

## 第 372 回雑誌会

(Jun. 1, 2022)

### (1) **Metagenomic profiling and transfer dynamics of antibiotic resistance determinants in a full-scale granular sludge wastewater treatment plant**

Calderon-Franco, D., Stella, R., Christou, S., Pronk, M., van Loosdrecht, M.C.M., Abeel, T. and Weissbrodt, D.G.

Water Research, **219**, 118571, (2022).

Reviewed by S.Tamai

下水処理場は公衆衛生を向上させ、水資源を保護する重要な役割を担っている。しかし、下水処理場には細菌、薬剤耐性遺伝子 (ARG), および抗菌薬が流入することから、薬剤耐性菌 (ARB) の拡散を防止する効果は不明である。下水処理場での ARB を対象とした研究では、これまで細胞内 DNA (iDNA) 中の ARG に焦点が当てられており、溶存遊離 DNA (exDNA) の存在は考慮されていない。そこで本研究では、排水中の iDNA と exDNA を回収し、その組成と挙動を追跡した。好気グラニュール汚泥処理を採用しているオランダの下水処理場を調査対象とし、①流入地点、②汚泥処理地点 (曝気前後を採取)、③処理水放流地点の 3 地点から 1 L の試料を採取した。試料中の exDNA は、0.45  $\mu\text{m}$ 、および 0.2  $\mu\text{m}$  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て吸着させ、溶出バッファーによって回収した。回収した 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 iDNA 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、HiSeq sequencer を用いた遺伝子解析を行った。

シーケンシングの結果、iDNA と exDNA の両画分から 2548 属の細菌が同定された。同定された個体群のうち、*Acidovorax* (3.5%), *Rhodoferrax* (3.5%) などの薬剤耐性関連遺伝子を保有する細菌が高い割合で存在した。また、両画分から 2840 reads の ARG が検出された。最も多く検出された *aac-3* 遺伝子 (58 reads) は全 ARG の 2.0 % であり、exDNA 中には多様な ARG が存在した。放流水中から検出された 478 reads の ARG のうちの 89 % が exDNA 画分に存在した。このことから、exDNA は環境に拡散され、放流水域の細菌の形質転換を招く可能性がある。さらに、両画分から 55344 reads の可動遺伝因子 (MGE) が検出された。500bp 以上の contig (遺伝子解析で得られた遺伝子配列断片を繋ぎ合わせた遺伝子) に ARG と MGE の共局在解析を行ったところ、312 の contig 中に ARG と MGE が共局在していることが確認された。ARG と MGE の共局在は、細菌間の ARG の伝播を促進させる可能性が高いことを示している。以上のことから、環境中における薬剤耐性のサーベイランス、リスク評価には exDNA の考慮が必要である。