

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号： 1 3 8 0 1

研究種目： 奨励研究

研究期間： 2020 ~ 2020

課題番号： 2 0 H 0 0 9 6 9

研究課題名 身近な環境で薬剤耐性遺伝子群を伝播しているプラスミドの同定

研究代表者

上田 瑞恵 (UEDA, MIZUE)

静岡大学・技術部・技術専門職員

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 480,000 円

研究成果の概要：本研究では、プラスミドキャプチャリングという手法を用いて、身近な環境試料に、どのような自己伝達性プラスミドがどのくらい存在するのかを調べた。環境試料として静岡大学浜松キャンパス構内の土壌試料と、浜松市内の河川底泥を用いた。また、今回収集の指標（プラスミド上の遺伝子が付与する薬剤耐性）とする抗生物質耐性としてはテトラサイクリン耐性を選んで行った。その結果、河川底泥からだけ、107 株のプラスミドをもつと推定される菌株を得ることに成功した。この結果は、大学構内の土壌より、人間の活動とより密接にかかわると推定される水環境の方が、接合伝達性プラスミドが多く存在する可能性を示していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、身の回りの環境試料の種類の違いによって、プラスミドの存在量が異なる可能性が示された。より多くの環境試料について試す必要や、また、得られたプラスミドの種類についても調べる必要がある。プラスミドの接合伝達現象は薬剤耐性菌の出現・蔓延の原因であり、身近な河川からプラスミドが得られたことは、こうした耐性菌の出現がどこでも生じ得る可能性を示している。本研究の遂行中、新型コロナウイルスの感染拡大によって、感染症の恐ろしさは、不幸にも、また、はからずも学生に伝わることとなった。本研究の成果も踏まえ、薬剤耐性菌の蔓延による問題については、引き続き学生に啓蒙していく必要がある。

研究分野： 分子生物学

キーワード： プラスミド 薬剤耐性

1. 研究の目的

プラスミドは、異なる細菌細胞どうしの接触 (=接合) によって、プラスミドを持つ細菌 (供与菌) から 持たない細菌 (受容菌) へと、接合伝達によって移動し、宿主に新たな能力を与える遺伝因子である。プラスミドの接合伝達現象は薬剤耐性菌の出現・蔓延の原因となり、世界各国で深刻な問題を引き起こしている。従って、プラスミドの実環境中における動態の理解は非常に重要である。それにもかかわらず、我々の身近な環境にはどのようなプラスミドがどのくらい存在するのか、という点についてはほとんど知られていない。そこで本研究では、緑色蛍光タンパク質を利用し、プラスミドキャプチャリングという手法を用いて、身近な環境試料に、どのような自己伝達性プラスミドがどのくらい存在するのかを調べた。

2. 研究成果

プラスミド収集の指標 (プラスミド上の遺伝子が、それをもつ宿主に付与する薬剤耐性能) としては、テトラサイクリン耐性を選んで行った。また受容菌としては、Escherichia coli MG1655RGFP を使用して行った。今回使用した環境試料と接合完了体単離数を Table 1 に示す。その結果、河川底泥からのみ 107 株の接合完了体を単離することに成功した。反対に土壌からはプラスミドを得られなかった。本研究を遂行するにあたり、新型コロナウイルスによる感染拡大防止の観点から、遠方の環境試料を収集することが難しかったが、今後はより多くの環境試料について試す必要がある。なお、本研究で試料を収集した河川は、浜松市の二級河川で、佐鳴湖という汽水湖に繋がる河川である。やや古いデータではあるものの、およそ 10 年前には本河川周辺の下水道水洗化率が、全国平均と比べて低かった (<https://www.city.hamamatsu.shizuoka.jp/gesuiken/gesui/vision/vision04.html>)。河川は、農業が地下水に影響を及ぼし、河川に湧水として混ざったり、生活排水の一部が混入したり、大学構内の土壌よりも、我々の生活により密接にかかわっていると推定される。そのような河川底泥から、多くの接合伝達性プラスミド得られたことは、我々の身近な環境にもプラスミドが存在することを示している。今後は、得られた 107 株の接合完了体について、プラスミドの種類について詳細に調べるとともに、全塩基配列を決定して、薬剤耐性遺伝子の有無についても検証する。

Table 1. 環境試料と接合完了体単離数

試料名	採取日	北緯	東経	接合完了体単離数
土壌試料1	2020/6/16	34° 43' 34"	137° 43' 4"	0
土壌試料2	2020/6/16	34° 43' 36"	137° 43' 8"	0
土壌試料3	2020/6/16	34° 43' 35"	137° 43' 11"	0
土壌試料4	2020/6/16	34° 43' 37"	137° 43' 6"	0
土壌試料5	2020/6/16	34° 43' 36"	137° 43' 0"	0
土壌試料6	2020/6/16	34° 43' 34"	137° 42' 58"	0
土壌試料7	2020/6/16	34° 43' 30"	137° 42' 57"	0
土壌試料8	2020/6/16	34° 43' 28"	137° 43' 2"	0
土壌試料9	2020/6/16	34° 43' 28"	137° 43' 5"	0
土壌試料10	2020/6/23	34° 43' 35"	137° 43' 11"	0
土壌試料11	2020/6/23	34° 43' 36"	137° 43' 0"	0
土壌試料12	2020/6/23	34° 43' 28"	137° 43' 5"	0
土壌試料13	2020/7/1	34° 43' 35"	137° 43' 11"	0
土壌試料14	2020/7/1	34° 43' 36"	137° 43' 0"	0
土壌試料15	2020/7/3	34° 43' 35"	137° 43' 11"	0
土壌試料16	2020/7/3	34° 43' 36"	137° 43' 0"	0
土壌試料17	2020/7/15	34° 43' 35"	137° 43' 11"	0
土壌試料18	2020/7/15	34° 43' 36"	137° 43' 0"	0
土壌試料19	2020/8/6	34° 43' 35"	137° 43' 11"	0
土壌試料20	2021/1/13	34° 43' 35"	137° 43' 11"	0
土壌試料21	2021/1/14	34° 43' 35"	137° 43' 11"	0
土壌試料22	2021/3/3	34° 43' 35"	137° 43' 11"	0
河川底泥1	2021/1/21	34° 44' 25"	137° 42' 51"	107

主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名
----	--------