

## P-058

# 大腸菌の persister 形成を誘導する多様な経路

○河合 祐人<sup>1</sup>, 一色 理乃<sup>1</sup>, 山本 尚輝<sup>1</sup>, 松本 慎也<sup>1</sup>, 奥田 修二郎<sup>2</sup>, 常田 聡<sup>1</sup>

<sup>1</sup>早大・先進理工・生命医科, <sup>2</sup>新潟大院・医歯・バイオインフォマティクス

E-mail: y-kawai0220@asagi.waseda.jp

【目的】1つの細菌から増殖したクローン集団は全て同じ性質を持つとされており、集団中の各個体間の差は平均化されている。しかし近年の1細胞レベルの観察技術の発展により、遺伝子的にクローンな集団であっても、多様な表現型を持つことが分かってきた。特に persister と呼ばれる表現型は細菌の重要な生存戦略となっている。persister とは自ら増殖を抑制している状態の細菌であり、細胞増殖を標的としている抗生物質に高い抵抗性を示す。persister は集団中にごく一部しか存在しないが、致死的な環境の変化に対しても全滅を防ぐ役割を持っている。しかし集団中の一部でのみ persister が生まれる分子機構はいまだ明らかとなっていない。【方法】 persister 形成に関わる分子機構を明らかにするため、persister を選択的に分取する手法を開発した。細胞分裂時にのみ重合することが知られる FtsZ をターゲットとして、その両端に CFP および YFP の蛍光タンパクを融合した。融合タンパク質 YFP-FtsZ-CFP は通常時には CFP 蛍光を発するが、分裂している細菌では YFP-FtsZ-CFP が近接することで蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) を起こし、YFP 蛍光を発する。この FRET 蛍光の有無を基にセルソーターを用いて分裂細菌と非分裂細菌を分取し、トランスクリプトーム解析によって非分裂状態で特異的に発現している遺伝子を網羅的に解析した。また、網羅解析によって明らかとなった遺伝子が persister 形成に関与していることを過剰発現および CRISPRi を用いたノックダウンにより確認した。【結果・考察】 persister では嫌気代謝の遺伝子が高発現していることが示唆された。そこで候補遺伝子の過剰発現株を構築して抗生物質から生き残る割合を評価した。その結果乳酸発酵遺伝子である ldhA の過剰発現によって persister は 100-1000 倍増加した。しかしノックダウン株では培養条件によっては persister の減少が見られなかった。そのため persister が減少しなかった環境では、ldhA 以外の経路を介して persister 形成が起こっていると考えられる。そこで培養環境を変化させ、それぞれの環境から persister を分取し、RNA-sequencing を行った。現在トランスクリプトームを解析中である。