

P-056

*ldhA*の確率的な発現による persister 形成と制御

○山本 尚輝¹, 一色 理乃¹, 河合 祐人¹, 田中 大器², 関口 哲志², 松本 慎也³, 常田 聡¹

¹早大院・先進理工・生医, ²早大・ナノ・ライフ創新研究機構, ³名大・医

近年、同一遺伝子を持つクローナルな細菌集団にも表現型に不均一性があることが明らかになってきた。persister は表現型の変異によって出現し、細菌集団中でほとんど増殖を行わず、増殖を標的とした抗生物質の影響から逃れて生き残ることができる。

当研究室ではこれまでに独自に開発した非分裂細菌を検出する大腸菌の persister マーカー株によって persister を分取し、トランスクリプトーム解析を行った。その結果、乳酸発酵遺伝子である *ldhA* が persister 形成に重要な関係性を持つことが示唆された。そこで、本研究では *ldhA* による persister 形成の分子機構を明らかにすることを目的とした。

persister は表現型の変異によって出現するために、集団レベルで persister を解析することは困難である。そこで、生細菌内で *ldhA* の発現を可視化し、その発現量をシングルセルレベルで検出した。*ldhA* の発現を可視化するために、*ldhA* のプロモーター配列の下流に蛍光タンパク質である Venus を持つプラスミドを作製し、大腸菌へ導入した。本株をマイクロ流体デバイス中で培養することで 1 細胞レベルのタイムラプス観察を行った。本研究で用いたマイクロ流体デバイスには高さ 1 μ m の狭い流路が存在し、細菌を遊走させることなく長時間観察することが可能である。タイムラプス観察の結果、*ldhA* の発現は確率的で、一部の細菌が一時的に強く発現することが明らかとなった。さらに、*ldhA* の発現が見られた細菌は増殖抑制及び抗生物質に対する抵抗性を示したことから、大腸菌は *ldhA* の発現によって persister を形成することが示唆された。

次に、*ldhA* を標的とすることで persister の制御を試みた。persister は実際の環境中ではバイオフィームなどの様々なストレス環境下で存在していることから、本研究ではその代表的なストレス環境として、貧栄養環境、酸性環境、嫌気環境下で培養した。各環境下で大腸菌の *ldhA* ノックダウン株を CRISPRi によって作製し、抗生物質投与後の生存率を調べた結果、嫌気環境のみで persister が有意に減少した。以上の結果から、*ldhA* が嫌気環境において persister 制御の標的となり得ることが示唆された。