

京都大学若手人材海外派遣事業 ジョン万プログラム
研究者派遣プログラム

成果報告書

提出日：令和元年 8 月 28 日

【基本情報】

○申請者

採 択 年 度：平成 30 年度

部 局 名 等：工学研究科都市環境工学専攻

職 名：助教

氏 名：五味 良太

研究課題名：全ゲノム解析による河川水中の薬剤耐性クレブシエラ・ニューモニエの実態調査

○渡航先

国 名：オーストラリア

研究機関名：メルボルン大学（ホルト氏の所属が 2019 年初からモナシュ大学になったため、2019 年 1 月からの研究機関はモナシュ大学）

研究室名等：〔研究室名〕微生物ゲノム研究室（英語：Microbial Genomics Lab）

〔職名等・氏名〕准教授・キャスリン ホールト（英語：Associate Professor・Kathryn Holt）

渡 航 期 間：平成 30 年 8 月 1 日～令和元年 8 月 4 日（369 日）

○渡航期間中の出張

出 張 先：
目 的：
期 間：

出 張 先：
目 的：
期 間：

出 張 先：
目 的：
期 間：

京都大学若手人材海外派遣事業 ジョン万プログラム 研究者派遣プログラム

【成果】

○プロジェクトの成果及び今後の展開

・研究概要

近年、抗生物質に耐性を示す細菌（薬剤耐性菌）が世界規模で増加している。これらの細菌により引き起こされた感染症は、治療の選択肢が限られることから、世界共通の脅威として認識されている。世界保健機関（WHO）の2014年の報告（Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014）によると、これらの薬剤耐性菌のうち、大腸菌、*Klebsiella pneumoniae*、黄色ブドウ球菌の3種は特に重要な病原体として挙げられている。中でも大腸菌と *Klebsiella pneumoniae* は臨床的に重要な腸内細菌科と呼ばれるグループに属しており、基質拡張型ベータラクタマーゼ（ESBL）といった重要な薬剤耐性遺伝子を保有することから、大きな問題となっている。人々はこれらの腸内細菌科細菌を無症候性に腸管内に保菌することがあることがわかっているが、近年の研究により、これらの腸管内の細菌が散発的に感染症を引き起こすことがわかってきた。しかし、人々がどのようにして薬剤耐性腸内細菌科細菌を保菌するに至るのか、その起源や過程がどのようなものか、ほとんどわかっていない。ヒトやその他の動物の糞便に汚染された環境水が飲用水・水浴・農業用水へ利用されることが、これら薬剤耐性菌の保菌や感染に寄与している可能性が指摘されているが、詳細な知見が不足しているのが現状である。そこで、本研究では環境サンプル中の *Klebsiella pneumoniae* complex (*Klebsiella pneumoniae*、*Klebsiella quasipneumoniae*、*Klebsiella variicola* を含む細菌のグループ)に着目し、研究対象とすることとした。環境サンプルから単離した *Klebsiella pneumoniae* complex に属する菌株135株のゲノム配列を決定し、同じ地域に存在する病院で分離された株との比較解析を含むゲノム解析を行った。その結果、病院株と同じ系統に属し、かつ同じタイプの病原遺伝子を保有する菌株が環境中に存在することがわかった。また、ゲノムワイド関連解析（Genome Wide Association Study; GWAS）を行った結果、環境株に特異的な遺伝子が存在することがわかった。環境株135株のうち、*Klebsiella pneumoniae* に分類された菌株について、Long-read sequencing を行って完全ゲノム（Completed genome）を得た。その結果、GWAS解析によって特定された遺伝子は、複数タイプのプラスミド上に存在することがわかった。現在まで環境由来の *Klebsiella pneumoniae* に特異的な遺伝子に関する報告例はなく、これらの遺伝子に関する情報は環境由来株を特定する際に有用なだけでなく、環境由来 *Klebsiella pneumoniae* の特性を理解することに役立つことが考えられる。

・国際共同研究の立上げ・ネットワークの構築

現地では Monash 大学工学研究科の David McCarthy 准教授の研究室との共同研究プロジェクトに参加し、定期的な環境サンプリングに関する情報の共有などを行った。

2019年2月に行われた Mobile Genetic Elements Conference 2019 に参加して口頭発表を行い、同分野の研究者と交流を持つことができた。

研究は主に High Performance Computing (HPC) facility にログインして進める形式であるため、帰国後も同 HPC facility の利用を通じて共同研究を行う。また、帰国後も現地研究室のチームコミュニケーションツールである Slack に参加しており、同ツールやビデオ通話を通じての研究の議論・成果の共有を行う。

・国際共著論文の投稿・発表等の状況、国際学会等での発表状況 [予定を含む]

IS26-mediated reorganization of a multidrug-resistance IncF plasmid carrying *mcr-3.1*. (Ryota Gomi, Tomonari Matsuda, Masaki Yamamoto, Michio Tanaka, Satoshi Ichiyama, Minoru Yoneda, and Yasufumi Matsumura) Oral presentation at Mobile Genetic Elements 2019

京都大学若手人材海外派遣事業 ジョン万プログラム 研究者派遣プログラム

Opportunity and Diversity: A year of *Klebsiella* infections in hospital (Claire L. Gorrie, Mirjana Mirceta, Ryan R. Wick, Louise M. Judd, Kelly L. Wyres, …Ryota Gomi, …, Adam W. J. Jenney, Kathryn E. Holt) 投稿予定

The Diversity of *Klebsiella pneumoniae* Complex in the Environment (Ryota Gomi, Kelly L. Wyres, Louise M. Judd, Ryan R. Wick, Rebekah Henry, …, David McCarthy, Kathryn E. Holt) 投稿予定

・在外研究経験によって習得した能力等

日本では菌株の単離からゲノム配列の決定などの実験的な部分と基礎的なゲノム解析を行っていたが、渡航先では実験をほとんど行わず、バイオインフォマティクスを中心とした研究手法を学んだ。その過程で、バイオインフォマティクス関連のソフトウェアの操作方法だけでなく、bashに関する知識や、Python や R といったプログラミング言語について扱う能力を得た。また、ggplot2 や ggtree といったパッケージを用いた、論文作成や学会発表に使える質の高い図の作成方法についても習得した。

滞在先の研究室は Holt 氏が PI として全ての研究者や学生をまとめており、効率の良い研究室運営方法や人材育成方法を学ぶことができた（本研究室では、全体連絡は週一回の全体ミーティングを通して行っており、テーマごとの研究成果は、週一回の研究テーマ毎に細分化されたミーティングで共有を行うという方針であった。また、研究を始めたばかりの学生は、2 週間に 1 度程度 PI と直接面談を行うことで、研究の進め方についてアドバイスを受けることになっていた）。

・在外研究経験を活かした今後の展開

今後は、環境サンプリングなど、渡航前に行なっていた研究に加えて、在外研究期間中に学んだバイオインフォマティクスを駆使した研究を行なっていく。また、上述した通り、滞在先の Holt 研究室とは、今後も共同研究を実施していく。

京都大学若手人材海外派遣事業 ジョン万プログラム
研究者派遣プログラム

英文成果報告書

○申請者情報

部 局 名 : Department of Environmental Engineering

職 名 : Assistant Professor

氏 名 : Ryota Gomi

研究課題名 : Genomic Analysis of Antimicrobial-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in River Water

渡 航 期 間 : 2018. 8. 1 ~ 2019. 8. 4

○渡航先情報

国 名 : Australia

研究機関名 : The University of Melbourne, Monash University (from January 2019)

研究室名等 : Microbial Genomics Lab

受入研究者名 : Kathryn Holt

○渡航報告

The University of Melbourne is an Australian public university, which is located in the center of Melbourne city. The university was founded in 1853 and the second oldest university in Australia. I studied in Bio21 Institute (The Bio21 Institute of Molecular Science and Biotechnology, Figure 1), which is based at the University of Melbourne. This institute is relatively new (established in 2002) and research groups studying biochemistry, cell biology, and bioinformatics are located in the institute. Holt lab is one of those groups and specializes microbial genomics (Figure 2). There are four postdoctoral researchers, one lab manager, four graduate students, and three masters students (or honours students) in the group. Wet-lab experiments are mainly conducted by the lab manager, and postdoctoral researchers and students usually perform computational analyses. They develop software

(e.g., Unicycler: <https://github.com/rrwick/Unicycler>), and also use developed software in their research. They have accounts for High Performance Computing (HPC) facility and they use this facility for bioinformatic analyses.

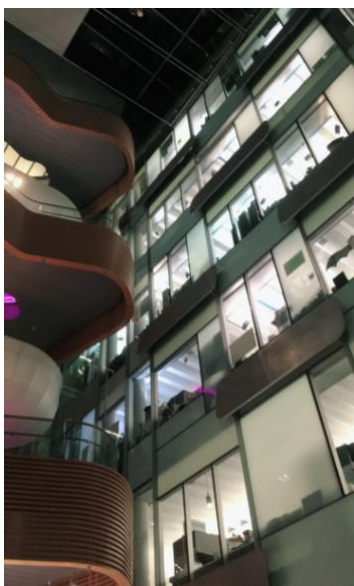


Fig. 1 Bio21 Institute

The research topics covered in the group are pathogen genomic epidemiology (antibiotic resistance, transmission and infection control, development of novel bioinformatics methods/tools, genomic analysis of *Klebsiella pneumoniae*) and genomic analysis of bacterial communities (human microbiome). I joined a research project focusing on genomic analysis of environmental *Klebsiella pneumoniae* complex (a group of bacteria including *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella quasipneumoniae*, and *Klebsiella variicola*). In the project, I analyzed phylogenetic characteristics, virulence genes, antibiotic-resistance genes, and plasmid contents of *Klebsiella* isolates. I had many chances to share and discuss the results of my research with Dr. Holt and other lab members through

京都大学若手人材海外派遣事業 ジョン万プログラム
研究者派遣プログラム

regular lab meetings and daily conversations (I gave a presentation in lab meetings once a month on average). In February, Holt group did lab retreat, during which we went to Rye, a seaside resort town, and tackled several research problems/projects (Figure 3). This was a nice opportunity for me to discuss research topics that are not directly linked to my own topic (*Klebsiella pneumoniae* epidemiology). In February, I also attended a conference on mobile genetic elements and made an



Fig. 2 Members of Holt lab

oral presentation. In addition to this presentation, I am planning to write a paper on my research project and submit it to an international journal.

During one-year-stay, I learned a lot of things, from usage of bioinformatics software to programming (R and Python). I also learned how to efficiently manage laboratory through lab meetings and discussion with PI.

We are still doing collaborative research and will continue this collaboration for years to come.



Fig. 3 Scenes in lab retreat