

マイクロポアによる薬剤刺激応答の解析と耐性識別

(1.名古屋大学工学部、2.名古屋大学大学院工学研究科、3.名古屋大学未来社会創造機構 ナノライフシステム研究所、4.JST さきがけ、5.大阪大学産業科学研究所、6.量子科学技術研究開発機構)○井上健太郎¹、嶋田泰祐²、安井隆雄^{2,3,4}、山崎聖司⁵、西野邦彦⁵、馬場嘉信^{2,3,6}

Micropore-based detections of drug-induced responses for discriminating resistant bacteria

(1. School of Engineering, Nagoya University, 2. Graduate School of Engineering, Nagoya University, 3. Institute of Nano-Life-Systems, Institute of Innovation for Future Society, Nagoya University, 4. PRESTO, Japan Science and Technology Agency (JST), 5. Institute of Scientific and Industrial Research, Osaka University, 6. Institute of Quantum Life Science, National Institutes for Quantum Science and Technology) ○Kentaro INOUE¹, Taisuke SHIMADA², Takao YASUI^{2,3,4}, Seiji YAMASAKI⁵, Kunihiko NISHINO⁵, Yoshinobu BABA^{2,3,6}

Bacteria that are resistant to drugs (drug-resistant bacteria) is emerging health issues due to losses of treatment choices for infection diseases. Because inappropriate uses of drugs lead to spread resistant bacteria, evidence-based prescriptions via rapid drug susceptibility tests are required. However, existing technologies based on cultivation and genetic analysis are difficult to meet clinical requirements due to time consuming and limited knowledges on resistant genes. Here, we developed a micropore-based method to analyze drug stimulations-induced changes of bacterial cell properties, and then, demonstrated to discriminate drug resistances. The drug-induced changes of the bacterial properties were analyzed from the signal shape that reflects the bacterial properties including cell size and surface charge. Drug-sensitive and drug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*, which are bacterial species likely to become multidrug-resistant, were used as the models. By stimulating the bacterial strains with three drugs showing different action mechanisms, we observed different changes of bacterial properties between drug-sensitive and drug-resistant strains within about 10 minutes. Based on the bacterial responses before and after drug stimulations, we were able to discriminate the drug resistances with more than 80% accuracy.

Keywords : drug-resistant bacteria, antimicrobial drug, discrimination, micropore, single bacteria

薬剤に耐性を示す細菌(耐性菌)の出現により、人類は感染症治療の選択肢を失いつつある。薬剤の不適切な使用は耐性菌の拡大につながるため、迅速な有効性評価による薬剤投与が求められる。しかし、検査時間(数日)や適用可能な耐性遺伝子の制限により、培養や遺伝子解析に基づく既存技術は、この要求を満たさない。本研究では、薬剤刺激が誘起する細菌の性状変化に着目し、マイクロポアを用いた単一細菌センシングに基づく刺激応答の解析と耐性識別への展開を行った。ポアの両端に電圧を印加し、単一細菌が通過する際のイオン流の減少を電気的なシグナルとして計測した。サイズや表面電荷を含む単一細菌細胞の性状がシグナルの形状に反映されるため、当該形状に基づき薬剤刺激が誘起する細菌性状の変化を解析した。治療困難な多剤耐性化する細菌種(緑膿菌と大腸菌)の感受性および耐性菌株をモデルとした。異なる作用機序を有する三種類の薬剤を用いて刺激したところ、約10分で感受性・耐性株間で異なる細菌性状の変化を観察した。これらの刺激前後の変化度合いを利用し、80%以上で薬剤耐性を識別可能であった。