

令和3年5月25日

薬剤耐性遺伝子の広範な拡散を制御する宿主染色体性因子の発見 (広宿主域型 IncP1 プラスミドの接合伝達を抑制する宿主染色体性因子の発見)

【本研究成果のポイント】論文掲載

- 薬剤耐性菌が出現・拡散する大きな要因として、薬剤耐性プラスミドの接合伝達が知られています。プラスミド側の関連遺伝子の解析は古くから行われてきましたが、宿主となるバクテリア側の遺伝子の解析は進んでいませんでした。本研究では広宿主域型に分類される IncP1 型薬剤耐性プラスミドの一種、RP4 プラスミドの接合伝達を抑制する3つの遺伝子を大腸菌から発見しました。
- これら3つの遺伝子 (*frmR*, *iscA*, *sufA*) のノックアウト変異株では、他大腸菌への(バクテリア間)接合伝達だけでなく、大腸菌から真核生物である出芽酵母への生物界間接合伝達の頻度も上昇していました。
- 本研究が薬剤耐性遺伝子の拡散抑制への応用だけでなく、真核生物への遺伝子導入ツールへの応用の潜在性も秘めていることを示しています。

【概要】

広島大学大学院統合生命科学研究科の守口和基講師、大学院生 Fatin Iffah Rasyiqah Mohamad Zoolkefli、鈴木克周教授らの研究グループは、IncP1 型プラスミドが様々な宿主バクテリアから様々な生物へ、接合伝達により遺伝子を水平伝播させる能力に着目しました(図1)。そのメカニズムを探るために、大腸菌を用いて接合効率上昇変異株の単離をゲノム網羅的に行いました。その結果、3つの遺伝子(*frmR*, *iscA*, *sufA*) のノックアウト変異株を単離することに成功しました(図2)。FrmR タンパク質は、CsoR/RcnR ファミリー転写抑制因子の一つ、IscA 及び SufA タンパク質は鉄-硫黄クラスター輸送タンパク質であることが知られており、双方ともプロテオバクテリア間で広く存在しています。これら3つのタンパク質は、異なる宿主菌でも IncP1 型プラスミドの接合伝達に特異的に働いており、薬剤耐性遺伝子の拡散抑制への応用だけでなく、真核生物への遺伝子導入ツールとしての応用の潜在性も秘めていることを示しています。

本研究の成果は、学術雑誌「Frontiers in Microbiology」オンライン版に5月20日付で掲載されました。

【背景】

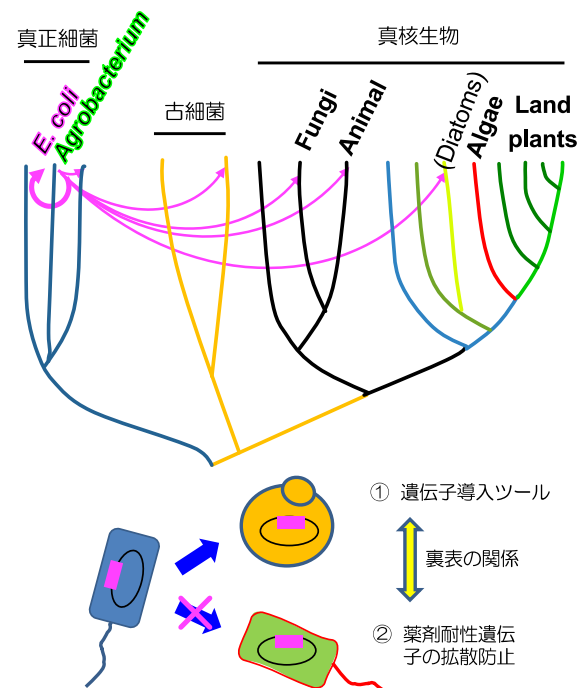


図1 IncP1型プラスミドの接合伝達による遺伝子の水平伝播

近年、抗菌薬の濫用による薬剤耐性菌の出現・拡散により、細菌感染症のリスクが再び高まってきています。WHOは2017年に緊急対応が必要な12の薬剤耐性病原菌リストを発表して新規抗菌薬の発見・開発を呼びかけていますが、開発コストの上昇などにより期待されるような成果が得られていないのが現状です。耐性菌が蔓延するメカニズムは、世代時間が短いことに起因した突然変異の蓄積による適応だけではなく、他菌種よりプラスミドの接合伝達等を介して薬剤耐性遺伝子を水平的に獲得してしまうことにあります。本研究で着目したIncP1型プラスミドも、現状で最後の頼みの綱の一つとされている抗生剤、コリスチンに対する耐性菌の出現・拡散の原因の一つとされています。IncP1型プラスミドは、幅広い宿主域と真核生物へも及ぶ幅広い伝達域を持つ事が特徴です。新規抗菌薬の開発が頭打ちである現在、既存の抗菌薬の使用を上手にコントロールしつつ、いかに耐性菌の出現・拡散を抑制するかが、持続可能な社会の発展への課題と考えられています。

【研究成果の内容】

プラスミドの接合伝達メカニズムの解析は、プラスミド側の関連遺伝子の解析は古くから行われて来ましたが、宿主となるバクテリア側の遺伝子の解析は進んでいませんでした。本研究ではIncP1

型薬剤耐性プラスミドの一種、RP4プラスミドの接合伝達を抑制する因子の探索を、大腸菌ノックアウト変異株ライブラリー（Keioコレクション）を用いて接合効率上昇変異株の単離をゲノム網羅的に行いました。

その結果、3つの遺伝子（*frmR*, *iscA*, *sufA*）のノックアウト変異株を単離することに成功しました（図2）。FrmRタンパク質は、CsoR/RcnRファミリー転写抑制

因子の一つ、IscA及びSufAタンパク質は鉄-硫黄クラスター輸送タンパク質であることが知られており、双方ともプロテオバクテリア間で広く存在しています。発現解析、二重変異株解析の結果から、これら3つのタンパク質は、

IncP1型プラスミドの接合伝達において同一ステップで働いていることが示唆されました（図3）。さらに、植物病原菌であるアグロバクテ

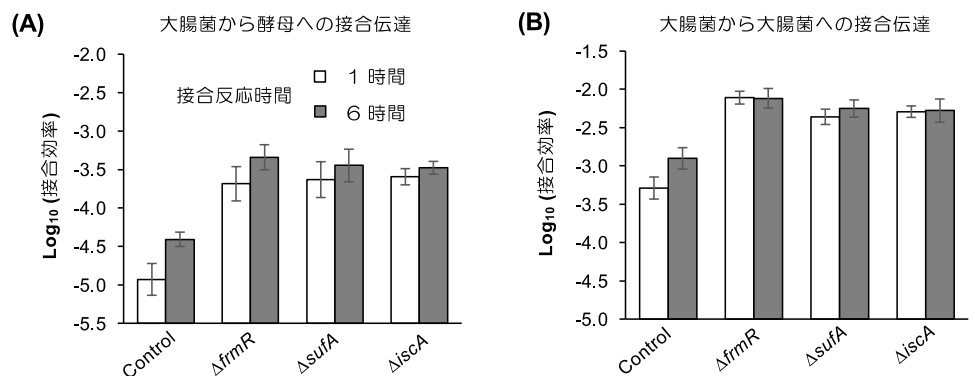


図2 変異株ではIncP1型プラスミドの接合効率が1桁上昇する

型薬剤耐性プラスミドの一種、RP4プラスミドの接合伝達を抑制する因子の探索を、大腸菌ノックアウト変異株ライブラリー（Keioコレクション）を用いて接合効率上昇変異株の単離をゲノム網羅的に行いました。

その結果、3つの遺伝子（*frmR*, *iscA*, *sufA*）のノックアウト変異株を単離することに成功しました（図2）。FrmRタンパク質は、CsoR/RcnRファミリー転写抑制

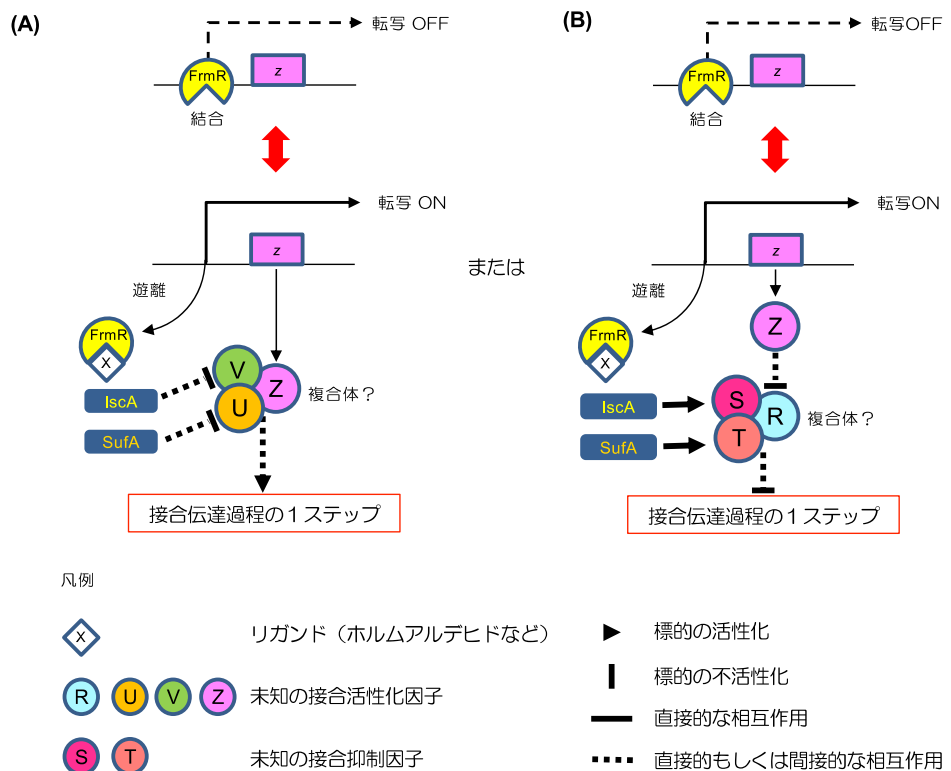


図3 FrmR, IscA, SufA による接合伝達抑制モデル

リアのホモログ遺伝子のノックアウト変異株でも生物界間接合の頻度が上昇していたことから、系統的には離れたバクテリア間で、これら3つのタンパク質が関与する IncP1 型プラスミドの接合制御システムが働いていることが示唆されました。

【今後の展開】

- 近年、IncP1 型プラスミドの接合伝達による珪藻類への遺伝子導入の成功報告もあることから、様々な細菌の接合効率上昇変異株を分子育種する事により、これまで遺伝子導入が難しかった真核生物種、古細菌種に対しての、遺伝子導入ツールとして応用されることが期待されます。
- FrmR に発現抑制される遺伝子産物、IscA 及び SufA により活性化されるタンパク質は、IncP1 プラスミドの接合伝達を促進する因子であると推測されます。これらの因子（現在のところ別個であるのか、同一のものであるのか未知）を同定し、その機能を抑制する薬剤を探索することにより、薬剤耐性病原菌の出現・拡散防止策の一つとなることが期待されます。

【用語解説】

プラスミド

プラスミドとは、細菌などにおいて染色体とは独立して複製し、娘細胞へ分配される DNA 分子の総称で、バイオテクノロジーの分野では遺伝子を導入するための運び屋（ベクター）として改変・利用されています。大型のプラスミドの中には自らの DNA を他個体へ移行させる能力（接合伝達）に関わる遺伝情報を持つものもあります。

【参考資料】

掲載誌: *Frontiers in Microbiology*

論文タイトル: Isolation and Analysis of Donor Chromosomal Genes Whose Deficiency Is Responsible for Accelerating Bacterial and Trans-Kingdom Conjugations by IncP1 T4SS Machinery

著者名: Fatin Iffah Rasyiqah Mohamad Zoolkefli¹, 守口和基^{1,2,*}, Yunjae Cho³, 清川一矢², 山本真司¹, 鈴木克周^{1,2}

1. 広島大学大学院理学研究科
2. 広島大学大学院統合生命科学研究科
3. 広島大学理学部生物科学科

*責任著者

doi: 10.3389/fmicb.2021.620535

【お問い合わせ先】

大学院統合生命科学研究科 講師 守口和基 Tel : 082-424-7391 FAX : 082-424-0734 E-mail : kmoriguc@hiroshima-u.ac.jp
--

発信枚数 : A4版 3枚 (本票含む)