

第 359 回雑誌会

(Aug. 6, 2021)

(1) Free-floating extracellular DNA: Systematic profiling of mobile genetic elements and antibiotic resistance from wastewater

Calderon-Franco, D., van Loosdrecht, M.C.M., Abeel, T. and Weissbrodt, D.G.

Water Research, **189**, 116592, (2021).

Reviewed by S.Tamai

水環境における薬剤耐性遺伝子 (ARG) と可動遺伝因子 (MGE) の拡散は、公衆衛生上の問題となっている。水平伝播による遺伝子の拡散を未然に防ぐため、ARG と MGE を分析の対象とした研究が行われているが、それらの多くは細菌から抽出されたゲノムの DNA 解析に基づくものであり、細胞外部に存在している DNA (exDNA) における ARG と MGE は考慮されていない。そこで本研究では、排水中の細胞内 DNA (inDNA) と exDNA を回収し、両分画に含まれる ARG と MGE の解析を行った。調査は、オランダの下水処理場において、①最初沈殿池 (物理処理)、②生物処理タンク (活性汚泥)、③処理水放流地点の 3 地点から採取した。試料中の exDNA は、0.45 μm ならびに 0.2 μm のフィルターを用いてろ過した後、陰イオン交換カラムに通水し、溶出バッファーによって回収した。回収された exDNA は、エタノール沈殿と Proteinase K 処理後、キットを用いて精製した。続いて、試料中の inDNA は、ろ過後のフィルターから、キットを用いて抽出を行った。その後、qPCR 法によって標的遺伝子の定量と、Miseq PE300 を用いた遺伝子解析を行った。

陰イオン交換カラムを用いた回収法によって、1,000 mL の各試料から、①12.5 μg 、②12.3 μg 、③8.6 μg の exDNA が回収された。続いて、メタゲノム解析によって、活性汚泥サンプル中の各 DNA の機能解析を行い、相対的存在量を算出したところ、exDNA 中にファージやプラスミドなどの MGE が極めて多く (65.1%) 存在した。さらに、qPCR 法によって、inDNA と exDNA 中の標的遺伝子を定量したところ、*ermB* と *qnrS* を除くすべての遺伝子で exDNA のコピー数が有意に低かった。通常、exDNA は環境中に存在する DNA 分解酵素の影響によって、inDNA よりも存在量が少ない。しかしながら、exDNA 中には MGE が多く存在しているため、MGE にコードされている *ermB* と *qnrS* は inDNA と exDNA において有意差が生じなかったと考えられる。また、メタゲノム解析によって各 DNA 中の ARG を分類したところ、exDNA では 5 系統 12 種類、inDNA では 15 系統 289 種類に分類され、exDNA 中の ARG の存在量は少なかった。したがって、環境中における ARG の伝播において、exDNA は形質転換の主要なメカニズムではない可能性があるため、環境中における ARG の伝播機構の解明には更なる研究が必要である。