

琵琶湖流域を対象とした薬剤耐性遺伝子の分布図の作成
Antibiotic resistance genes in the Lake Biwa watershed

立命館大学 理工学部 沈尚

研究成果概要

2018年から2022年にかけて、琵琶湖(北湖3地点、南湖1地点)および流入河川(12河川)から採取した計69サンプルを対象とした。試料水をろ過後、鉄共沈および密度勾配超遠心法を用いて、細菌細胞とウイルス粒子に分画し、それぞれショットガンシーケンスを行った。続いて各メタゲノムサンプルから、MetaWRAPを用いて細菌染色体ゲノムを MAGs (Metagenomic Assembled Genomes)として再構築し、この過程で混入していたウイルスおよびプラスミド配列を geNomad により除去した。その後、dRepを用いて重複ゲノムを取り除き、種レベルでユニークな MAGs セットを作成した。一方、プラスミド配列についても geNomad で検出し、>85% ANI、>80% coverage を条件に重複配列を除去した。ウイルスゲノムは SPAdes、VirSorter2、CheckVを用いて再構築し、同種の冗長性を排除するため>95% ANI かつ>85% coverage を基準にクラスタリングを行った。ウイルスの宿主(門レベル)は、染色体配列との相同性などから推定した。得られた細菌染色体、プラスミド、およびウイルスゲノム内の ARG は RGI(-include_loose)と CARDを用いて検出した。異なる2種のコンティグ(全体:染色体—染色体、接合:染色体—プラスミド、形質導入:染色体—ウイルス)間で、500bp 以上かつ>99%の類似度がある配列を水平伝播遺伝子と推定した。特に接合に関しては、接合に関連する遺伝子をもつ単一のプラスミドが2種以上の染色体と配列を共有している場合を接合と定義した。

本解析によって、琵琶湖および流入河川から得られたメタゲノムデータから細菌染色体1,427個、プラスミド31,499個、長さ5 kbpを超えるウイルスゲノム57,192個を再構築した。このうち、ARGを有する細菌染色体は1,423種、プラスミドは2,082種、ウイルスは262種であった。染色体間 HGT と推定されたペアは17,643種にのぼり、899種の細菌が関与していた。このうち ARG を含む HGT ペアは1,076種であり、392種の細菌が含まれていた。内訳は種内 HGT が278種、種間 HGT が195種であった。染色体—プラスミド間 HGT(接合)と推定されたペアは279種であり、214種の染色体が含まれていた。このうち ARG を含む HGT は38種で、種内 HGT が23種、種間 HGT が15種であった。染色体—ウイルス間 HGT(形質導入)と推定されたペアは535種であり、445種の細菌と403種のウイルスが関与していた。そのうち ARG を含む HGT は6種で、すべて門内 HGT であった。