

院内感染と闘うための新たな分子ツール

東京慈恵会医科大学の細菌学講座では、難治性の細菌感染症に関する研究に HydroSpeed™ プレートウォッシャーと Infinite® F200 PRO マルチ検出モードリーダーを搭載した Freedom EVO® ワークステーションを使用し、化合物のハイスループットスクリーニングを実施している。

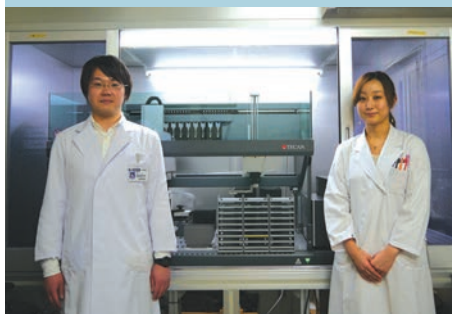
現在、世界中の臨床現場では、慢性感染症を引き起こす毒性の高い細菌が発見される例が増え、大きな問題となっている。これらの細菌の中には、体内に埋め込まれた医療機器（カテーテルやペースメーカー、人工関節など）の表面にバイオフィームという名の構造体を作り、接着する能力を持つものがある。バイオフィームは、タンパク質や核酸、多糖などでできた細胞外マトリックスと呼ばれる生体高分子であり、これが固体表面に細胞を接着できる足場を作る。バイオフィームに包まれた細菌は、免疫システムや抗生物質に対する感受性が低いため、感染症の治療が難しくなる。「私たちはこのバイオフィームの形成を抑制しようとしています。」と、東京慈恵会医科大学の細菌学講座 助教 奥田賢一博士は述べた。「まずはじめに、バイオフィームの形成を阻害する化合物を探索します。次に、これらの化合物と細菌の分子間相互作用を詳しく分析します。バイオフィーム形成のメカニズムを解明することで、感染症の効果的な予防法や治療法が開発できると期待しています。その後、もちろん抗生物質などの抗菌薬も併用すると、臨床現場にとって大きなメリットとなるでしょう」

このチームでは、バイオフィームの形成を阻害する化合物を特定するため、HydroSpeed プレートウォッシャーと Infinite F200 PRO マイクロプレートリーダーを搭載した Freedom EVO ワークステーションを使用し、大規模スクリーニングを実施している。奥田博士は次のように述べた。「午後に細菌の前培養液や化合物のプレート、必要な数のアッセイプレートを Freedom EVO にセットすると、後の作業は装置が行います。自動的に化合物プレートが希釈され、各化合物と細菌培養液が必要な量だけアッセイプレートに分注されます。次に、ロボット マニピュレータームがアッセイプレートを統合型インキュベータに移し、夜間に 37°C でインキュベーションします。プレートは約 16 時間後、HydroSpeed に移動し、洗浄および染色処理されます。この装置は、Cell Protection™ 機能によって流速やヘッドの動きの微調整が可能です。これは、洗浄時にバイオフィームがプレートから剥離してしまうのを防ぐために不可欠な機能です。次に、96 ウェルプレートの底で増殖した細菌を染色し、吸光度測定でバイオフィーム形成量を定量します。バイオフィームはウェルの底ま

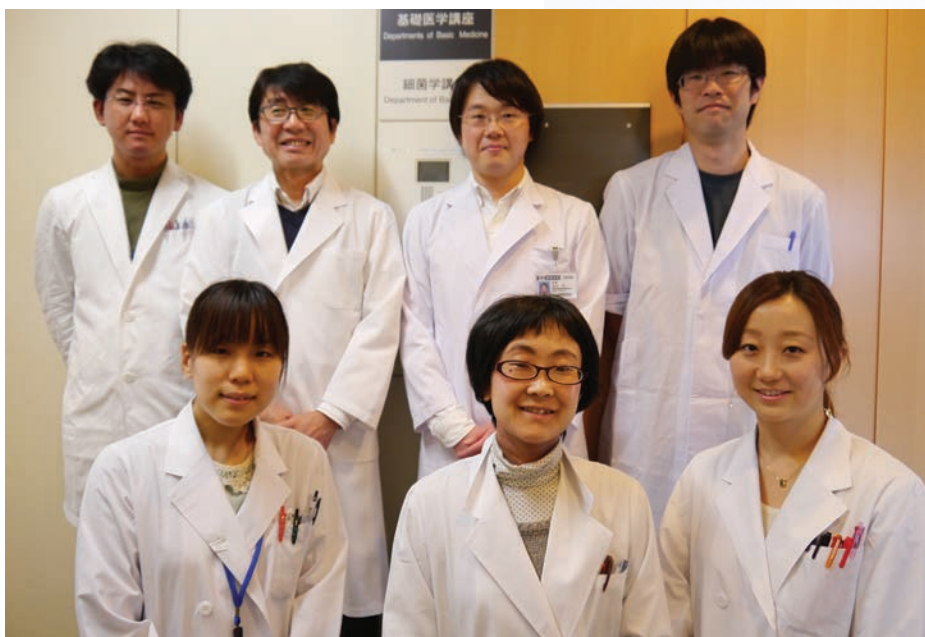
だりに形成されることがありますので、Infinite F200 PRO のマルチリード (Multi Read Per Well= ウェル内多点測定) 機能はきわめて重要です。またソフトウェアの設定は、購入時は Tecan サポート チームに任せましたが、ユーザーが簡単に変更できます。統合型の Infinite リーダーと HydroSpeed プレートウォッシャーは、Freedom EVOware® ソフトウェアを使用して設定内容を幅広く調整することができます」

奥田博士は、自動化のメリットについて次のように述べた。「私たちはバイオフィーム形成能を有した複数の菌株を使用してスクリーニングを進めており、1 か月あたり約 1 万条件のアッセイを行っています。手作業ですべての工程を行うと 2 日間かかります。手動で化合物を分注し、プレートを洗浄する作業は、8 チャネルのマルチピペットを使用しても手間と長い時間が必要です。現在はシステムを常に自動で運転していますので、手動操作は細菌培養液の調製と化合物プレートのセットアップだけです。午後にこの工程を開始すると翌朝データを解析できるため、時間をはるかに有効に使えるようになりました」

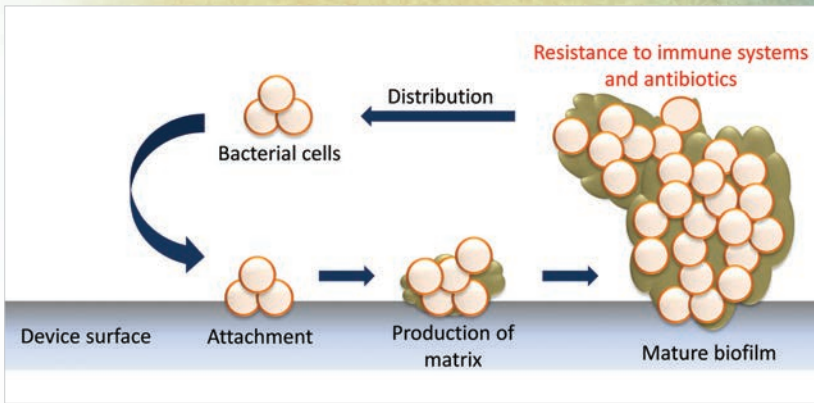
「Freedom EVO ワークステーションの優れた点は、実験に応じた拡張性が高いことだと思います」



Freedom EVO をバックに奥田賢一助教と山田聡美氏



細菌学講座のメンバー 前列 (左から右): 戸頃佑美氏、田嶋亜紀子講師、山田聡美氏
後列 (左から右): 岩瀬忠行講師、水之江義充教授、奥田賢一助教、千葉明夫氏



バイオフィルム感染症のメカニズム

「Freedom EVO ワークステーションの優れた点は、実験に応じた拡張性が高いことだと思います」と奥田博士は述べた。「インキュベータやプレートリーダー、ウォッシャーなどの周辺機器も充実しており、要求を的確に満たすシステムを構築することができました」

Tecan の細胞生物学ソリューションの詳細については、www.tecan.com/cellbiology を参照してください。

東京慈恵会医科大学の細菌学講座についての詳細は、www.square.umin.ac.jp/saikin を参照してください。

■この記事は2013年5月発行 Tecan Journal 2/2013 に掲載されているユーザーストーリーを抜粋、翻訳したものです。ご質問、ご要望は下記までお願いします。

テカンジャパン株式会社

TEL. 044-556-7311/FAX. 044-556-7312

E-mail: infojapan@tecan.com



ハイドロスピード プレートウォッシャーとインフィニット F200 PRO プレートリーダーを搭載した Freedom EVO ワークステーション