

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 2 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26860290

研究課題名(和文) *Vibrio alginolyticus*のコラゲナーゼの産生誘導機構の解明研究課題名(英文) Mechanism of inducibility of collagenase in *Vibrio alginolyticus*

研究代表者

美間 健彦 (Mima, Takehiko)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：80596437

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：海洋性細菌*Vibrio alginolyticus*は、創傷感染の原因菌である。本菌の病原性にはコラゲナーゼが関与している。本菌のコラゲナーゼ産生は、VarS/VarA二成分制御系により調節される。本研究では、VarS/VarA制御系が調節する4つのsmall RNAを同定した。そして、VarAがそれらのプロモーター領域に結合し、転写活性を正に制御することを明らかにした。さらにHapRは、コラゲナーゼ遺伝子のプロモーター領域に結合して、転写を直接調節する転写因子であると明らかにした。

研究成果の概要(英文)：*Vibrio alginolyticus*, a marine bacterium, is a causative agent of wound and ear infections. Collagenase is involved in its pathogenicity. We have previously revealed that the expression of collagenase is regulated by the VarS/VarA two-component regulatory system. In this study, we identified four small RNAs (CsrB1, CsrB2, CsrB3, CsrC) whose expressions were regulated by the VarS/VarA regulatory system. The transcriptional activities of promoters of all four small RNAs were positively regulated by the VarS/VarA regulatory system. Amount of CsrB3 was decreased in the cells of the varS and varA deletion mutant, but, inconsistent with the transcriptional activities, those of CsrB1, CsrB2 and CsrC were increased. This result suggests that there is a hitherto uncharacterized mechanism to regulate the amounts of small RNAs in the cells. In addition, we identified that HapR, the master regulator of quorum sensing system, regulates the transcriptional of collagenase.

研究分野：細菌学

キーワード：Vibrio 二成分制御系 コラゲナーゼ 発現調節 small RNA 転写調節因子

1. 研究開始当初の背景

薬剤耐性菌による感染症は、現在の臨床医学の大きな問題点の一つである。新規抗菌薬のターゲットとなる細菌分子は調べ尽くされ、新規抗菌薬に対して細菌が速やかに耐性を獲得することも懸念されている。そのため製薬企業も抗菌薬開発に消極的と言われており、新規抗菌薬の承認数は近年急速に減少している。そのような状況の下、新しい作用機構を持つ感染症治療薬の研究が始まっている。その一つが、細菌の病原因子を阻害することで感染症の発症を抑え、宿主の免疫機構による細菌排除を促す薬物である。さらに近年、新規感染症治療薬の候補として最も盛んに研究されているものの一つが、細菌の毒素産生を阻害する薬物である。そのような薬物は細菌の生育を阻害しないため、耐性獲得の防止においても有用と考えられている。

Vibrio 属や *Clostridium* 属などの細菌には、毒素としてコラゲナーゼを産生し、膠原線維を分解することで結合組織を破壊し感染巣を急速に拡大するものがある。そのような細菌感染症においては、コラゲナーゼの産生を阻害する物質が新規の治療薬となることが期待される。本研究では、*Vibrio* 属細菌のモデルとして *V. alginolyticus* を研究対象とする。本菌は主に魚介類の感染症の原因菌であり、養殖業において養殖魚を全滅させることもある。ヒトでは、創傷感染や外耳・中耳への感染症を引き起こすことが知られており、重症度の高い *V. vulnificus* (いわゆる人喰いバクテリア) 感染症に類似した創傷感染の症例も、近年複数報告されている。このような劇症創傷感染の病態にもコラゲナーゼが関与していると考えられる。

これまでの研究の結果、*V. alginolyticus* のコラゲナーゼ産生を調べたところ、本菌は培地中に添加したゼラチン(コラーゲンの熱変性物)の濃度に依存してコラゲナーゼを産生した。さらに、種々のコラーゲン様の配列をもつペプチドを合成してコラゲナーゼの産生を調べたところ、ペプチドの配列に依存してコラゲナーゼを産生することが分かった。これらの結果から、本菌は環境中のコラーゲンの存在を感知する機構(コラーゲン・センサー)を持っていることが示唆された。そこで、*V. alginolyticus* のコラーゲン・センサーを同定するために、トランスポゾンを用いたランダムミュタジェネシスを行った。その結果、コラゲナーゼ産生にかかわる遺伝子としてセンサー・キナーゼをコードする遺伝子(*varS*)が同定された。*varS* 欠失変異株はコラゲナーゼ産生能を失った。また、*varS* 変異株に野生型 *varS* 発現プラスミドを導入したところ、コラゲナーゼ産生能が相補された。これらの結果から、*VarS* がコラゲナーゼの産生に関わっていることが明らかとなり、コラゲナーゼ産生誘導機構が推定された。

2. 研究の目的

V. alginolyticus のコラゲナーゼ産生誘導機構を解明するために、本研究では下記の①と②について明らかにする。

① *VarS/VarA* 制御系が制御する sRNA の同定とその発現調節機構の解明

BLAST を用いた解析により、*VarS* は *VarS/VarA* 二成分制御系のセンサー・キナーゼと予想された。二成分制御系では、センサー・キナーゼが環境中のシグナルを感知することで自己リン酸化され、続いてそのリン酸基をレスポンス・レギュレーターに転移する。リン酸化されたレスポンス・レギュレーターは活性化され、下流遺伝子の転写開始を調節する。*V. alginolyticus* のゲノム配列を決定したところ、*VarS* と二成分制御系を構成するレスポンス・レギュレーター(*VarA*)が推定された。*varA* 欠失株のコラゲナーゼ産生は、低下した。また *in vitro* リン酸化実験により、*VarS* から *VarA* へリン酸基が転移することが明らかとなった。以上から、推定された *VarA* は、*VarS* と二成分制御系を構成し、コラゲナーゼの産生を制御すると考えられた。

他菌種においては、*VarS/VarA* 制御系は small RNA (sRNA) の発現を調節することで下流の遺伝子発現を調節する。そこで、本研究では、本菌の *VarS/VarA* 制御系も sRNA の発現を調節するか明らかにする。*VarS/VarA* 制御系によって調節される sRNA を同定し、その発現調節機構を明らかにする。

② *colA* の転写因子の同定とその機能解析

VarS/VarA-sRNA 制御系は、下流のタンパク質の発現を翻訳レベルで調節すると予想される。他方、研究代表者らは本菌における *colA* の発現調節は、転写レベルで行われることを明らかにした。これらから、*VarS/VarA* 制御系は sRNA を介して転写因子の発現を翻訳レベルで調節しており、その転写因子が *colA* の発現を転写レベルで調節していると予想される。そこで本研究では、プロモーター領域に結合して、*colA* の転写を直接調節する転写因子を同定する。

3. 研究の方法

① *VarS/VarA* 制御系が制御する sRNA の同定とその発現調節機構の解明

他菌種において *VarS/VarA* 制御系は sRNA の発現調節を介して下流の遺伝子発現を翻訳レベルで調節することが報告されている。そこで、*V. alginolyticus* のゲノム配列を探索して、*VarS/VarA* 制御系によって発現が調節される sRNA を推定する。推定された sRNA の転写活性が *VarS* および *VarA* によって制御されるかを、sRNA のプロモーターと *lacZ* との融合遺伝子を挿入したプラスミド DNA を持つ株の β -galactosidase 活性を測定し調べる。さらに sRNA の発現量に対する *VarS* および *VarA* の影響を、northern blot 法により調べる。次に sRNA の転写開始点を 5' RACE 法により決定する。*VarA* を GST 融合タンパク質

として大腸菌タンパク質発現系を用いて生産し精製する。得られた GST-VarA 融合タンパク質と、sRNA のプロモーター領域の DNA 断片を用いてゲルシフトを行い、VarA が sRNA のプロモーター領域に結合するか調べる。

② *colA* の転写因子の同定とその機能解析

VarS/VarA-sRNA 制御系による下流の遺伝子発現調節は、翻訳レベルで行われると考えられる。しかし qRT-PCR 法による解析の結果から、本菌の *colA* の発現は転写レベルで行われることが明らかとなった。このことから、VarS/VarA-sRNA 制御系は、まず *colA* の転写因子の発現を翻訳レベルで調節し、その転写因子が *colA* の発現を転写レベルで調節すると予想される。そこで、*colA* の転写因子の同定を行う。まず、*colA* のプロモーター周辺の発現調節に関与する領域を、LacZ レポーターアッセイにより同定する。*colA* の開始コドンより上流側の DNA 領域を *lacZ* 遺伝子の 5' 側に挿入した融合遺伝子を作製する。この融合遺伝子を、mini-Tn7 insertion system を用いて野生株の染色体 DNA 上に挿入する。得られた株の β -galactosidase 活性が培地に添加したゼラチンによって誘導されるかを調べ、*colA* の発現調節にかかわる DNA 領域を同定する。同定された DNA 領域に転写因子が結合し *colA* の転写が調節されると考えられる。そこで、同定された DNA 領域を磁気ビーズに固相化し、野生株の細胞内タンパク質からその DNA 領域に結合するタンパク質をプルダウンする。プルダウンされたタンパク質を nanoLC-MS/MS 解析して、転写因子を同定する。同定された転写因子の遺伝子欠失株を作製し、欠失株中の *colA* の発現を調べることで、その転写因子により転写が調節されるか明らかにする。さらに、HapR を GST 融合タンパク質として大腸菌タンパク質発現系を用いて生産して精製する。精製した GST-HapR 融合タンパク質と、*colA* のプロモーター領域の DNA 断片を用いてゲルシフトを行い、HapR が *colA* プロモーター領域に結合するか調べる。

4. 研究成果

① VarS/VarA 二成分制御系が制御する sRNA の同定を試みた。他の細菌において VarS/VarA 系は、sRNA の発現調節を介して下流の遺伝子発現を翻訳レベルで制御すると報告されている。VarS/VarA 系が制御する sRNA は、その塩基配列の類似性に基づいて CsrB と CsrC の二種類に分類されている。そこで、*V. alginolyticus* の染色体 DNA のドラフト配列を探索したところ、3 つの *csrB* (*csrB1*, *csrB2*, *csrB3*) と 1 つの *csrC* が推定された。推定された CsrB と CsrC の二次構造を、核酸二次構造予測プログラム MFOLD (<http://unafold.rna.albany.edu/?q=mfold/rna-folding-form>) を用いて予測した。その結果、いずれの Csr も 11~16 個の loop 領域に GGA motif を持つ stem-and-loop からなる特徴的な構造を有しており、VarS/VarA 系

が調節する sRNA と予測された (図 1)。Northern blot 法により Csr の発現を調べたところ、発現量に差があるものの、いずれの Csr も野生株において発現していることが明らかとなった (図 2)。

csrB および *csrC* の発現は、VarS/VarA 系によって調節されると予想された。そこで各 *csr* のプロモーター領域と *lacZ* との融合遺伝子を持つプラスミドを作製し、野生株および *varS* または *varA* 欠失株中の各 *csr* の転写活性を調べた。その結果、*varS* または *varA* 欠失株中の *csr* の転写活性はいずれも、野生株よりも低下することが明らかとなった (図 3)。

この結果から、4 つの *csr* の転写活性は VarS/VarA 制御系により正に調節されることが明らかとなった。次に northern blot 法により *varS* または *varA* 欠失株中の Csr の発現量を野生株と比較した。その結果、*varS* または *varA* 欠失株における CsrB3 の発現量は、野生株と比較して低下していた (図 2)。一方、CsrB1、CsrB2 および CsrC の発現量は、予想に反し野生株よりも増加していた。図 3 に示すように、それら 3 つの *csr* の転写活性はいずれも VarS/VarA 系によって正に調節されていたことから、Csr の発現量を転写後に調節する分子機構が存在すると考えられる。これまでに他菌種において報告されている全ての Csr の発現量は、VarS/VarA 系により正に調節されており、CsrB1、CsrB2 および CsrC は、VarS/VarA 系によって発現量が負に調節される初めての Csr である。

4 つの *csr* のうち 1 つを欠失させた変異株中の他の 3 つの Csr の発現量を northern blot 法により調べた。その結果、1 つの *csr* の欠失が他の Csr の発現量に影響を示すことが明らかとなった。この結果から、4 つの Csr の発現量を相互に調節する分子機構が存在することが示唆された。これまでにその様な報告はなく、VarS/VarA 系が調節する Csr の発現量の未知の調節機構の存在が予想される。

VarA は、各 *csr* のプロモーター領域に結合し、その発現を直接調節するか調べた。まず 5' RACE 法により *csr* の転写開始点を決定した。転写開始点より上流領域のゲノム配列を探索したところ、VarA 結合配列が推定された。

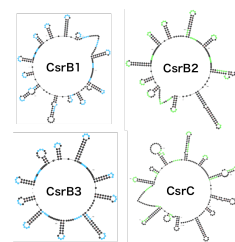


図 1. Csr の予測二次構造

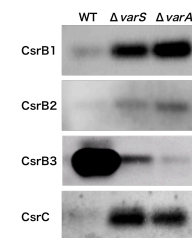


図 2. 野生株と欠失株における Csr の発現量の比較

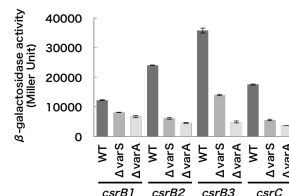


図 3. *csr* のプロモーター領域の転写活性

そこで VarA が、推定された VarA 結合配列に結合するかゲルシフト法により調べた。その結果、推定 VarA 結合配列を含む DNA 断片では VarA の量に依存してバンドのシフトが見られたが、推定 VarA 結合配列を含まない DNA 断片ではバンドのシフトが見られなかった (図 4)。この結果から VarA は、推定された

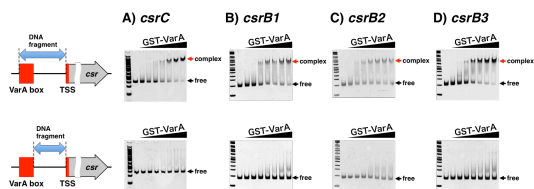


図 4. *csr* のプロモーター領域への VarA の結合

VarA 結合配列に結合することが明らかとなった。以上の結果から *csr* の発現は、VarA が転写開始点の上流の VarA 結合配列に結合することにより正に調節されると考えられた。②コラゲナーゼ遺伝子 (*colA*) のプロモーター領域に結合して、その転写を直接制御する転写因子の同定を試みた。まず *colA* の転写調節に必要な染色体 DNA 領域の同定を試みた。推定プロモーター配列を含む *colA* の上流側 313 bp の領域を PCR で増幅し、*lacZ* 遺伝子の 5' 側に挿入した。この融合遺伝子を野生株の染色体 DNA に挿入し、得られた株の β -galactosidase 活性を測定した。その結果 β -galactosidase 活性が、培地へのゼラチン (基質) の添加によって誘導された (図 5)。この β -galactosidase 活性の誘導パターンは、コラゲナーゼ産生の誘導パターンと同様であった。以上より、この 313 bp の DNA 領域が *colA* の発現誘導に必要であることが明らかとなった。この DNA 領域に転写調節因子が結合すると予想された。そこで、この 313 bp の領域の DNA 断片を固相化した磁気ビーズを用いて、野生株から調整した cleared lysate 中からこの領域の DNA 断片に結合するタンパク質をプルダウンし、質量分析法により同定した。その結果、HapR が同定された。HapR は、クオラム・センシング (QS) のマスター・レギュレーターと呼ばれる転写調節因子であり、菌の密度に応じた遺伝子発現制御に関する。本菌のコラゲナーゼ産生は、後期対数増殖期に達した後に誘導されることから、QS による制御も受けると考えられる。さらにこれまでの研究から、本菌のコラゲナーゼの産生に関ることが明らかとなった VarS/VarA 二成分制御系のシグナルは、QS 系に繋がること

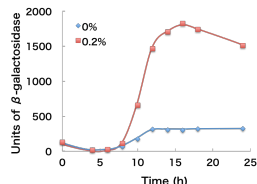


図 5. *colA* プロモーター-*lacZ* 融合遺伝子挿入株の β -galactosidase 活性

ことが他の細菌において報告されている。以上より、HapR が *colA* の発現調節に関ると予想された。そこで、野生株の染色体 DNA 上の *hapR* を欠失させた変異株を作製し、コラゲナーゼ産生を調べた。その結果、*hapR* 欠失株は親株と比較してコラゲナーゼ産生が低下した (図

6)。さらに qRT-PCR により *colA* の発現量を

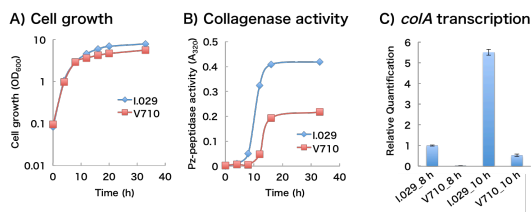


図 6. *hapR* 欠失株の性質

比較したところ、*hapR* 欠失株中での *colA* の発現量は、親株より低下していた。以上の結果から、HapR は本菌の *colA* の発現調節に関ることが明らかとなった。*hapR* 欠失株のコラゲナーゼ産生のパターンは、*varA* 欠失株と同様であった。このことから、VarS/VarA 二成分制御系は、HapR を介して *colA* の発現を制御する可能性が考えられた。

次に HapR が実際に *colA* のプロモーター領域に結合するかゲルシフト法により調べた。大腸菌タンパク質発現系を用いて HapR を GST 融合タンパク質として生産して精製した。得られた GST-HapR 融合タンパク質と *colA* プロモーター領域の DNA 断片を用いてゲルシフトを行った。その結果、添加した rHapR の量に依存したバンドのシフトが観察された (図 7)。この結果から、HapR は *colA* プロモーター

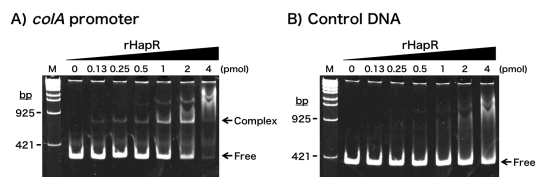


図 7. rHapR の *colA* プロモーター領域への結合

領域に結合すると考えられた。さらに *colA* プロモーター領域の種々の領域の DNA 断片を作製してゲルシフトを行い、HapR との結合に関する領域を決定した。その結果、HapR との結合には *colA* プロモーター領域中の 26 bp の領域が必要であることが分かった。この領域には、他の菌種で報告されている HapR 結合に必要なモチーフ配列に類似の配列が保存されていた。以上の結果から HapR は、*colA* のプロモーター領域の HapR 結合モチーフに結合し、*colA* の発現を制御することが明らかとなった。

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 3 件)

- ① Structure-activity relationships and action mechanisms of collagen-like antimicrobial peptides. Masuda R, Dazai Y, Mima T, Koide T. Biopolymers. 2017. 108(1). DOI: 10.1002/bip.22931. 査読有
- ② Versatile nourseothricin and streptomycin/spectinomycin resistance gene cassettes and their use in chromosome integration vectors. Lehman

- SS, Mladinich KM, Boonyakanog A, Mima T, Karkhoff-Schweizer RR, Schweizer HP. J Microbiol Methods. 2016. 129:8-13. DOI: 10.1016/j.mimet.2016.07.018. 査読有
- ③ Collagen-like antimicrobial peptides. Masuda R, Kudo M, Dazai Y, Mima T, Koide T. Biopolymers. 2016. 106(4):453-9. DOI: 10.1002/bip.22791. 査読有

[学会発表] (計 20 件)

- ① 美間健彦、西川裕太郎、中田悠介、波多野直哉、後藤和義、山本由弥子、横田憲治、松下 治、*Vibrio alginolyticus* のコラゲナーゼ発現は HapR により調節される、第 90 回日本細菌学会総会、2017 年 3 月 19 日～21 日、仙台国際センター (宮城県仙台市)
- ② 松下 治、内田健太郎、関口裕之、美間健彦、後藤和義、山本由弥子、横田憲治、高相晶士、Ryan Bauer、Joshua Sakon、細菌性コラゲナーゼのマトリックス・アンカーの構造解析と骨新生誘導のための複合材開発、第 90 回日本細菌学会総会、2017 年 3 月 19 日～21 日、仙台国際センター (宮城県仙台市)
- ③ 美間健彦、師岡和輝、白川 拓、後藤和義、山本由弥子、横田憲治、松下 治、*Vibrio alginolyticus* のコラゲナーゼ産生調節に関する新規転写調節因子の解析、第 69 回日本細菌学会中国・四国支部総会、2016 年 10 月 15 日～16 日、香川国際会議場 (香川県高松市)
- ④ 西川裕太郎、美間健彦、中田悠介、波多野直哉、後藤和義、山本由弥子、横田憲治、松下 治、*Vibrio alginolyticus* I. 029 のコラゲナーゼの発現は HapR により調節される、第 69 回日本細菌学会中国・四国支部総会、2016 年 10 月 15 日～16 日、香川国際会議場 (香川県高松市)
- ⑤ 横田憲治、松下 治、山本由弥子、美間健彦、後藤和義、渡辺朱理、苔口 進、岡山大学病院における *Helicobacter pylori* 各薬剤耐性菌の状況、第 69 回日本細菌学会中国・四国支部総会、2016 年 10 月 15 日～16 日、香川国際会議場 (香川県高松市)
- ⑥ Ryo Masuda, Yui Dazai, Takehiko Mima, Masakazu Kudo, Takaki Koide, Antimicrobial triple-helical peptides, 34th European Peptide Symposium, 2016 年 9 月 4 日～9 日、Leipzig, Germany
- ⑦ 増田 亮、太宰 結、工藤正和、美間健彦、小出隆規、抗菌性 3 重らせんペプチドの開発と作用機序の解明、日本薬学会 第 136 年会、2016 年 3 月 26 日～29 日、パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)
- ⑧ Agus Eka Darwinata、後藤和義、美間健彦、山本由弥子、横田憲治、松下 治、Regulation of three small regulatory RNAs CsrBs in *Vibrio alginolyticus*、第 89 回日本細菌学会総会、2016 年 3 月 23 日～25 日、大阪国際交流センター (大阪府大阪市)
- ⑨ 西川裕太郎、美間健彦、中田悠介、後藤和義、山本由弥子、横田憲治、松下 治、*Vibrio alginolyticus* I. 029 のコラゲナーゼ発現は HapR により調節される、第 89 回日本細菌学会総会、2016 年 3 月 23 日～25 日、大阪国際交流センター (大阪府大阪市)
- ⑩ 濱本奈々、内田健太郎、関口裕之、美間健彦、後藤和義、山本由弥子、横田憲治、高相晶士、松下 治、合成コラーゲン様基剤とコラーゲン結合型線維芽細胞増殖因子を用いた複合材による骨形成促進法の開発、第 89 回日本細菌学会総会、2016 年 3 月 23 日～25 日、大阪国際交流センター (大阪府大阪市)
- ⑪ 横田憲治、松下治、山本由弥子、美間健彦、後藤和義、林 俊治、阪口義彦、早期胃癌 ESD 後再発予測における *H. pylori*-J 抗原を用いた IgG サブクラスの有効性、第 89 回日本細菌学会総会、2016 年 3 月 23 日～25 日、大阪国際交流センター (大阪府大阪市)
- ⑫ Ryo Masuda, Masakazu Kudo, Yui Dazai, Takehiko Mima, Takaki Koide, Discovery of antimicrobial peptides in a combinatorial triple-helical peptide library、第 52 回ペプチド討論会、2015 年 11 月 16 日～18 日、平塚中央公民館 (神奈川県平塚市)
- ⑬ Agus Eka Darwinata、後藤和義、美間健彦、山本由弥子、横田憲治、松下 治、Regulation of small regulatory RNA CsrB in *Vibrio alginolyticus* and its role in collagenase production、第 68 回日本細菌学会中国・四国支部総会、2015 年 10 月 3 日～4 日、岡山大学 (岡山県岡山市)
- ⑭ 美間健彦、後藤和義、山本由弥子、横田憲治、松下 治、*Vibrio alginolyticus* I. 029 の VarS/VarA 二成分制御系によるコラゲナーゼ産生誘導機構の解明第 27 回微生物シンポジウム、2015 年 9 月 4 日～5 日、就実大学 (岡山県岡山市)
- ⑮ Agus Eka Darwinata、後藤和義、美間健彦、山本由弥子、横田憲治、松下 治、The role of small regulatory RNA in collagenase production in *Vibrio alginolyticus*、第 88 回日本細菌学会総会、2015 年 3 月 26 日～28 日、長良川国際会議場 (岐阜県岐阜市)
- ⑯ 松下 治、内田健太郎、美間健彦、後藤和義、山本由弥子、横田憲治、Growth factor delivery based on substrate-binding domains derived from a clostridial collagenase、第 88 回日本細菌学会総会、2015 年 3 月 26 日～28 日、長良川国際会議場 (岐阜県岐阜市)
- ⑰ 横田憲治、松下 治、山本由弥子、美間健彦、後藤和義、林 俊治、平井義一、

Helicobacter pylori 抗原刺激による末梢血の免疫関連遺伝子の転写解析と胃がん発症との関係、第 88 回日本細菌学会総会、2015 年 3 月 26 日～28 日、長良川国際会議場（岐阜県岐阜市）

- ⑱ 前田恵子、美間健彦、後藤和義、山本由弥子、横田憲治、松下 治、*Vibrio alginolyticus* の VarS/VarA 二成分制御系のセンサー・キナーゼ VarS のリン酸基転移反応に関するアミノ酸残基の同定、第 68 回日本細菌学会中国・四国支部総会、2014 年 10 月 4 日～5 日、徳島文理大学（徳島県徳島市）
- ⑲ 山本由弥子、丸濱功太郎、松香芳三、美間健彦、後藤和義、横田憲治、松下 治、小熊恵二、抹消投与された A 型ボツリヌス神経毒素の三叉神経における局在と軸索輸送、第 68 回日本細菌学会中国・四国支部総会、2014 年 10 月 4 日～5 日、徳島文理大学（徳島県徳島市）
- ⑳ 横田憲治、松下 治、山本由弥子、美間健彦、後藤和義、渡辺朱理、苔口 進、院内環境より分離した *Staphylococcus* の分子疫学、第 68 回日本細菌学会中国・四国支部総会、2014 年 10 月 4 日～5 日、徳島文理大学（徳島県徳島市）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 3 件）

名称：神経再生用移植材料、神経再生用移植材料の製造方法、及び神経再生用移植材料製造用キット

発明者：内田健太郎、井上 玄、藤巻寿子、高相晶士、佐久太郎、磯部仁博、松下 治、美間健彦、西 望、服部俊治、田中啓友、小倉孝之

権利者：同上

種類：特許

番号：PCT/JP2015/079334

出願年月日：平成 27 年 10 月 16 日

国内外の別： 国外

名称：抗微生物活性を有するコラーゲン様ペプチド及びその組成物

発明者：小出隆規、増田 亮、工藤正和、太宰 結、美間健彦

権利者：同上

種類：特許

番号：特願 2015-130295

出願年月日：平成 27 年 6 月 29 日

国内外の別： 国内

名称：神経再生用移植材料、神経再生用移植材料の製造方法、及び神経再生用移植材料製造用キット

発明者：内田健太郎、井上 玄、藤巻寿子、高相晶士、佐久太郎、磯部仁博、松下 治、美間健彦、西 望、服部俊治、田中啓友、小倉孝之

権利者：同上

種類：特許

番号：特願 2014-212085

出願年月日：平成 26 年 10 月 16 日

国内外の別： 国内

○取得状況（計 2 件）

名称：Growth factor anchoring type bone graft material, method for producing growth factor anchoring type bone graft material, kit for producing growth factor anchoring type bone graft material, and method for forming bone

発明者：Uchida K, Naruse K, Takaso M, Mima T, Matsushita O, Haraguchi T, Nishi N.

権利者：同上

種類：特許

番号：US9, 248, 164

取得年月日：平成 28 年 2 月 2 日

国内外の別： 国外

〔その他〕

ホームページ等

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科病原細菌学分野ホームページ

<http://www.okayama-u.ac.jp/user/saikin/Bacteriology/Welcome.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

美間健彦 (MIMA, Takehiko)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号：80596437