 第 36 回日本分子生物学会, 2013 年 12 月 3-6 日(神戸)
- ⑬ 杉本真也, 奥田賢一, 並木健, 東山堅一, 佐藤真理, 西山英利, 須賀三雄, 海老原達彦, 松本俊介, 園元謙二, 水之江義充, 佐

藤主税. 大気圧走査電子顕微鏡による水中での細胞の観察: 乳酸菌と細胞外構造. 第 36 回日本分子生物学会, 2013 年 12 月 3-6 日(神戸)

- ⑭ Shinya Sugimoto, Yoshimitsu Mizunoe. Excreted AAA+ chaperone ClpB stimulates bacterial biofilm formation. **10th International Conference on AAA+ Proteins (EMBO Workshop on AAA+ proteins: From mechanisms and disease to targets)**, 2013 年 9 月 15-19 日(Neuss, Germany)
- ⑮ 杉本真也. バクテリアの多細胞的形態“バイオフィーム”の液中高分解能観察. 山形大学理学部・テニュアトラック合同シンポジウム, 2013 年 7 月 31 日(山形)(招待講演)
- ⑯ Shinya Sugimoto, Takeo Iwamoto, Koji Takada, Ken-ichi Okuda, Akiko Tajima, Tadayuki Iwase, Akio Chiba, Yoshimitsu Mizunoe. *Staphylococcus epidermidis* Esp degrades specific proteins associated with *Staphylococcus aureus* biofilm formation and host-pathogen interaction. **5th FEMS Congress 2013**, 2013 年 7 月 20-25 日(Leipzig, Germany)
- ⑰ 杉本真也, 千葉明生, 弘中一平, 奥田賢一, 田嶋亜紀子, 岩瀬忠行, 水之江義充. 細胞外に排出された細胞質分子シャペロンによるバイオフィーム形成制御メカニズム. 第 35 回日本分子生物学会, 2012 年 12 月 11-14 日(福岡)
- ⑱ 杉本真也, 奥田賢一, 佐藤主税, 水之江義充. MRSA のバイオフィームマトリクスタンパク質の網羅的解析と時空間的動態. 第 95 回日本細菌学会関東支部総会シンポジウム, 2012 年 10 月 29, 30 日(東京)(招待講演)
- ⑲ Shinya Sugimoto, Ken-ichi Okuda, Akiko Tajima, Tadayuki Iwase, Yoshimitsu Mizunoe. Quality control of staphylococcal biofilms by excreted molecular chaperones DnaK and ClpB. **EMBO/EMBL Symposium, Quality Control -From Molecules to Organelles-**, 2012 年 9 月 19-22 日(Heidelberg, Germany)
- ⑳ Shinya Sugimoto, Takeo Iwamoto, Koji Takada, Fumiya Sato, Tadayuki Iwase, Akiko Tajima, Ippei Hironaka, Ken-ichi Okuda, Hitomi Shinji, Yoshimitsu Mizunoe. *Staphylococcus epidermidis* Esp degrades novel biofilm matrix proteins in *Staphylococcus aureus* biofilms. 第 85 回日本細菌学会総会, 2012 年 3 月 27-29 日(長

崎)

[図書] (計 1 件)

- ① 水之江義充, 千葉明生, 岩瀬忠行, 杉本真也. バイオフィーム細胞外マトリクスの分離・解析. **化学療法**の領域, 第 31 巻 11 号 2158-2165(2015).

[その他]

ホームページ等
東京慈恵会医科大学細菌学講座
<http://square.umin.ac.jp/saikin/>

細菌学講座 東京慈恵会医科大学 基礎・臨床講座
http://www.jikei.ac.jp/academic/course/11_saikin.html

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
杉本 真也 (SUGIMOTO SHINYA)
東京慈恵会医科大学・医学部・講師
研究者番号: 60464393