

琉球大学学術リポジトリ

Escherichia coli

モデル株を用いたbla_<CTX-M-14>

のプラスミドから染色体への転位の観察

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学 公開日: 2020-07-15 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Hamamoto, Kouta, 浜元, 宏太 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/46467

論文要旨

論文題目

Escherichia coli モデル株を用いた *bla*_{CTX-M-14} のプラスミドから染色体への転位の観察

氏名

浜元 宏太

要旨

【背景】

CTX-M 型基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) は細菌から他の細菌へと伝達可能なプラスミド上に存在する。これまでに *bla*_{CTX-M} を転位させる insertion sequence (IS) が複数確認されており、中でも *bla*_{CTX-M} の上流に位置する *ISEcpI* は最も重要なものの一つとして知られている。*ISEcpI* の上流及び下流にはそれぞれ left terminal inverted repeat sequence (IRL) 及び right terminal inverted repeat sequence (IRR) が存在している。*ISEcpI* は IRL、及び IRR のさらに下流の alternative IRR (IRRalt) を認識することにより、*bla*_{CTX-M} を含む周囲の配列 (*bla*_{CTX-M-14} 転位ユニット) を転位させる。これまでに、プラスミドから染色体に転位した *bla*_{CTX-M} (染色体性 *bla*_{CTX-M}) を保有する ESBL 産生菌が市中及び院内において報告されてきた。本研究では *ISEcpI* を介した *bla*_{CTX-M} のプラスミドから染色体への転位頻度を明らかにすることを目的とする。

【方法】

ISEcpI による *bla*_{CTX-M} の転位を観察するために、CRISPR/Cas9 プラスミド及び *bla*_{CTX-M-14} プラスミドで形質転換した *E. coli* DH5 α 株を実験株として用いた。染色体性 *bla*_{CTX-M-14} の確認は、S1 nuclease pulsed-field gel electrophoresis 及び Southern blot hybridization により行った。*bla*_{CTX-M-14} 転位ユニット及びその周辺配列の解析は、inverse PCR、adapter ligation-mediated PCR 及びサンガーシーケンスにより行った。

【結果・考察】

E. coli 実験株を用いた 5 回のスクリーニングにより、染色体性 *bla*_{CTX-M-14} 保有 *E. coli* 126 株が得られた。スクリーニングにより得られた *E. coli* 株より確認された *bla*_{CTX-M-14} 転位ユニット及びその周辺領域の遺伝学的構造を確認するためにシーケンス解析を行った。解析により、80 ヶ所の異なる領域に挿入された *bla*_{CTX-M-14} 転位ユニットから、5bp の direct repeat

及び単一の配列を示す IRL が確認された。一方で *bla*_{CTX-M-14} 転位ユニットの 3'末端に位置する IRRalt から多様な配列が確認された。*E. coli* 実験株を用いた今回のスクリーニングにより、*ISEcp1* によるプラスミドから染色体への *bla*_{CTX-M-14} の転位頻度を決定した（平均 0.51%、標準偏差 0.37）。以上の結果から、*ISEcp1* を介した、多様な配列を示す IRRalt を用いた転位は、*bla*_{CTX-M} の高頻度な転位に寄与することが考えられた。本研究で観察された *ISEcp1* による *bla*_{CTX-M-14} のプラスミドから染色体への高頻度な転位は、これまでに市中及び院内で報告されてきた染色体性 *bla*_{CTX-M} 保有 *E. coli* の高い検出率の一因であることが示唆された。