

琵琶湖水中におけるウイルスメタゲノム解析

Metagenomics of viruses in Lake Biwa

国立環境研究所琵琶湖分室 沈尚

研究成果概要

2018年から2022年にかけて、琵琶湖(4地点)および流入河川(12河川)から採水した(計46サンプル)。細菌画分中の薬剤耐性遺伝子については、まず試料を孔径2.7 μmまたは孔径1.2 μmのフィルターでろ過し、ろ液に含まれる細菌を孔径0.2 μmのフィルターで捕集した。その後DNA抽出し、ショットガンシーケンスを行った。ウイルス画分中の薬剤耐性遺伝子については、まず孔径0.2 μmのフィルターでろ過し、ろ液に含まれるウイルスを鉄共沈および塩化セシウム密度勾配超遠心法を用いて濃縮・精製した。さらにDNase処理し、溶存態DNAを分解した。その後、DNA抽出し、ショットガンシーケンスを行った。

細菌中に含まれる薬剤耐性遺伝子の検出およびその定量は、得られたリードを薬剤耐性遺伝子データベース(CARD)にマッピングすることで行った(RPKM)。ウイルス中に含まれる薬剤耐性遺伝子の検出およびその定量は、まずウイルスゲノムを構築し、CARDおよびResFamsを対象にアノテーションを行った。次にウイルスの存在量をFPKMとして定量し、薬剤耐性遺伝子を保有するウイルスの存在量を薬剤耐性遺伝子の存在量として定量した。

細菌画分ではRND型薬剤排出ポンプや薬剤を修飾する酵素群(リン酸転移酵素、アセチル基転移酵素、ヌクレオチド転移酵素)が多数検出された。一方、ウイルスゲノムにはキノロン系耐性遺伝子、β-ラクタマーゼ、グリコペプチド耐性遺伝子が比較的多く検出された。また検出されたバンコマイシン耐性関連遺伝子の中で耐性発現を誘導する遺伝子VanR・VanSは、ウイルスゲノムから多く検出され(FPKMベースでバンコマイシン耐性関連遺伝子全体の20%)、細菌画分からはほとんど検出されなかった(5%)。

細菌画分とウイルス画分では含まれる薬剤耐性遺伝子の組成が異なることが明らかとなった。これは、水平伝播の経路によって細菌が獲得する薬剤耐性遺伝子が異なる可能性を示している。またバンコマイシン耐性の発現調整遺伝子がウイルスに多く存在していたことは、ウイルス感染が耐性発現に関与していることを示唆している。

発表論文(謝辞あり)

1. Shen S, Anazawa T, Matsuda T, Shimizu Y. Draft Genome Sequences of Sphingomonadaceae Strains Isolated from a Freshwater Lake. *Microbiol Resour Announc.* 2022 May 19;11(5):e0007022. doi: 10.1128/mra.00070-22.
2. Shen S, Anazawa T, Matsuda T, Shimizu Y. Complete Genome Sequence of a Phage Infecting Sphingomonadaceae. *Microbiol Resour Announc.* 2022 Jul 21;11(7):e0036622. doi: 10.1128/mra.00366-22.