

令和 4 年 5 月 24 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K16175

研究課題名（和文）大規模ゲノム解析によるセラチアマルセスセンスの病原性および薬剤耐性獲得機構の解析

研究課題名（英文）Large scale genome analysis of *Serratia marcescens* to understand its pathogenicity and antimicrobial resistance

研究代表者

小野 友行 (ONO, TOMOYUKI)

九州大学・大学病院・医員

研究者番号：80725721

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：*Serratia marcescens*は腸内細菌科に属するグラム陰性桿菌である。近年基礎疾患を有する易感染性の患者や周術期の免疫力低下患者における血流感染などの侵襲性感染症が問題となっており、高度薬剤耐性菌も出現してきている。今回大規模ゲノム系統解析を実施した。本研究から*S. marcescens*のゲノム多様性が明らかになり、*S. marcescens*とその近縁種を含めたグループはANIを用いた系統解析から14のクレードに分類されることが判明した。これらの研究結果は近縁種を含めたグループの分類の再構築の際に重要となるゲノムデータとなり、菌の進化などの解明にも有用であると思われる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

*Serratia marcescens*は近年臨床現場で問題となる菌ではあるものの、大規模ゲノム解析はほとんど行われてこなかった。本研究ではデータベースを利用しワールドワイドな大規模ゲノム解析を行った。これらの結果から従来の分類とゲノム解析をもとにした分類では異なった結果になることが示され、さらに薬剤耐性遺伝子を多く持つグループが存在することが判明した。本研究の結果は今後の更なる解析の基礎となるデータとなることが期待される。

研究成果の概要（英文）：*Serratia marcescens* is an important nosocomial pathogen causing various opportunistic infections, such as urinary tract infections, bacteremia and sometimes even hospital outbreaks. In this study, we performed a large-scale genome analysis of *S. marcescens* and closely related species. Our analysis revealed their phylogenetic relationships and complex global population structure, comprising 14 clades, which were defined based on whole-genome average nucleotide identity. These data provide an important genomic basis for reconsidering the classification of this group of bacteria and reveal novel insights into their evolution, biology and differential importance in clinical settings.

研究分野：外科学

キーワード：*Serratia marcescens* セラチアマルセスセンス

## 1. 研究開始当初の背景

*Serratia marcescens* は腸内細菌科に属するグラム陰性桿菌である。近年基礎疾患を有する易感染性の患者や周術期の免疫力低下患者における血流感染などの侵襲性感染症が問題となっており、高度薬剤耐性菌も出現してきている。本菌は環境中に広く棲息しており、土壌などには多様なセラチア菌株が存在すると考えられるが、その遺伝的多様性についてはほとんど解析が行われていない。本研究では、様々な由来や表現型を持つ多様な *S. marcescens* 株とそのゲノム情報を収集し、菌種全体を俯瞰する大規模なゲノム比較解析を行って、本菌の遺伝的多様性とポピュレーション構造を明らかにする。さらに、潜在的な病原性あるいは薬剤耐性獲得能の高い系統の同定し、そういったハイリスク系統における病原性遺伝子や薬剤耐性遺伝子の獲得機構を明らかにすることを目的として研究を開始した。

## 2. 研究の目的

本研究では、多様な環境分離株と臨床分離株を収集して、*S. marcescens* の大規模ゲノム比較解析を行い、本菌の遺伝的多様性の実態を明らかにすることを目的とした。さらに、その情報に基づいて、病原性あるいは薬剤耐性獲得能の高い系統の同定し、それらの系統における病原性関連遺伝子や薬剤耐性遺伝子の獲得機構の解明をすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

共同研究者分与していただいた関西・宮崎県の土壌から分離した環境由来株、フランスのトゥールーズ周辺の土壌から分離された環境由来株、さらに関東・九州の大学病院や市中病院で分離された臨床由来株に加え、申請者自身で収集した関東・九州の土壌から分離した環境由来株をもとにゲノム DNA を QIAGEN の DNeasy Blood & Tissue Kit を用いて抽出し、イルミナ Nextera XT キットを用いてイルミナシーケンス用ライブラリを調整し、イルミナ MiSeq を用いて行いシーケンスを行った。得られたリードデータは Platanus アセンブラを用いてアセンブルし、DFAST システム(<https://dfast.nig.ac.jp/>)により、遺伝子抽出とその機能アノテーションを行い申請者自身のデータベースを作成した。さらに NCBI GenBank に登録されている *S. marcescens* および近縁菌種のゲノム配列情報を取得した。分離年、分離源、分離場所(国名)などのメタ情報が利用可能なデータのみを取得し(データクオリティーの低いものも除外; 集団感染に由来する菌株の場合は代表株のみを使用)、リードデータがあるものは条件を合わせるために申請者で行ったのと同様に Platanus を用いてアセンブルを行い、全株について DFAST システムを用いて遺伝子抽出と機能アノテーションを行った。最終的に、自身で取得したデータと GenBank から得たデータを統合し、本菌のゲノム情報データベースを構築した。構築したゲノム情報データベースに収納したゲノム配列データを用いて、全ゲノム配列に基づく高解像度系統樹解析を行い(プログラムとしては RAXML を使用)、*S. marcescens* という菌種の遺伝的多様性とポピュレーション構造を明らかにした。全株のアノテーションデータを用いた遺伝子レポーターの解析を行い(Roary: the Pan Genome Pipeline を使用)、本菌の pan-genome(菌種全体の遺伝子レポーター)と core genome (ほとんどの株に存在する遺伝子セット)を同定した。また、Average

nucleotide identity (ANI)を用いて近縁菌種(他の *Serratia* 属菌種)との比較を行い、*S. marcescens* の多様性を確認した。さらに作成した高精度系統樹と取得した遺伝子レパトリーのデータを基に、各系統に属する菌株の 1)由来(臨床・環境、侵襲性・非侵襲性感染)、2)潜在的遺伝子のレパトリー、3) 薬剤耐性遺伝子のレパトリーを解析した。

#### 4 . 研究成果

*Serratia marcescens* は腸内細菌科に属するグラム陰性桿菌である。近年基礎疾患を有する易感染性の患者や周術期の免疫力低下患者における血流感染などの侵襲性感染症が問題となっており、高度薬剤耐性菌も出現してきている。今回大規模ゲノム系統解析を実施した。本研究から *S.marcescens* のゲノム多様性が明らかになり、*S.marcescens* とその近縁種を含めたグループは ANI を用いた系統解析から 14 のクレードに分類されることが判明した。これらの研究結果は近縁種を含めたグループの分類の再構築の際に重要となるゲノムデータとなり、菌の進化などの解明にも有用であると思われる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

|  |                    |
|--|--------------------|
| 1. 著者名<br>Ono Tomoyuki, Taniguchi Itsuki, Nakamura Keiji, Nagano Debora Satie, Nishida Ruriko, Gotoh Yasuhiro, Ogura Yoshitoshi, Sato Mitsuhiko P., Iguchi Atsushi, Murase Kazunori, Yoshimura Dai, Itoh Takehiko, Shima Ayaka, Dubois Damien, Oswald Eric, Shiose Akira, Gotoh Naomasa, Hayashi Tetsuya | 4. 巻<br>8          |
| 2. 論文標題<br>Global population structure of the <i>Serratia marcescens</i> complex and identification of hospital-adapted lineages in the complex  | 5. 発行年<br>2022年    |
| 3. 雑誌名<br>Microbial Genomics   | 6. 最初と最後の頁<br>1-20 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1099/mgen.0.000793  | 査読の有無<br>無         |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-          |

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>小野友行、小椋義俊、佐藤光彦、中村佳司、後藤恭宏、西田留梨子、井口 純、後藤直正、伊藤武彦、塩瀬明、林哲也 |
| 2. 発表標題<br><i>Serratia marcescens</i> のゲノム解析に基づいた大規模系統解析         |
| 3. 学会等名<br>第13回ゲノム微生物学会  |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>小野友行、中村佳司、後藤恭宏、佐藤光彦、西田留梨子、井口純、後藤直正、伊藤武彦、塩瀬明、小椋義俊 |
| 2. 発表標題<br><i>Serratia marcescens</i> の大規模比較ゲノム解析           |
| 3. 学会等名<br>第92回日本細菌学会総会                                     |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>小野友行  |
| 2. 発表標題<br>大規模ゲノム解析による <i>Serratia marcescens</i> の病原性および薬剤耐性獲得機構の解析 |
| 3. 学会等名<br>第 71 回 日本細菌学会九州支部総会                                       |
| 4. 発表年<br>2018年  |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|  | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|