

「新たな抗生物質効果を自動実験ロボットにより探索・発見する」

理化学研究所 生命機能科学研究センター 芝井 厚

1 研究の背景と目的

薬剤耐性菌の増加は世界的な課題であり、既存の抗生物質のみでは将来的な感染症治療が困難になることが懸念されている。一方で、新規抗生物質の創出は容易ではなく、既存薬や既知基質の新たな組み合わせ効果を探査することの重要性が高まっている。本研究では、抗生物質と各種基質の組み合わせが細菌増殖に与える影響を、自動実験ロボットを用いて高効率に評価し、新たな抗生物質効果の発見につながる基盤を構築することを目的とした。特に、野生型細菌と耐性化細菌で応答が異なる組み合わせ条件を見出し、将来的には耐性菌を選択的に抑制する条件や、耐性進化を遅らせる条件の発見へとつなげることを目指した。これは、申請時に掲げた「耐性菌阻害剤」および「進化抑制剤」の探索という研究構想に対応するものである。

本研究の特徴は、単一薬剤の効果を調べるのではなく、二種類の薬剤または薬剤と基質の組み合わせを二次元濃度空間として系統的に扱う点にある。従来、このような組み合わせ探索は人手では煩雑であり、限られた条件しか試験できなかった。本研究では、自動実験ロボットを用いて多数条件を再現性よく生成・培養・測定し、組み合わせ効果を高スループットに探索することを目指した。こうした考え方は、既存薬の新たな利用法を見いだすという意味で、申請時に示した独創性とも一致している。

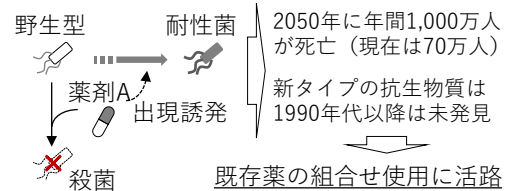
2 研究方法・研究内容

本研究では、大腸菌を主なモデルとして、抗生物質と候補基質の組み合わせ効果を評価するための自動実験系を整備した。具体的には、マイクロプレートを用いて複数の濃度組み合わせ条件を生成し、分注、培養、吸光度測定までを一連のワークフローとして安定運用できるようにした。これにより、多数条件の評価を人手ではなく再現性よく実施するための基盤を構築した。さらに、実験機器制御用の計算機環境や周辺制御系を整備し、装置間連携、測定データ取得、データ整理・可視化を含む一連の運用条件を調整した。これらは、申請時に想定していた二次元濃度条件の自動生成と評価を実行するための基礎である。

助成期間中には、野生型大腸菌 1 株と、3 種の抗生物質に対して進化的に耐性を獲得した菌株 6 株 (各薬剤 2 系統) を対象に、作用機序の異なる 10 種類の薬剤を用いたペアワイズ組み合わせ実験を進めた。10 薬剤からなる 45 通りの薬剤ペアそれぞれについて、二次元濃度条件下での増殖応答を測定し、各菌株のアイソログラムを取得した。これにより、合計 7

**目的: 細菌の薬剤耐性獲得を打破する**

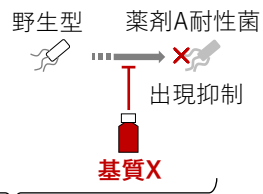
薬剤Aを使い続けると耐性菌が出現してしまう  
 対策①: 耐性菌を優先的に殺す基質を発見  
 対策②: 耐性進化を抑制する基質の発見



**①耐性菌阻害剤**



**②進化抑制剤**



ロボット実験で自動組合せ探索

図1: 目的は薬剤の組合せでの抗菌の実現



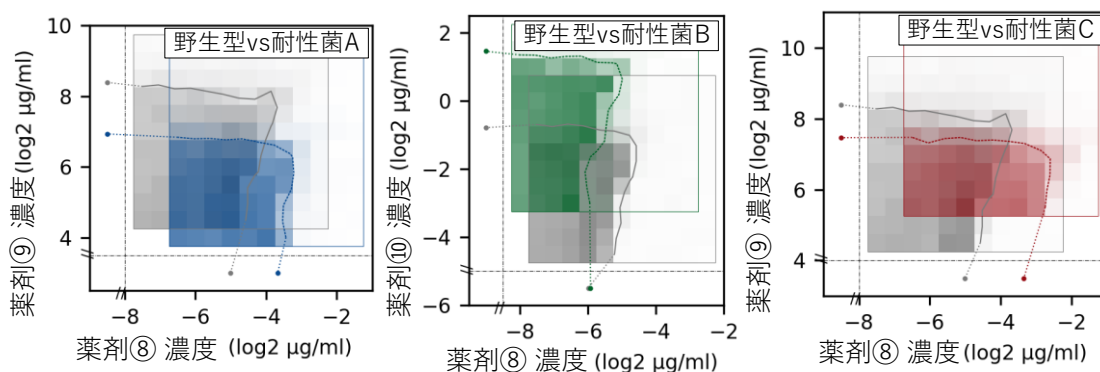


図3 観察された耐性菌の選択的抑制条件の例。野生型(灰)と耐性株(色)で増殖境界が異なり、特定の薬剤組み合わせ濃度領域において耐性株を優先的に抑制し得ることが示唆された。

さらに、取得したアイソログラムから複合的な IC50 曲面を自動抽出し、野生型と耐性株との間で増殖可能領域の差を定量的に比較する解析パイプラインを整備した。この解析により、単剤での感受性変化だけでは捉えにくい、二剤組み合わせ条件における応答の違いを系統的に抽出できるようになった。実際に、いくつかの薬剤組み合わせにおいて、野生型では増殖可能である一方、耐性株では増殖できない濃度領域、あるいはその逆の領域が見いだされており、耐性株を優先的に抑制し得る候補条件が見え始めている。これは申請時に想定した「耐性菌阻害剤」の候補発見に向けた重要な初期成果である。

本研究で得られた初期解析では、特定の耐性株において、複数の薬剤組み合わせで野生型とは異なる増殖境界が観察された。これは、耐性獲得が単に単剤に対する IC50 上昇として現れるだけでなく、二剤空間における増殖可能領域の形状そのものを変化させることを示唆している。したがって、本研究で整備した系は、耐性菌の選択的抑制条件を探索するだけでなく、耐性化に伴う表現型の変化を二次元濃度空間で可視化・定量化する基盤としても有効であることが分かった。

また、自動実験システム 1 台あたり 1 週間でおよそ 50 種類の薬剤組み合わせをテストできることが確認され、得られた結果を解析パイプラインへ順次取り込むことで、探索と発見を継続的に進められる体制が整った。この点は、本助成の成果が単発の実験実施にとどまらず、今後の網羅的な組み合わせ探索にそのまま発展できることを意味する。

本研究は、最終的な大規模探索そのものよりも、その前段階として重要な「探索を実行できる自動実験基盤の構築」と「候補条件評価系および解析系の立ち上げ」に重点を置いた。この基盤整備により、今後、抗生物質と基質の組み合わせによる新規効果を、より網羅的かつ高効率に探索できる段階に到達したことが、本助成による重要な成果である。

#### 4 生活や産業への貢献および波及効果

本研究で整備した自動実験基盤は、薬剤耐性菌対策に向けた新たな探索手法として意義を持つ。既存の抗生物質や既知基質の組み合わせから新しい効果を見出すことができれば、新規化合物の創出だけに依存しない柔軟な抗菌戦略につながる可能性がある。特に、耐性株に対して選択的に有効な条件や、耐性化に伴う増殖境界の変

化を定量的に比較できる点は、従来の単剤中心の評価系にはない利点である。申請時に掲げた「耐性菌阻害剤」「進化抑制剤」の探索という目的に対して、本助成により、その実行基盤と初期候補発見の道筋が具体化された。

また、多数条件を効率よく扱えるラボオートメーション技術は、抗菌薬研究に限らず、微生物培養、薬剤応答評価、実験進化研究など幅広い生命科学研究に応用可能である。産業面では、創薬・バイオ分野におけるスクリーニングの効率化、省力化、再現性向上に貢献し得る。さらに、研究現場で導入可能な自動化手法として発展させることで、限られた人的資源の中でも高度な探索研究を進めやすくなる。したがって、本研究は薬剤耐性問題への基礎的貢献に加え、生命科学実験の自動化基盤の普及という波及効果も期待される。