

## 第 421 回雑誌会

(Oct. 30, 2024)

### (1) Water temperature disturbance alters the conjugate transfer of antibiotic resistance genes via affecting ROS content and intercellular aggregation

Li, Y., Zheng, Q., Lu, Y., Qiao, Y., Guo, H., Ma, Q., Zhou, J., Li, H., and Wang, T.

Journal of Hazardous Material, 479, 135762 (2024).

Reviewed by K. Tsuda

薬剤耐性遺伝子 (ARG) の伝播は、可塑剤、有機汚染物質、殺菌剤などの化学物質による水質汚染によって促進されることが知られている。しかし、これらの研究は、主に化学物質が ARG の接合伝達に与える影響に焦点を当てており、水環境固有の条件が接合伝達に及ぼす影響については十分に考慮されていない。そこで本研究では、水温の変動が ARG の接合伝達に与える影響を評価し、そのメカニズムを明らかにすることを目的とした。接合実験のドナーには 3 種類の ARG を持つ *Escherichia coli* (*E. coli*) DH5 $\alpha$  を用いた。また、ストレプトマイシン耐性の *E. coli* をレシピエントに使用した。LB 培地にドナーとレシピエントの菌数を 1:1 で混合し、各温度条件下で 16 時間培養後、抗菌薬を含む培地で生育したコロニー数から接合頻度を算出した。温度条件は、一定温度 (5, 10, 15, 20, 25, 30, 37, 40°C)、加温条件 (5°C から 30°C に上昇)、冷却条件 (30°C から 5°C に低下) の 3 つに設定した。さらに細胞膜透過性、細胞間凝集、活性酸素 (ROS) および細胞内のアデノシン三リン酸 (ATP) 量を各温度条件で比較し、温度の変動による細胞特性の変化を評価した。また、RNA を抽出し、ハイスループットシーケンスによって塩基配列を取得した。

各温度条件における接合頻度を比較したところ、低温の 5°C で  $7.16 \times 10^{-7}$  と最も低く、30°C で  $2.18 \times 10^{-5}$  と最も高かった。また、加温条件では  $4.11 \times 10^{-6}$ 、冷却条件では  $1.55 \times 10^{-5}$  であり、一定温度の 5°C と比較して、接合頻度は増加した。胞間凝集に関しても、接合頻度と同様に 5°C で最も低く、30°C において最も高かった。細胞間凝集に影響を与えるクオラムセンシングや線毛に関連する遺伝子の発現量は、水温が上昇するにつれて増加する傾向が見られた。一方で、細胞膜透過性は、20°C で最も高く、各温度条件での接合頻度の変化と一致しなかった。細胞内 ROS 量は、5°C と比較して、30°C と冷却条件において有意に高かった。また、細胞内 ATP 量は 5°C で最も低く、冷却条件で最も高かった。30°C と冷却条件において ROS 量と ATP 量が高い理由は、初期の水温が高いほど細菌の活性が高いためと考えられる。細胞間凝集、細胞膜透過性、ROS 量、および ATP 量が ARG の接合伝達に及ぼす影響を比較した結果、細胞内の ROS 蓄積が最も影響を及ぼすことが示された。細胞内 ROS 量は、ARG の接合伝達に直接的な影響を与えるだけでなく、細胞間凝集、細胞膜透過性、細胞内 ATP 量にも間接的に影響を与えた。これらの結果から、温度の変動は、細胞内 ROS 量に影響を及ぼし、それが細胞間凝集、細胞膜透過性、細胞内 ATP 量に間接的な影響を与えることによって、ARG の接合伝達を促進することが明らかになった。