

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：32701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K19095

研究課題名(和文)ファージ普遍形質導入によるMRSA進化メカニズムの解明

研究課題名(英文)Analysis of MRSA evolution mechanism by generalized transduction

研究代表者

内山 淳平(UCHIYAMA, JUMPEI)

麻布大学・獣医学部・講師

研究者番号：20574619

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：S6ファージを介した普遍形質導入をモデルとし、環境中の遺伝子の水平伝搬を解析した。はじめに、S6ファージは、グラム陽性菌とグラム陰性菌ファージと共通な祖先を有することが明らかにした。また、他の黄色ブドウ球菌の細胞壁タイコ酸に吸着し、感染をおこなうことも明らかにされた。さらに、S6ファージは宿主ゲノムを取り込み、受容菌へ遺伝子を水平伝播し、相同組み換えで遺伝子の水平伝播することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In this study, we analyzed the horizontal gene transfer in the environment, using the model of phage transduction of phage S6 in MRSA. First, analyzing phylogeny of phage based on the whole genome, phage S6 was related to the other phage infecting Gram-positive bacteria and that infecting Gram-negative bacteria, which suggested that there may be specific phage group with transducing ability. Second, phage S6 has ability to adsorb the Staphylococcus aureus cells via beta-glycosylation of wall teichoic acids on the cell wall. Third, phage S6 was considered to package the host DNA, transfer it to the new recipient cells, and the gene acquisition occurred by homologous recombination.

研究分野：細菌学

キーワード：ファージ 遺伝子の水平伝播

1. 研究開始当初の背景

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は、ヒトのみならず家畜などに難治性感染症を引き起こし、我が国を含め世界中で大きな健康被害・経済被害を生じている病原細菌である。MRSAの更なる薬剤耐性化や病態の悪化などが生じており、MRSAは進化している。それゆえ、今後のMRSA感染予防・制御には、これまでも増して細かな対応が要求とされ、黄色ブドウ球菌の進化機構を詳細に理解する必要がある。

ブドウ球菌 (*Staphylococcus* spp.) は、概して、菌種特異的な生息動物種を有する細菌である。近年、MRSAのメチシリン耐性遺伝子 (*mecA*) は動物由来ブドウ球菌から由来した可能性、また、動物由来ブドウ球菌で特異的に見られる遺伝子がヒト由来MRSAで検出されはじめたことなど、MRSAは動物由来ブドウ球菌から遺伝子の水平伝播により遺伝子を獲得し、進化していると考えられている (*Clin Infect Dis.* 57, 704-710, 2013; *J Infect Chemother.* 20, 593-601, 2014)。

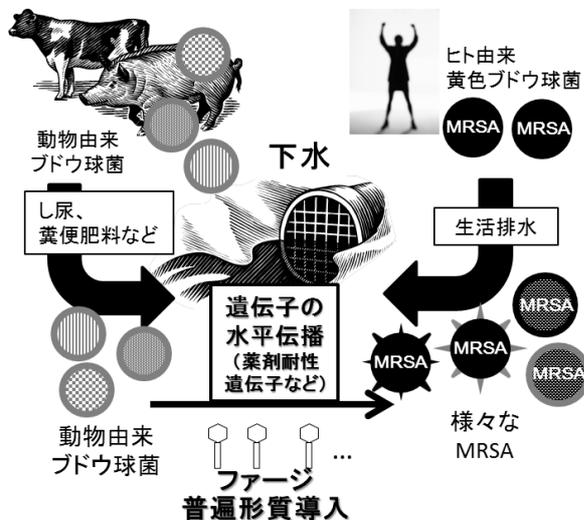


図1. 動物由来ブドウ球菌から黄色ブドウ球菌へのファージを介した遺伝子水平伝播(普遍形質導入)。動物やヒトから流出したブドウ球菌は、下水に集積する。下水中でファージが遺伝子の水平伝播を行い、MRSAの進化が促進している可能性が考えられる。

遺伝子の獲得場所の1つに、動物のし尿・糞便肥料やヒトの生活排水などが集積する下水がある。これまでの環境中の薬剤耐性遺伝子の研究で、下水中のウイルス様粒子から様々な薬剤耐性遺伝子 (*mecA* 遺伝子を含む) が検出された (*Clin Infect Dis.* 57, 704-710, 2013; *J Infect Chemother.* 20, 593-601, 2014) 。これは、ヒトや動物由来の物質が集積する下水において、動物由来ブドウ球菌と黄色ブドウ球菌の間でウイルスを介した遺伝子の水平伝播が起きており、薬剤耐性化・病原性因子獲得などMRSAが進化している可能性が考えら

れる(図1)。

ファージとは、細菌特異的に感染するウイルスの総称である。ファージは、感染した宿主細菌の部分ゲノムをランダムにファージ粒子にパッケージする。次に感染する宿主細菌へ吸着してDNAの注入を行い、遺伝情報を伝播する。このような遺伝子の水平伝播様式を「普遍形質導入」と呼ぶ。環境において、一部のファージは、普遍形質導入による遺伝子の水平伝播を行い、新型薬剤耐性菌の誕生など細菌進化において極めて重要である。それゆえ、ファージ普遍形質導入は、環境中におけるMRSAの誕生や進化へ大きく寄与していると考えられる。

申請者は、独自に培養法を検討し、黄色ブドウ球菌を宿主菌に使用し下水流入水からS6ファージを分離した(図2)。S6ファージは、ウイルス分類学的に新規に分類される新規の巨大ファージである。そのゲノムDNAには、通常DNAのチミン(T)がウラシル(U)へ完全置換されているファージであった (*ISME J.* 8, 1949-1952, 2014) 。また、S6ファージはMRSAを含む動物・ヒト由来ブドウ球菌種に幅広く感染可能であった(これまで知られている黄色ブドウ球菌ファージは、高い菌種特異性を有する。)。加えて、ファージS6を介した普遍形質導入により、動物・ヒト由来黄色ブドウ球菌との間で相互にメチシリン耐性遺伝子 (*mecA*) を含む薬剤耐性遺伝子を伝播できることを世界で初めて明らかにした (*ISME J.* 8, 1949-1952, 2014) 。環境中においてS6様ファージが、黄色ブドウ球菌の病原性因子・薬剤耐性遺伝子獲得に寄与している可能性が考えられる(図1)。

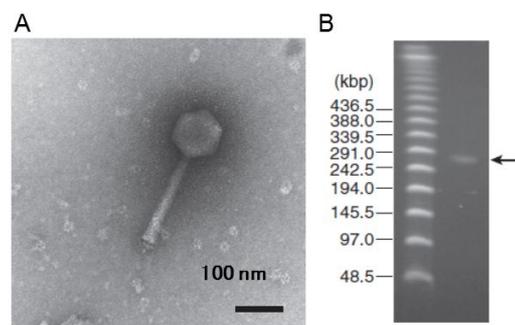


図2. (A) S6ファージ透過型電子顕微鏡像。ウイルス分類学的に新規の属を形成するファージである。頭部直径 約120 nm, 尾部長さ 約240 nm。(B) ファージS6DNAサイズ。矢印はS6DNAサイズ、270 kbp。

2. 研究の目的

戦略的な MRSA 感染予防・制御には、詳細な MRSA 進化機構の理解が重要である。S6ファージを介する遺伝子水平伝播機構の解明は、ブドウ球菌の高度薬剤耐性化、新規病原性因子獲得などの進化機構を理解するのに

重要な基盤情報になると期待される。しかしながら、この機構を理解するのに必要な (a) S6 ファージの分子情報、(b) S6 ファージ普遍形質導入に第一義的に重要なブドウ球菌への吸着機構に関する情報、また、(c) ファージ普遍形質導入により菌体内へ水平伝播された遺伝子の菌ゲノムの獲得様式は、明らかとなっていない。それゆえ、本申請研究では、S6 ファージに関して、以下の3項目に関して研究を遂行した(図3)。

- (A) ゲノムの解析
- (B) 吸着機構の解析
- (C) 普遍形質導入の解析

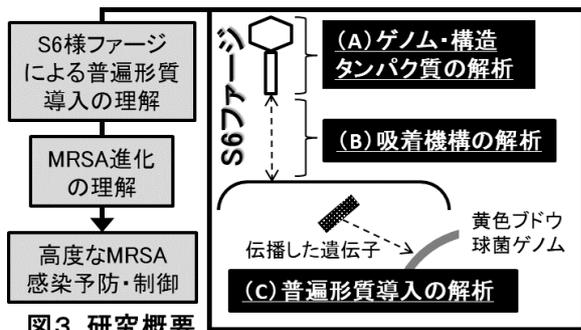


図3. 研究概要

3. 研究の方法

S6 ファージを使用する。黄色ブドウ球菌 SA27 株を宿主菌として使用した。ファージの培養は全て 30℃で行った。

(A-1) ファージ全ゲノム解析

ファージをプロテイナーゼ K で処理後、フェノール抽出法により、ゲノム DNA の抽出を行った。S6 DNA を ϕ 29 DNA polymerase で増幅置換後、ショットガンライブラリーを作製し、次世代シーケンサー (Roche 社 454 GS Jr.) で解析を行った。得られた次世代シーケンズデータを一次解析ソフトウェア (Roche 社 GS Assembler software) で解析した。全ゲノム解読の完了には、サンガー法による塩基配列解読によってデータ補修を行った。ゲノム解析には、in silico molecular cloning genomic edition (in silico biology 社) を使用した。遺伝子機能予測には、MiGAP を使用した。また、ファージゲノムに基づいた系統を明らかにするために、VipTree を利用し解析を行った。

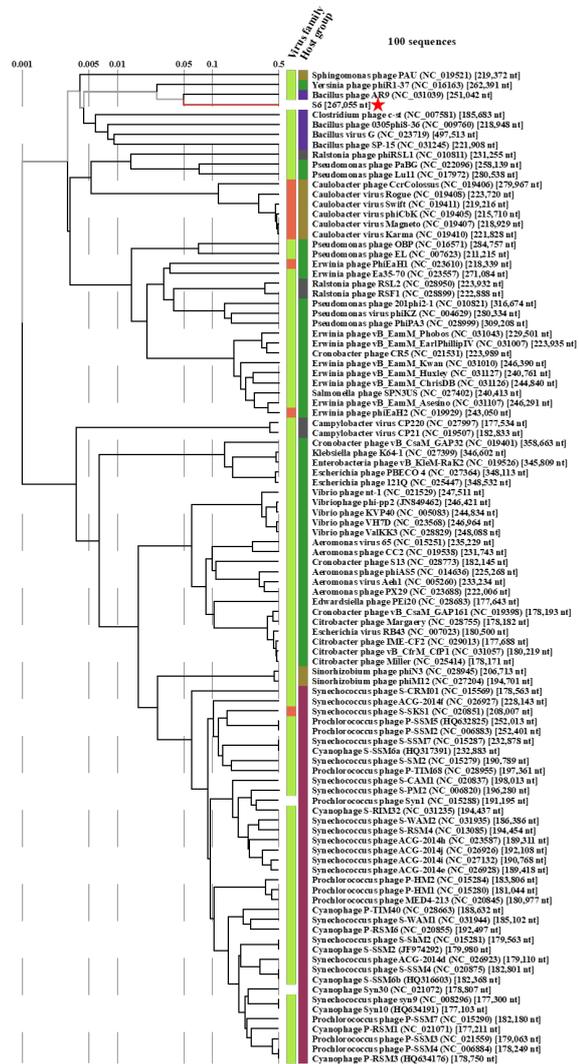


図4. 大型ファージの全ゲノムを基にした系統解析。S6ファージは、赤の★印で示した。

(B-1) ファージ細菌表層レセプター同定

黄色ブドウ球菌表層のタイコ酸 (リポタイコ酸、細胞壁タイコ酸) を生合成に関与する遺伝子欠損株とその相補株 計 26 株を共同研究者 黒川 健司 氏 (長崎国際大学) から分与頂いた。

はじめに、感染性測定を行った。遺伝子欠損・相補株を含む 2 重寒天プレートへファージ液をストリークした。一晚培養後、ブラック形成の有無で感染性の判定を行った。また、ファージの吸着効率測定を行った。ファージ液を遺伝子欠損・相補菌株 菌液 (一定濃度) へ添加し、15 分培養後、遠心した。その培養液上清中の未吸着ファージをブラックアッセイ法により濃度測定した。ブラックアッセイに使用する宿主菌には黄色ブドウ球菌 SA27 株を使用した。

(B-2) ファージ粒子構造解析

精製ファージ粒子を位相差クライオ電顕 (JEOL JEM220FS) によって観察した。生理学研究所 脳機能計測・支援センター クラ

イオ電子顕微鏡管理者 村田 和義 氏、宮崎直幸 氏の協力のもと解析を進めた。

(C) 普遍形質導入の解析

S6 ファージを使用し普遍形質導入を黄色ブドウ球菌へ行い、実験的にメチシリン耐性ブドウ球菌を作製する。MRSA COL 株でファージの増幅を行う。遠心法・濾過法により菌体を除去し、DNase I および RNase A (50 µg/mL) で処理後、ファージ液の調製を行った。メチシリン感受性黄色ブドウ球菌 RN4220 株に多重度 (MOI, multiplicity of infection) 1 で感染させ、培養した (37°C、40 分)。菌液をオキサシリン含有 (5 µg/mL) brain heart infusion 寒天平板培地へ塗布し、培養した (37°C、24 時間)。出現したコロニーのメチシリン耐性遺伝子保有に関して PCR 法、パルスフィールド電気泳動やサザンプロット法、シークエンズ法で確認した。

4. 研究成果

(A) ファージの解析

ファージの全ゲノム解読を行った。その結果 S6 ゲノムは 267,055 bp であった。GC 含量は、25.1% であった。遺伝子予測により 271 個の遺伝子が予想された。また、既存のデータベースよりゲノムサイズが 200 kbp を越える大型ファージの全ゲノム配列を抽出し、S6 ファージゲノムとの系統解析を行った (図 4)。その結果、S6 ファージは、*Bacillus phage* AR9 および *Yersinia phage phiR1-37* に近縁であることが明らかにされた。これらのファージは、ゲノム DNA の T の代替えとして U を使用している dsDNA ファージである。また、面白いことに、*Bacillus phage* AR9 も普遍形質導入を行うことより、この系統のファージは遺伝子の水平伝播に関与している可能性が考えられた。

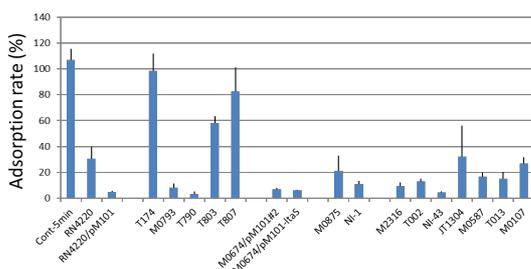


図5. 吸着効率

(B) ファージ吸着機構

これまでの研究により、黄色ブドウ球菌に感染するファージは、細胞壁タイコ酸がレセプター分子になることが知られている。特に、細胞壁タイコ酸のリピトールリン酸のグルコース基の結合により (あるいは結合) により、ファージの吸着が重要であることが知られている。各種黄色ブドウ球菌欠損株に対する S6 ファージの各吸着効率を観察した。その結果、グルコースの結合がファージ S6 の結合に重要であることが明らかにされた。

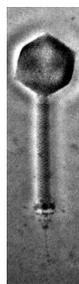


図6. S6ファージの電子顕微鏡像

また、S6 ファージのクライオ電子顕微鏡で観察を行うと、尾部の先端に針金状の構造物が見えることが明らかとなった (図 6)。この針金状の構造物がファージ側のリガンドになる可能性が高いため、今後、ゲノム解析を含めて解析を行いたいと考えている。

(C) ファージ S6 による普遍形質導入

次に、ファージ S6 による普遍形質導入を実験的にを行い、人工 MRSA を作製し、人工 MRSA 株の解析を行った。形質導入効率率は、 $1.1 \times 10^{-9} \pm 8.4 \times 10^{-9}$ transductants/tested bacteria であった (mean \pm s.d.; n = 10)。合計 10 個の人工 MRSA を分離した。

また、人工 MRSA を解析するために、人工 MRSA のゲノムを *smal* で切断し、パルスフィールド電気泳動で解析した。その結果、RN4220 由来のクローン株であることが明らかとなった。また、サザンプロットで *mecA* 遺伝子の検出を行ったところ、COL 株と同じゲノム領域に *mecA* が存在することが明らかとなった。そのため、*mecA* 遺伝子を含む SCCmec 全体で細菌間を移動していることが示唆された。

さらに、SCCmec の外側と内側を含む領域の塩基配列を解読すると、COL 株と人工 MRSA で同じであった。このことから SCCmec を含む大きなゲノム領域で切り出されファージ S6 にパッケージされ、S6 ファージを介して受容菌である RN4220 に移動し、相同組み換えで遺伝子を獲得した可能性が高い。

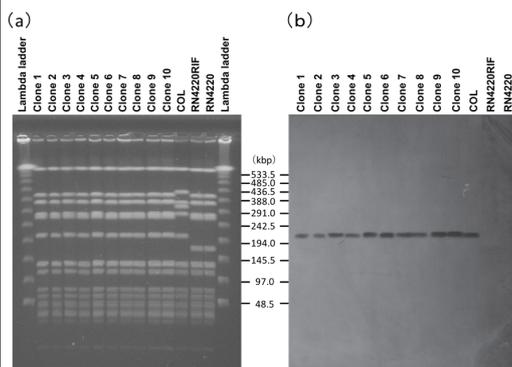


図7. PFGEと*mecA*遺伝子を標的としたサザンプロット (a) PFGEによるバンドパターンの比較:*mecA*遺伝子のDonor菌であるCOL株では、バンドパターンが、Recipient菌であるRN4220RIF株のバンドパターンと異なる。人工MRSA株でのバンドパターンはRN4220RIF株と類似していたことから、人工MRSA株はRN4220RIF株由来であると確認できた。(b) サザンプロット像: PFGE後、*mecA*遺伝子を標的としてサザンプロット解析を行ったところ、人工MRSA株はCOL株と同様の領域に*mecA*遺伝子を有することがわかった。

総括

S6 ファージを介した普遍形質導入をモデルとし、環境中の遺伝子の水平伝搬を解析した。はじめに、S6 ファージは、グラム陽性菌

とグラム陰性菌ファージと共通な祖先を有することが明らかにした。また、他の黄色ブドウ球菌の細胞壁タイコ酸に吸着し、感染をおこなうことも明らかにされた。さらに、S6 ファージは宿主ゲノムを取り込み、受容菌へ遺伝子を水平伝播し、相同組み換えて遺伝子の水平伝播することを明らかにした。

In this study, we analyzed the horizontal gene transfer in the environment, using the model of phage transduction of phage S6 in MRSA. First, analyzing phylogeny of phage based on the whole genome, phage S6 was related to the other phage infecting Gram-positive bacteria and that infecting Gram-negative bacteria, which suggested that there may be specific phage group with transducing ability. Second, phage S6 has ability to adsorb the *Staphylococcus aureus* cells via beta-glycosylation of wall teichoic acids on the cell wall. Third, phage S6 was considered to package the host DNA, transfer it to the new recipient cells, and the gene acquisition occurred by homologous recombination.

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. Uchiyama J*, Shigehisa R, Nasukawa T, Mizukami K, Takemura-Uchiyama I, Ujihara T, Murakami H, Imanishi I, Nishifuji K, Sakaguchi M, Matsuzaki S. Piperacillin and ceftazidime produce the strongest synergistic phage-antibiotic effect in *Pseudomonas aeruginosa*. *Archives of Virology*, accepted, 2018.
 2. Ujihara T, Uchiyama J, Nasukawa T, Ando H, Murakami H, Ohara N, Ogawa M, Yamazaki T, Daibata M, Sakaguchi M, Matsuzaki S*. Recovery of mycobacteriophages from archival stocks stored for approximately 50 years in Japan. *Archives of Virology*, accepted, 2018.
 3. Adriaenssens EM, Wittmann J, Kuhn JH, Turner D, Sullivan MB, Dutilh BE, Jang HB, van Zyl LJ, Klumpp J, Lobočka M, Moreno Switt AI, Rumnies J, Edwards RA, Uchiyama J, Alfenas-Zerbini P, Petty NK, Kropinski AM, Barylski J, Gillis A, Clokie MRC, Prangishvili D, Lavigne R, Aziz RK, Duffly S, Krupovic M, Poranen MM, Knezevic P, Enault F, Tong Y, Oksanen HM, Rodney Brister J. Taxonomy of prokaryotic viruses: 2017 update from the ICTV Bacterial and Archaeal Viruses Subcommittee. *Archives of Virology*, 163(4), 1125-1129, 2018.
 4. Matsuzaki S*, Uchiyama J, Takemura-Uchiyama I, Ujihara T, Daibata M. Isolation of Bacteriophages for Fastidious Bacteria. *Methods in Molecular Biology*, 1693, 3-10, 2018.
 5. Nasukawa T, Uchiyama J*, Taharaguchi S, Ota S, Ujihara T, Matsuzaki S, Murakami H, Mizukami K, Sakaguchi M. Virus purification by CsCl density gradient using general centrifugation. *Archives of Virology*, 162(11), 3523-3528, 2017.
 6. Uchiyama J*, Taniguchi M, Kurokawa K, Takemura-Uchiyama I, Ujihara T, Shimakura H, Sakaguchi Y, Murakami H, Sakaguchi M, Matsuzaki S. Adsorption of *Staphylococcus* viruses S13' and S24-1 on *Staphylococcus aureus* strains with different glycosidic linkage patterns of wall teichoic acids. *Journal of General Virology*, 98, 2171-2180, 2017.
 7. Murakami H*, Asano S, Uchiyama J, Sato R, Sakaguchi M, Tsukamoto K. Bovine leukemia virus G4 enhances virus production. *Virus Research*, 238, 213-217, 2017.
 8. Kropinski AM, Adriaenssens EM, Uchiyama J (2016). ICTV Taxonomic Proposal 2016.057a-dB.A.v1.Kpp25virus. Create genus *Kpp25virus* in the family *Podoviridae*, order *Caudovirales*. <http://www.ictv.global/proposals-16/2016.057a-dB.A.v1.Kpp25virus.pdf>
 9. Wittmann J, Kropinski AM, Adriaenssens EM, Ackermann H-W, Lavigne R, Kuhn JH, Uchiyama J (2016). ICTV Taxonomic Proposal 2016.024a-dB.A.v2.Luz7virus. Create genus *Luz7virus* in the family *Podoviridae*, order *Caudovirales*. <http://www.ictv.global/proposals-16/2016.024a-dB.A.v2.Luz7virus.pdf>
 10. Murakami H*, Uchiyama J, Nikaido S, Sato R, Sakaguchi M, Tsukamoto K. Inefficient viral replication of bovine leukemia virus induced by spontaneous deletion mutation in the G4 gene. *Journal of General Virology*, 97(10), 2753-2762, 2016.
 11. Uchiyama J, Takemura-Uchiyama I, Kato S, Takeuchi H, Sakaguchi Y, Ujihara T, Daibata M, Shimakura H, Okamoto N, Sakaguchi M, Matsuzaki S*. Screening of KHP30-like prophages among Japanese *Helicobacter pylori* strains, and genetic analysis of a defective KHP30-like prophage sequence integrated in the genome of the *H. pylori* strain NY40. *FEMS Microbiology Letters*, 363(16), pii: fnw157, 2016.
 12. Shimakura H, Uchiyama J, Saito T, Miyaji K, Fujimura M, Masuda K, Okamoto N, DeBoer DJ, Sakaguchi M*. IgE reactivity to hen egg white allergens in dogs with cutaneous adverse food reactions. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 177, 52-57, 2016.
 13. Uchiyama J*, Suzuki M, Nishifuji K, Kato S, Miyata R, Nasukawa T, Yamaguchi K, Takemura-Uchiyama I, Ujihara T, Shimakura H, Murakami H, Okamoto N, Sakaguchi Y, Shibayama K, Sakaguchi M, Matsuzaki S. Analyses of short-term antagonistic evolution between *Pseudomonas aeruginosa* strain PAO1 and phage KPP22 belonging to the family *Myoviridae* genus PB1-like viruses. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(15), 4482-4491, 2016.
 14. Shigehisa R, Uchiyama J*, Kato S, Takemura-Uchiyama I, Yamaguchi K, Miyata R, Ujihara T, Sakaguchi Y, Okamoto N, Shimakura H, Daibata M, Sakaguchi M, Matsuzaki S. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* phage KPP21 belonging to family *Podoviridae* genus N4-like viruses isolated in Japan. *Microbiology and Immunology*, 60(1), 64-67, 2016.
 15. 内山淳平、阪口雅弘、加藤行男、伊藤慶太、佐々木崇、池順子、宮坂駿、今西市朗。II. 腫瘍症、第10回皮膚科の「お悩み相談室」。Small Animal Dermatology, 13(4), pp. 17-37, 2017.
 16. 内山淳平、竹内啓晃、平山隆一郎、島倉秀勝、阪口雅弘、松崎茂展。Helicobacter pylori ファージとそのゲノム。Helicobacter Research, 20(5), 470-474, 2016.
 17. 島倉秀勝、内山淳平、阪口雅弘。粘膜免疫をコントロールする「アレルギー疾患における経口及び舌下免疫療法の臨床応用」。動物用ワクチンバイオ医薬品研究会ニュースレター, 13, 21-25, 2016年6月。
- [学会発表](計42件)
1. Shigenobu Matsuzaki, Jumpei Uchiyama, Naoto Kitamura, Ken Fukuda, Yuichi Matsuzawa, Rei Takada, Takako Ujihara, Shigeru Watanabe, Tetsuya Yamamoto, Masanori Daibata. Biocontrol of bacterial infections using bacteriophages: bacteriophage therapy and bacterial detection using bacteriophage molecules. The 16th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji Yumebutai International Conference Center, Japan, 5-8 September 2017.
 2. Tadahiro Nasukawa, Jumpei Uchiyama, Satoshi Taharaguchi, Sumire Ota, Takako Ujihara, Shigenobu Matsuzaki, Hironobu Murakami, Keijiro Mizukami, Masahiro Sakaguchi. Virus purification by CsCl density gradient using general centrifugation. The 16th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji Yumebutai International Conference Center, Japan, 5-8 September 2017.
 3. Jumpei Uchiyama, Maya Taniguchi, Kenji Kurokawa, Iyo Takemura-Uchiyama, Takako Ujihara, Hidekatsu Shimakura, Yoshihiko Sakaguchi, Hironobu Murakami, Masahiro Sakaguchi, Shigenobu Matsuzaki. Adsorption of *Staphylococcus* viruses S13' and S24-1 on *Staphylococcus aureus* strains with different glycosidic linkage patterns of wall teichoic acids. The 16th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji Yumebutai International Conference Center, Japan, 5-8 September 2017.
 4. Jumpei Uchiyama, Kenji Kurokawa, Iyo Takemura-Uchiyama, Takako Ujihara, Yoshihiko, Sakaguchi, Masahiro Sakaguchi, Shigenobu Matsuzaki. Analysis of adsorption of phages, S13' and S24-1, belonging to the family *Podoviridae* genus P68virus, using *Staphylococcus aureus* strains with different glycosidic linkage patterns of wall teichoic acids. IUMS (International Union of Microbiological Societies Congress) 2017, Singapore, 17-21 July 2017.
 5. Imanishi Ichiro, Hattori Shinpei, Hisatune Junzou, Ide Kaori, Jumpei Uchiyama, Sugai Motoyuki, Nishifuji Koji. Intra-epidermal neutrophilic migration is crucial for invasion of *Staphylococcus aureus* to the living epidermis in a mouse model of bullous impetigo. IUMS (International Union of Microbiological Societies Congress) 2017, Singapore, 17-21 July 2017.
 6. Matsui H, Uchiyama J, Tsuda M, Matsuzaki S, Nakae T, Hanaki H. Development of a Phage Protein-Mediated *Staphylococcus aureus* Detection Tool. ASM Microbe 2016, Boston, USA, 16-20 June 2016 (Jun 19, 2016).
 7. 内山淳平、松井秀仁、阪口義彦、花木秀明、松崎茂展、阪口雅弘。細菌感染症における診断法と治療法の開発：バクテリオファージの利用。第158回日本獣医学会学術集会 微生物学分科会(細菌)シンポジウム。北里大学、青森。2015年9月8日。
 8. 福田憲、石田わか、内山淳平、松崎茂展、福島敦樹。眼感染症に対するファージ療法の研究開発および臨床応用への問題点。第158回日本獣医学会学術集会 微生物学分科会(細菌)シンポジウム。北里大学、青森。2015年9月8日。
 9. 内山淳平。感染症にバクテリオファージを利用する。第8回北里感染症教育フォーラム、北里大学薬学部コンベンションホール、東京、2017年5月20日。
 10. 内山淳平。バクテリオファージ研究の再考-これまでのファージ療法の研究を通じて-。学会セミナー、国立感染症研究所 戸山庁舎、2016年9月7日。
 11. 内山淳平、阪口雅弘、松崎茂展。ピロリ菌ファージの発見とその解析。第68回日本細菌学会中国・四国支部総会若手研究者奨励賞受賞講演、岡山県、2015年10月2日。
 12. 内山淳平、内山伊代、竹内啓晃、阪口義彦、阪口雅弘、松崎茂展。活性型ピロリ菌ファージ KHP30 の特徴付けとその潜伏感染性の解析。ワークショップ「ファージ・ルネッサンス-ファージ発見から100年たった今-」。第89回日本細菌学会総会。大阪国際交流センター、大阪府。2016年3月23日~25日。
 13. 松井秀仁、内山淳平、津田愛美、松崎茂展、花木秀明。ファ-

ジを利用した細菌検出～黄色ブドウ球菌検出ファージクマト法の開発～、ワークショップ「ファージ・ルネッサンス～ファージ発見から100年たった今～」、第89回日本細菌学会総会・大阪国際交流センター、大阪府、2016年3月23日～25日。

14. 内山淳平、竹内啓晃、加藤伸一郎、阪口義彦、蒲生啓司、氏原隆子、内山伊代、島倉秀勝、今西市朗、阪口雅弘、松崎茂展、ピロリ菌ファージの分離と解析。第2回ファージセラピー臨床応用検討会、東京工業大学、2015年7月31日。

15. 今井齊志、鷲尾和也、仁子陽輔、波多野慎悟、渡辺茂、松崎茂展、内山淳平。バクテリオファージ担持ナノ粒子凝集体を利用した細菌の暗視野顕微鏡検出。日本化学会第98春季年会(2018)。日本大学理工学部 船橋キャンパス。2018年3月20日-23日。

16. 那須川忠弥、太田薫、内山淳平、水上圭二郎、島倉秀勝、阪口雅弘。アトピー性皮膚炎を呈し、食物アレルギーが疑われる精製牛乳アレルギー特異的IgE反応性の検討。第2回獣医微生物学フォーラム。東京大学中島薫一郎記念ホール。平成30年3月3日。

17. 中森洋佑、内山淳平、村上裕信、阪口義彦、水上圭二郎、内山伊代、阪口雅弘。黄色ブドウ球菌における大型ファージの普遍形質導入研究。第2回獣医微生物学フォーラム。東京大学中島薫一郎記念ホール。平成30年3月3日。

18. 池田安祐子、内山淳平、水上圭二郎、中村南斗、弦巻みり、那須川忠弥、島倉秀勝、阪口雅弘。スクーリングによる歯周病罹患犬の口臭と細菌叢変化。第2回獣医微生物学フォーラム。東京大学中島薫一郎記念ホール。平成30年3月3日。

19. 伊藤雅人、水上圭二郎、内山淳平、阪口雅弘。イヌにおけるワクチン接種後のアレルギー副反応に関する疫学調査。第14回日本獣医内科学アカデミー学術大会。パシフィコ横浜。2018年2月16-18日(発表日2月17日)。

20. 山口明日美、松井真理、内山淳平、松井秀仁、花木秀明、林俊治。Acinetobacter baumanniiのAbaR resistance islandの遺伝子解析。第29回日本臨床微生物学会総会・学術集会。長良川国際会議場、岐阜県。2018年2月9日-11日。

21. 今井齊志、鷲尾和也、仁子陽輔、波多野慎悟、渡辺茂、松崎茂展、内山淳平。バクテリオファージ担持ナノ粒子の調製と細菌検出への応用。第38回日本食品微生物学会学術総会。徳島県郷土文化会館、徳島県。2017年10月5日-6日。

22. 山口明日美、阪口義彦、小林秀丈、松井真理、内山淳平、松井秀仁、花木秀明、林俊治。関東の医療施設で分離されたAcinetobacter baumanniiの分子疫学的解析。第100回日本細菌学会関東支部総会。帝京大学板橋キャンパス、東京都。平成29年9月28日-29日。

23. 宮崎直幸、内山淳平、松崎茂展、村田和義、岩崎憲治。The head structure of the Staphylococcus aureus phage S13' at near atomic resolution by cryo-electron microscopy single particle analysis。第55回日本生物物理学会年会。熊本大学 黒髪北地区、熊本県。2017年9月19日-21日。

24. 内山淳平、内山伊代、中森洋佑、水上圭二郎、阪口雅弘、松崎茂展。普遍形質導入による黄色ブドウ球菌の進化可能性検討。MRSAフォーラム。京王プラザホテル、東京都。2017年7月15日。

25. 今西市朗、内山淳平、水谷歩実、那須川忠弥、井手香織、西藤公司。バクテリオファージS25-3に由来するendolysin組換え酵素は膿瘍モデルにおける膿瘍形成を抑制する。MRSAフォーラム。京王プラザホテル、東京都。2017年7月15日。

26. 松井秀仁、津田愛美、内山淳平、花木秀明。ラテラルフローアッセイによるMRSA検出方法の開発。MRSAフォーラム。京王プラザホテル、東京都。2017年7月15日。

27. 内山淳平、黒川健児、内山伊代、氏原隆子、阪口義彦、松崎茂展、阪口雅弘。Study of adsorption of AHJD-like phages infecting Staphylococcus aureus。第90回日本細菌学会総会。仙台国際センター、宮城県。2017年3月19日-21日。

28. 阪口義彦、内山淳平、細見晃司、幸田知子、小椋義俊、林哲也、林俊治、小崎俊司、向本雅都。B6型ポツリヌス毒素遺伝子をコードするプラスミドの解析。第90回日本細菌学会総会。仙台国際センター、宮城県。2017年3月19日-21日。

29. 松澤佑一、内山淳平、竹内啓晃、氏原隆子、橋田裕美子、樋口智紀、田中望紅、富永宗一、大畑雅典、松崎茂展。バクテリオファージKHP30の感染能に及ぼすピロリ菌保有制限一修飾系の解析。第90回日本細菌学会総会。仙台国際センター、宮城県。2017年3月19日-21日。

30. 今西市朗、内山淳平、水谷歩実、井手香織、西藤公司。組換えendolysinのブドウ球菌に対する溶菌作用ならびに膿瘍モデルマウスにおける発症抑制効果。第20回記念日本獣医皮膚科学会学術大会。総会。大宮ソニックシティ(さいたま市)。2017年3月11日-12日。

31. 今西市朗、松田貴子、内山淳平、上家潤一、藤村正人、嶋倉邦嘉、阪口雅弘。イヌアトピー性皮膚炎における新規魚アレルギーの解析。第一回獣医微生物学フォーラム。東京大学弥生講堂。2017年3月1日。

32. 中島卓哉、渡辺直貴、佐々木美桜、松井秀仁、花木秀明、内山淳平、阪口雅弘。ファージを利用したB群連鎖球菌検査用培地の研究開発。第一回獣医微生物学フォーラム。東京大学弥生講堂。2017年3月1日。

33. 中森洋佑、内山淳平、内山伊代、阪口雅弘。黄色ブドウ球菌におけるファージS6の普遍形質導入機構の解明。第一回獣医微生物学フォーラム。東京大学弥生講堂。2017年3月1日。

34. 那須川忠弥、内山淳平、鈴木仁人、西藤公司、加藤伸一郎、内山伊代、氏原隆子、島倉秀勝、村上裕信、岡本憲明、阪口義彦、柴山恵吾、阪口雅弘、松崎茂展。新規PB1様ファージKPP22と緑膿菌PAO1株を利用した前適応ファージKPP22M作成過程の遺伝的解析。ファージ・環境ウイルス研究会 合同シンポジウム(第6回ファージ研究会)。JAMSTEC 横須賀、神奈川県。2016年10月21-22日。

35. Uchiyama J, Takemura-Uchiyama I, Kato S, Takeuchi H, Sakaguchi Y, Ujihara T, Nasukawa T, Shimakura H, Okamoto N, Sakaguchi M, Matsuzaki S. Screening of KHP30-like prophage in Helicobacter pylori using Japanese strains, and analysis of their fate by in silico approach. フ

ァージ・環境ウイルス研究会 合同シンポジウム(第6回ファージ研究会)。JAMSTEC 横須賀、神奈川県。2016年10月21-22日。

36. 阪口 義彦,内山 淳平,小椋 義俊,山本 由弥子,松崎 茂展,林 哲也,松下 治,小椋 恵二,林 俊治。C型ポツリヌス毒素変換ファージのゲノム比較と遺伝子機能解析。第89回日本細菌学会総会。大阪国際交流センター、大阪府。2016年3月23日～25日。

37. 那須川 忠弥,内山 淳平,鈴木 仁人,宮田 玲奈,山口 琴絵,内山 伊代,阪口 義彦,柴山 恵吾,阪口 雅弘,松崎 茂展。緑膿菌PAO1株とファージ KPP22の短期間進化的軍拡競走の解析。第89回日本細菌学会総会。大阪国際交流センター、大阪府。2016年3月23日～25日。

38. 島倉秀勝、齋藤拓、藤村正人、岡本憲明、内山淳平、阪口雅弘。食物有害反応を示す犬における卵白アレルギーに対するIgE反応性の検討。第158回日本獣医学会学術集会。北里大学、青森。2015年9月8日。

39. 平山隆一郎、鈴木仁人、内山淳平、松井真理、鈴木里和、柴山恵吾、阪口雅弘、木内明男。イヌにおける新規口腔内常在細菌の同定と全ゲノム配列解析。第158回日本獣医学会学術集会。北里大学、青森。2015年9月7日。

40. 松井秀仁、内山淳平、井上愛実、松崎茂展、花木秀明。メチシリン耐性黄色ブドウ球菌に対する迅速診断方法の開発。第18回北里微生物アカデミー、相模原。2015年8月6日。

41. 阪口義彦、内山淳平、Mar.ANma A. Oliva、Antonio J. Martin-Galiano、JosNi M. Andreu、小椋義俊、山本 由弥子、松崎茂展、林 哲也、小椋恵二、林 俊治。C型ポツリヌス毒素変換ファージの生存に必要なゲノム領域の解析。第18回北里微生物アカデミー、相模原。2015年8月6日。

42. Naoyuki Miyazaki, Jumpei Uchiyama, Shigenobu Matsuzaki, Kazuyoshi Murata. Cryo-EM study of the bacteriophage S6 of Staphylococcus aureus. 日本顕微鏡学会第71回学術講演会。京都国際会議場、2015年5月13日～15日(発表:13日)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
○出願状況(計2件)

名称: B群連鎖球菌選択的増菌用培地
発明者: 内山淳平、阪口雅弘、松井秀仁、花木秀明
権利者: 麻布大学・北里大学
種類: 特許権
番号: 特願2016-247315
出願年月日: 平成28年12月21日
国内外の別: 国内

名称: 新規バクテリオファージおよび細菌性眼内炎治療剤
発明者: 福田憲、松崎茂展、福島敦樹、大畑雅典、内山淳平
権利者: 高知大学
種類: 特許権
番号: 特願2018-44407
出願年月日: 平成30年3月12日
国内外の別: 国内

○取得状況(計1件)

名称: 黄色ブドウ球菌に結合するタンパク質及びそのタンパク質を利用した黄色ブドウ球菌の測定方法
発明者: 内山淳平、竹村伊代、松崎茂展、大畑雅典
権利者: 麻布大学
種類: 特許権
番号: 特許第5925075号
取得年月日: 平成28年4月28日
国内外の別: 国内

〔その他〕

「ファージリガンド分子を利用した細菌検出技術の開発」日経産業新聞 [2015年10月23日]

6. 研究組織

(1)研究代表
内山 淳平 (UCHIYAMA, Jumpei)
研究者番号: 20574619

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
松崎 茂展 (MATSUZAKI, Shigenobu)
研究者番号: 00190439
黒川 健児 (KUROKAWA, Kenji)
研究者番号: 80304963
宮崎 直幸 (MIYAZAKI, Naoyuki)
研究者番号: 00634677
村田 和義 (MURATA, Kazuyoshi)
研究者番号: 20311201

(4)研究協力者
内山 伊代 (UCHIYAMA, Iyo)