

属が有する GroES/EL と非常に近縁であることが明らかになった。

D. 考察

1) *Salmonella enterica* 各種血清型のゲノム情報による系統分類解析

これまでに *Salmonella enterica* の血清型に由来する遺伝情報を包括的に比較解析した報告は無く、本研究により血清型とコアゲノムの相関関係を明確にした。O 抗原・H 抗原検査により血清型は判別されるが、その抗原性とコアゲノムとの関係は *S. enterica* の伝播および病原性と宿主域 (tropism) 等にも関連性が深いと想定され、本研究で示した系統関係は血清型の特徴をより明確に分類し位置づけることができた。より広範な血清型の解析を加え、血清型に起因する病原性・薬剤耐性等を検討が必要だと考えている。

2) *Salmonella* Infantis の SNP 系統分類

PFGE/MLVA 解析による株系統分類が困難な Infantis には本研究により見いだした SNPs 系統分類が有効と思われる。さらに分離年・場所・耐性プロファイル等の指標が異なる代表株を加えることで、コアゲノムを基準にして株の素性を分類し、耐性株の起源とその伝播に迫りたい。また、起源の特定には薬剤耐性アイランドの遺伝子構造の解明も重要である。

3) *Salmonella* Enteritidis の SNP 系統分類

本研究では、耐性株 3 株と感受性株 8 株の比較解析が行えたゆえ、耐性株が非常に近縁のクラスターに集合することを明らかにできた。従来の PFGE-BlnI 消化断片は、

耐性株が特徴的なプロファイルを示し、その原因である IS 配列を特定する事ができた。今後、耐性株に特有の IS 配列かどうか検討するとともに、IS を指標にして耐性株間の簡易検査法も開発すべきだと考えている。

4) 薬剤耐性 Typhimurium T000240 株の complete ゲノム配列

S. Typhimurium T000240 株のゲノム解読を行った。*Typhimurium* は従来の PFGE, MLVA 法にて系統分類できるため、全ゲノム配列の確定による薬剤耐性アイランドの全容解明を優先して解析した。高度薬剤耐性化した T000240 株は、旧来伝播していた DT104 株とは耐性プロファイルが異なり、また全ゲノム配列が示すように、特徴的な IS 配列と薬剤耐性アイランドが染色体に挿入していることを示唆していた。本研究は、IS1/IS26 により外来性に獲得したユニークな薬剤耐性ゲノム・アイランド構造を初めて明らかにした。*Typhimurium* の耐性伝播様式を知る上で、耐性遺伝子マーカーの多様性と水平伝達機構の解明は重要であり、それら基盤情報の蓄積が必要不可欠である。

5) NDM-1 保有大腸菌のプラスミド pNDM-1_Dok01 の完全長配列

獨協医科大で臨床分離された NDM-1_Dok01 株が保有する NDM-1 プラスミド (pNDM-1_Dok01) の完全長配列を決定し、水平伝播にかかる数多くの遺伝情報を得ることができた。多様なレプリコン・タイプのプラスミドに bla_{NDM-1} は局在しており、その獲得機構は多様な IS エlement を介した水平伝達であることが示唆された。獨協医科大 NDM-1_Dok01 株は、腸内細菌科で広範に伝播できる IncA/C 型レプリコンを有していることから、サルモネラ等の高病原性食中毒菌が

NDM-1 を獲得してカルバペネム耐性化になってもおかしくないと想定される。事実、Walsh らはインド・ニューデリーの環境から NDM-1 を保有するサルモネラ、コレラ、赤痢菌の分離に成功しており (Lancet Infect Dis 2011. 11: 355- 362.)、高度薬剤耐性化への危険性が一層現実的になってきた。本研究においても、pNDM-1_Dok01 プラスミドは、サルモネラのプラスミド pAR060302 と 7 割程度が相同領域であり、大腸菌とサルモネラ間の耐性伝播が頻繁に行われていると考えてよいだろう。

このような腸内細菌科における耐性伝播の基本はプラスミド伝達を中心に行われていると考えられるが、もともとの耐性因子がどのソースから獲得しているのか明確に理解されていない。一例であるが、CTX-M β -ラクタマーゼ (bla_{CTX-M}) は、*Kluyvera* 属の染色体 DNA から発見されており、それが腸内細菌科の伝達プラスミドに水平伝達して薬剤耐性化をもたらしていると考えられている。そのアイデアと類似して、本研究でも bla_{NDM-1} と環境に生息する植物病原体 *Pseudoxanthomonas* 属との関連性について示唆する結果を得た。具体的な接点を解明するためには、環境バイオリソースを塩基配列として完全に解明する必要があるかもしれない。世界各国のゲノムセンターがバイオリソースの配列解読に取り組んでおり、環境メタゲノム・データベースの充実が待ち遠しいところである。

E. 結論

Salmonella enterica 血清型の SNPs 系統解析により、コアゲノムの全 SNPs を用いれば、血清型の特徴が分類できる可能性が示唆された。例えば、宿主域や病原性が似通った血清型は集まりやすい傾向が見られた。

Salmonella Enteritidis 11 株と Infantis 4

株のゲノム解読とその全 SNPs (coding のみ) による系統解析から、PFGE・ファージ型・MLVA 等の分類法に加え、コアゲノムに内在する SNPs 分類法を開発する基盤情報を得た。

旧来の流行・多剤耐性 DT104 株と系統が異なる Typhimurium T000240 株 (DT12) の全ゲノム解読と complete 配列を確定した。T000240 に特徴的な薬剤耐性 ゲノムアイランド構造を発見し、多剤耐性獲得に関与する基盤情報を得た。

本邦初分離・NDM-1 保有大腸菌のゲノム解読を通して NDM-1 の獲得機構を解析した。世界各国から多様な NDM-1 保有腸内細菌科の分離報告があり、既にその危険性は現実となっている。幸い、日本ではヒト臨床および家畜において NDM-1 株の報告は殆どなく、今のところインド・ニューデリーにおける汚染状況ほどの懸念は全くない。しかしながら、腸内細菌科全般に水平伝達することが証明されている以上、NDM-1 によるカルバペネム耐性の監視をより一層強化すべきであり、事前に対応策を整えておくべきであろう。

F. 健康危害情報

なし

G. 研究発表

(論文発表)

- 1) Sekizuka T, Matsui M, Yamane K, Takeuchi F, Ohnishi M, Hishinuma A, Arakawa Y, Kuroda M. (2011) Complete Sequencing of the $bla_{(NDM-1)}$ -Positive IncA/C Plasmid from *Escherichia coli* ST38 Isolate Suggests a Possible Origin from Plant Pathogens. *PLoS one* 2011. 6: e25334.
- 2) Shahada F, Sekizuka T, Kuroda M,

Kusumoto M, Ohishi D, Matsumoto A, Okazaki H, Tanaka K, Uchida I, Izumiya H, Watanabe H, Tamamura Y, Iwata T, Akiba M (2011) Characterization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolates harboring a chromosomally encoded CMY-2 beta-lactamase gene located on a multidrug resistance genomic island. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 55: 4114-4121.

- 3) Whole-Genome Analysis of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium T000240 Reveals the Acquisition of a Genomic Island Involved in Multidrug Resistance via IS1 Derivatives on the Chromosome. Izumiya H, Sekizuka T, Nakaya H, Taguchi M, Oguchi A, Ichikawa N, Nishiko R, Yamazaki S, Fujita N, Watanabe H, Ohnishi M, Kuroda M. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Feb;55(2):623-30. Epub 2010 Nov 22.

(学会発表)

- 1) Francis Shahada、関塚剛史、黒田誠、楠本正博、大石大樹、松本敦子、岡崎ひづる、田中聖、内田郁夫、泉谷秀昌、渡邊治雄、玉村雪乃、岩田剛敏、秋庭正人。多剤耐性ゲノミックアイランドを保有するセファロスポリン耐性 *Salmonella* Typhimurium の出現。第152回日本獣医学会学術集会 (2011年9月大阪府立大)
- 2) Makoto Kuroda, Hidemasa Izumiya, Tsuyoshi Sekizuka, Masumi Taguchi, Haruo Watanabe, Makoto Ohnishi.

IS1-mediated Horizontal Acquisition Of Multiple Antibiotics Resistance In *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. 51st ICAAC Sept. 17-20, 2011. Chicago, USA.

- 3) Makoto Kuroda, Hidemasa Izumiya, Tsuyoshi Sekizuka, Masumi Taguchi, Haruo Watanabe, Makoto Ohnishi. Whole-genome analysis of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium T000240 reveals the acquisition of a genomic island involved in multidrug resistance via IS1 derivatives on the chromosome. IUMS 2011 Bacteriology 2011/9/6 ~ 10. Sapporo, Japan.
- 4) Yosikazu Ishii, Maki Eto, Hidetake Esaki, Tomoo Saga, Sohei Harada, Ayumi Yoshizumi, Kazuhiro Tateda, Makoto Kuroda, Shizunobu Igimi, Alain Rambach and Keizo Yamaguchi. Characterization of Extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* from clinical patients, chicken meat and domestic animals. 21st European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases and the 27th International Congress of Chemotherapy. 7 - 10 May 2011 / Milan, Italy
- 5) Shizunobu Igimi, Akiko Ishiwa, Shuko Monden, Yumiko Okada, Hiroshi Asakura, Tetsuo Asai, Akemi Kai, Masumi Taguchi, Yoshikazu Ishii, Makoto Kuroda and Haruo Watanabe. Antimicrobial Susceptibility Profiles and PFGE Typing of *Campylobacter jejuni* Isolated from Various Sources in Japan. the 16th

International Workshop on
Campylobacter, Helicobacter, and
Related Organisms. August 28 -
September 1, 2011. Vancouver,
Canada.

表1. 公共データベースから取得した *Salmonella enterica* ゲノム配列

Serovar and strain	Organization	Status
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar 4,[5],12:i:- str. CVM23701	TIGR	Assembly
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Agona str. SL483	TIGR/J. Craig Venter Institute	Complete
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Choleraesuis str. SC-B67	Chang Gung Genomic Medical Center, Chang Gung Memorial Hospital	Complete
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Enteritidis str. P125109	Wellcome Trust Sanger Institute	Complete
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Gallinarum str. 287/91	Wellcome Trust Sanger Institute	Complete
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Hadar str. RI 05P066 SL485	TIGR/JCVI	Assembly
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Heidelberg str. SL476	TIGR/J. Craig Venter Institute	Complete
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Heidelberg str. SL486	TIGR/JCVI	Assembly
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Infantis SIN	Wellcome Trust Sanger Institute	Assembly
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Javiana str. GA MM04042433	TIGR/J. Craig Venter Institute	Assembly
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Kentucky str. CDC 191	TIGR/J. Craig Venter Institute	Assembly
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Kentucky str. CVM29188	TIGR	Assembly
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Newport str. SL254	TIGR	Complete
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Newport str. SL317	TIGR/J. Craig Venter Institute	Assembly
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Paratyphi A str. AKU 12601	Wellcome Trust Sanger Institute	Complete
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Paratyphi A str. ATCC 9150	Washington University Genome Sequencing Center	Complete
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Paratyphi B str. SPB7	The <i>Salmonella enterica</i> serovar Paratyphi B Genome Sequencing Project	Complete
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Paratyphi C strain RKS4594	Peking University Health Science Center	Complete
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Saintpaul str. SARA23	TIGR	Assembly
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Saintpaul str. SARA29	TIGR	Assembly
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Schwarzengrund str. CVM19633	TIGR	Complete
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Schwarzengrund str. SL480	TIGR/J. Craig Venter Institute	Assembly
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Tennessee str. CDC07-0191	CDC/CCID/NCZVED/DFBMD/EDLB	Assembly
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhi str. CT18	Sanger Institute	Complete
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhi str. E02-1180	Pathogen Sequencing Unit, Wellcome Trust Sanger Institute	Assembly
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhi str. E98-3139	Pathogen Sequencing Unit, Wellcome Trust Sanger Institute	Assembly
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhi str. Ty2	Univ. Wisconsin	Complete
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium LT2	Wash U	Complete
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Virchow str. SL491	TIGR/JCVI	Assembly
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Weltevreden str. HI N05-537 SL484	TIGR/JCVI	Assembly

表2. H21年度に解読した *Salmonella enterica*

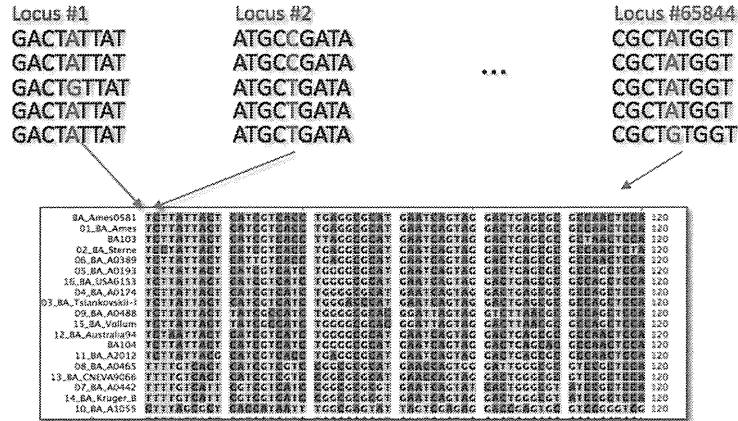
Serovar and strain	Organization	Status	都道府県	材料	分離年	ファージ型	薬耐
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Enteritidis str. E060004	NIID	Assembly	宮城	鶏肉(ブラジル)	2005	4	N
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Enteritidis str. E060234	NIID	Assembly	大阪	患者	2006	47	susceptible
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Enteritidis str. E060311	NIID	Assembly	愛媛	患者	2006	1	susceptible
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Enteritidis str. E980560	NIID	Assembly	岡山県	便	1998	34b	S
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Enteritidis str. E981123	NIID	Assembly	滋賀県	ヒ糞便	1998	RDNC(6d)	ASCf
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Enteritidis str. E070004	NIID	Assembly	山口	患者便	2006	14b	susceptible
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Enteritidis str. E070163	NIID	Assembly	茨城	患者便	2006	3	S
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Enteritidis str. E070187	NIID	Assembly	沖縄県	食品	2007	21	susceptible
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Enteritidis str. E070327	NIID	Assembly	鹿児島	便	2007	6a	susceptible
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Enteritidis str. E070345	NIID	Assembly	福島	便	2007	4	susceptible
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Enteritidis str. E070478	NIID	Assembly	奈良	便	2007	59/55	susceptible
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Infantis str. S080134	NIID	Assembly	大阪	鶏肉	2008	-	ASTCtSxSuCf
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Infantis str. S080215	NIID	Assembly	埼玉	患者	2006	-	STKSu
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Infantis str. S090174	NIID	Assembly	-	鶏	2005	-	ASTKSuCfCx
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Infantis str. S090175	NIID	Assembly	-	鶏	2006	-	ASTKcCtSuCf
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium str. T000240	NIID & NITE	Complete	大阪	患者	2000	-	ASTCpCSxTmG
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Stanley str. S090136	NIID	Assembly	Thailand	-	-	-	susceptible
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Rissen str. S090137	NIID	Assembly	Thailand	-	-	-	ATSxSuN
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Corvalis str. S090138	NIID	Assembly	Thailand	-	-	-	TSu
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Anatum str. S090139	NIID	Assembly	Thailand	-	-	-	ATCtGCf

N, nalidixic acid; S, streptomycin; T, tetracycline; K, kanamycin; Sx, trimethoprim-sulfamethoxazole; Su, sulphonamide; Tm, Trimethoprim; A, ampicillin; C, chloramphenicol; Cp, ciprofloxacin; Cf, cephalothin; Ct, cefotaxime; G, gentamicin

図1 *Salmonella enterica* のゲノム解読と分子系統解析

ゲノムワイドなSNPsを用いた系統解析

1. *Salmonella enterica* subsp. 公開ゲノム配列(～4.9 Mb, 15 complete, 15 draft)を取得
2. Maq.pl を用いて(30株. Draft assemblyを含む + 今年度の解読 20株)からSNPsを抽出
3. 65,844箇所のSNPsを連結した疑似配列を作製



3. アライメント結果を最尤法 (Maximum likelihood estimation) で系統樹作製 (phylipのdnaml)

図2 *Salmonella enterica* 公開ゲノム配列を用いたSNPs系統解析 ～ コアゲノムから全抽出65,844 loci (codingのみ) を使用 ～

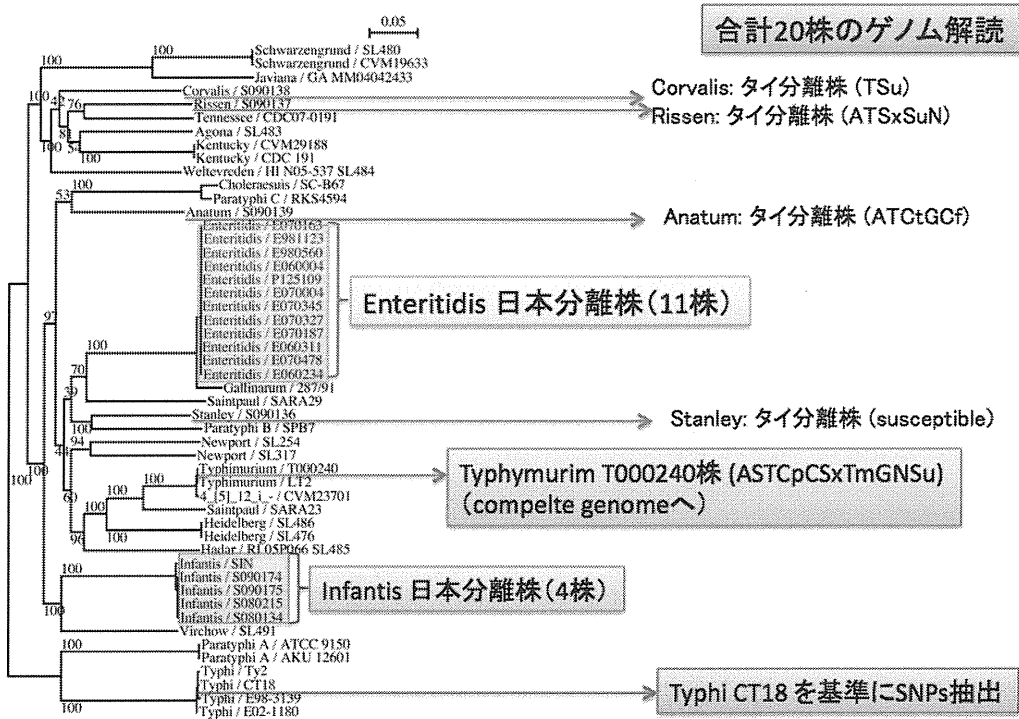
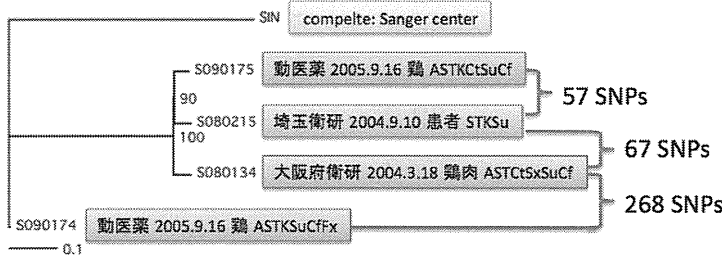


図3 *Salmonella* Infantis SNPs系統解析

Infantis 5株、ORF上に存在するSNP (infantis間でのcore genome region) 913カ所を用いた最尤法bootstrap (1000回)



PFGE(泉谷先生)との比較

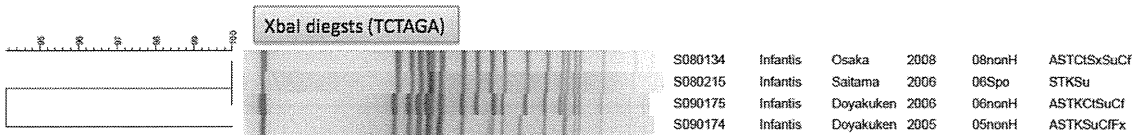


図4 *Salmonella* Enteritidis SNPs系統解析

Enteritidis 11株、ORF上に存在するSNP (core genome region) 232カ所を用いた最尤法bootstrap (1000回)



PFGE(泉谷先生)との比較

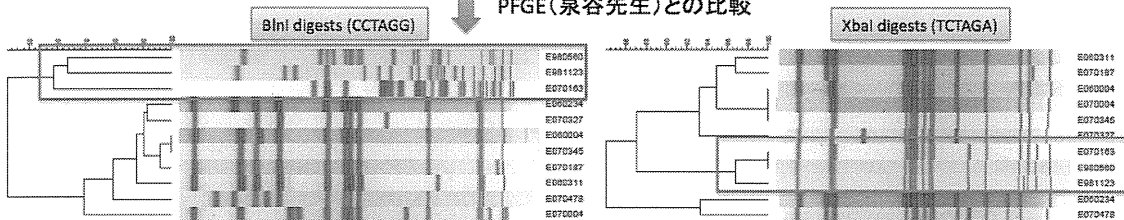


表 3 T000240 株のゲノム情報

	chromosome	plasmid L	plasmid S
Length (bp)	4,954,814	106,510	8,670
G+C Content (%)	52.2	53.5	60.9
CDS (no.)	4723	139	11
rRNA genes (no.)	22	-	-
tRNA genes (no.)	84	-	-
Avg. CDS length (bp)	920	634	2942
Coding density (%)	87.4	82.4	88.2
Non-coding density (%)	12.6	17.6	11.8
Function assigned	3909	112	9
Hypothetical protein	814	27	2

表 4 T000240 株の薬剤耐性マーカーとその局在

Antibiotics	Resistance gene marker	Resistance determinants
Nalidixic acid	QRDR*	GyrA: S83F, D87N
Ciprofloxacin	QRDR*	GyrA: S83F, D87N; ParC: S80R
Ampicillin	<i>bla</i> _{oxa-30}	GI-DT12
Streptomycin	<i>aadA1</i>	GI-DT12 / pSTMDT12_L
	<i>strA</i> [<i>aph(3)</i>], <i>strB</i> [<i>aph(6)</i>]	pSTMDT12_S
Sulphonamide	<i>sul1</i>	GI-DT12 / pSTMDT12_L
	<i>sul2</i>	pSTMDT12_S
Tetracycline	<i>tetA</i> (class B)	GI-DT12
Chloramphenicol	<i>cat</i>	GI-DT12
Trimethoprim-Sulfamethoxazole	<i>dfrA1</i> , <i>sul1</i>	pSTMDT12_L / GI-DT12
Trimethoprim	<i>dfrA1</i>	pSTMDT12_L
Gentamicin	<i>aac(3)</i>	pSTMDT12_L

*Quinolone Resistance Determining Region.

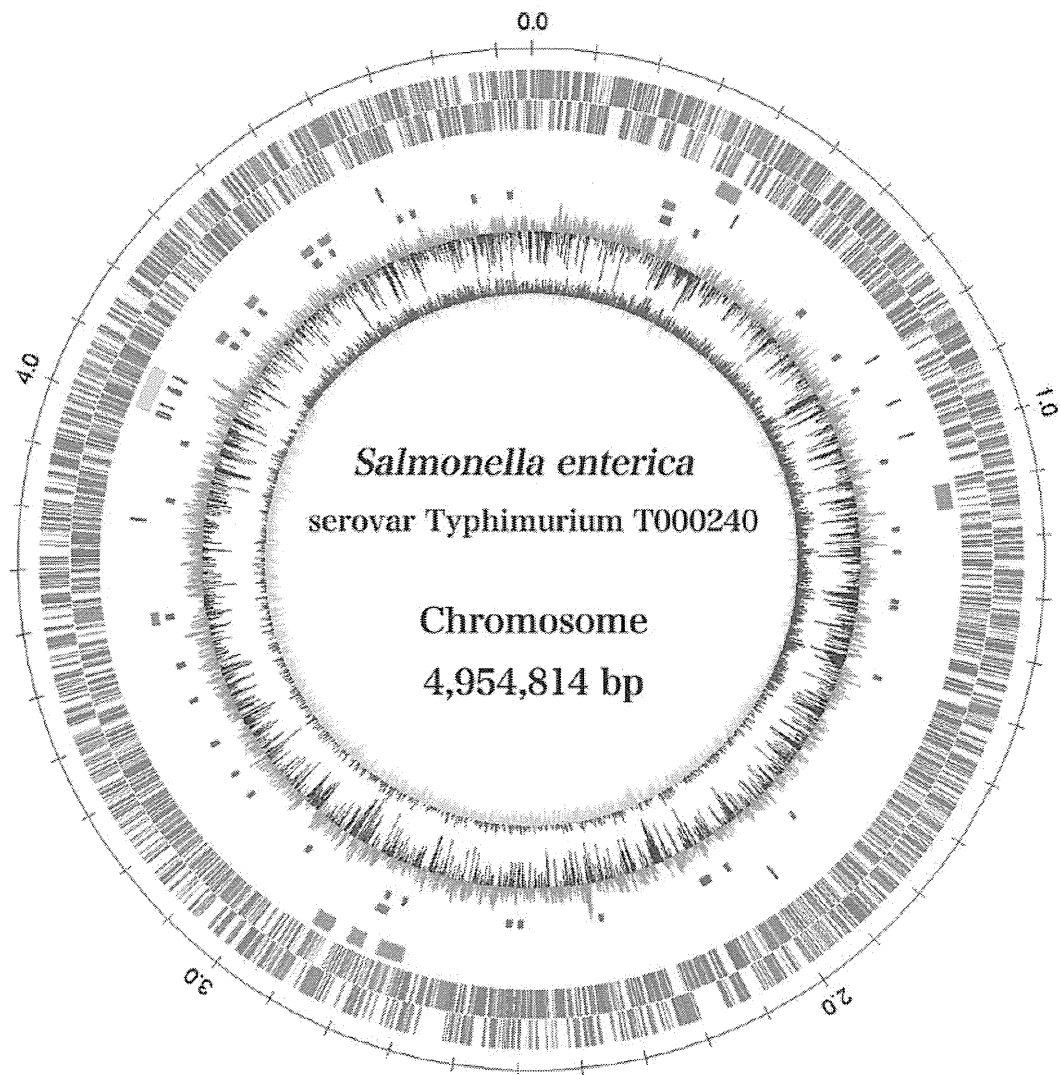


図5 *S. Typhimurium* T000240 株のゲノム円環図。外側から、サイズ(Mb)、推定 CDS の位置 (時計回り、反時計回り) と COG カテゴリーに分類される色で機能分別している。4 番目にゲノムアイランド (黄 : GI-DT12、緑 : prophage) を示し、5 番目に 13 箇所の IS1 (紫) を示している。他、rDNA、tRNA、GC%、GC-skew の結果を示している。

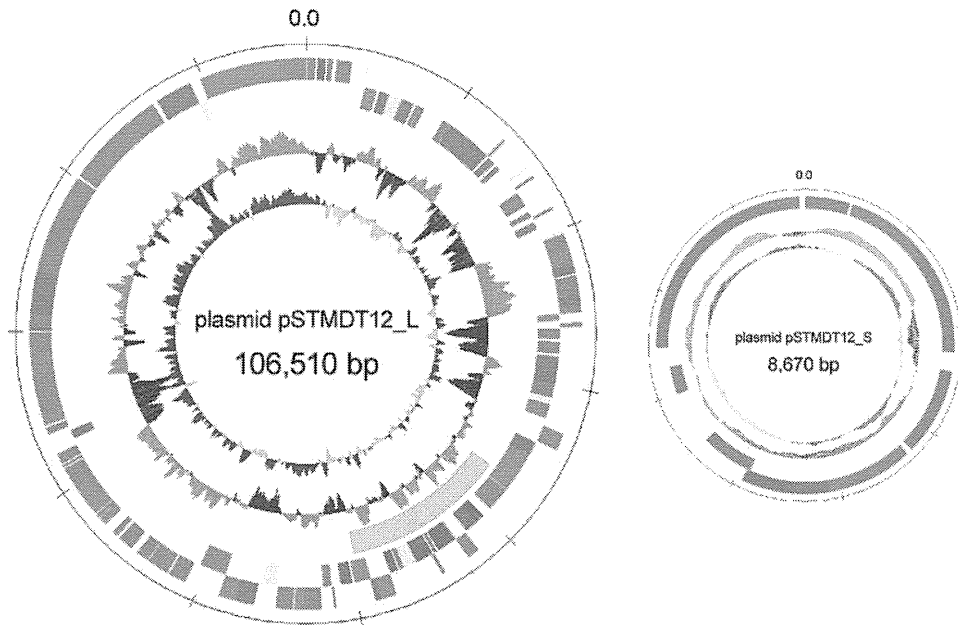


図6 *S. Typhimurium* T000240 株のプラスミド円環図。plasmid L: pSTMDT12-L, plasmid S: pSTMDT12-S。 黄：薬剤耐性アイランド。

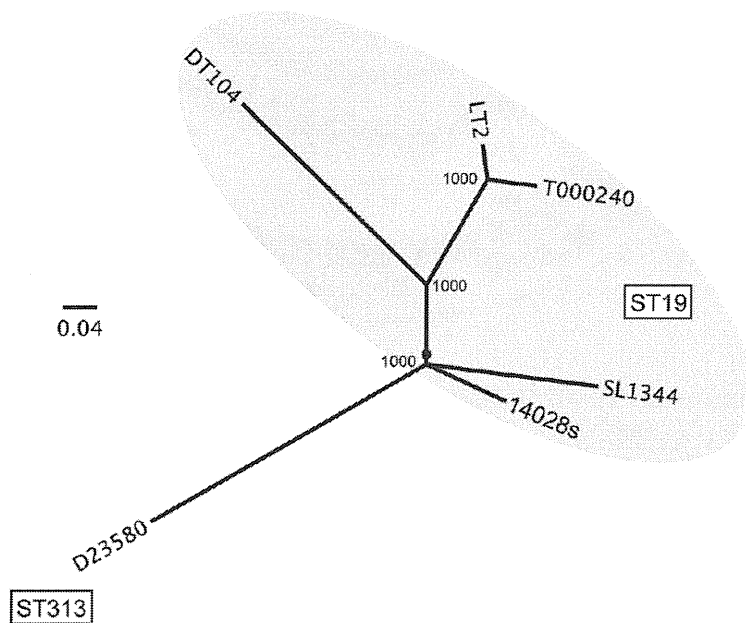
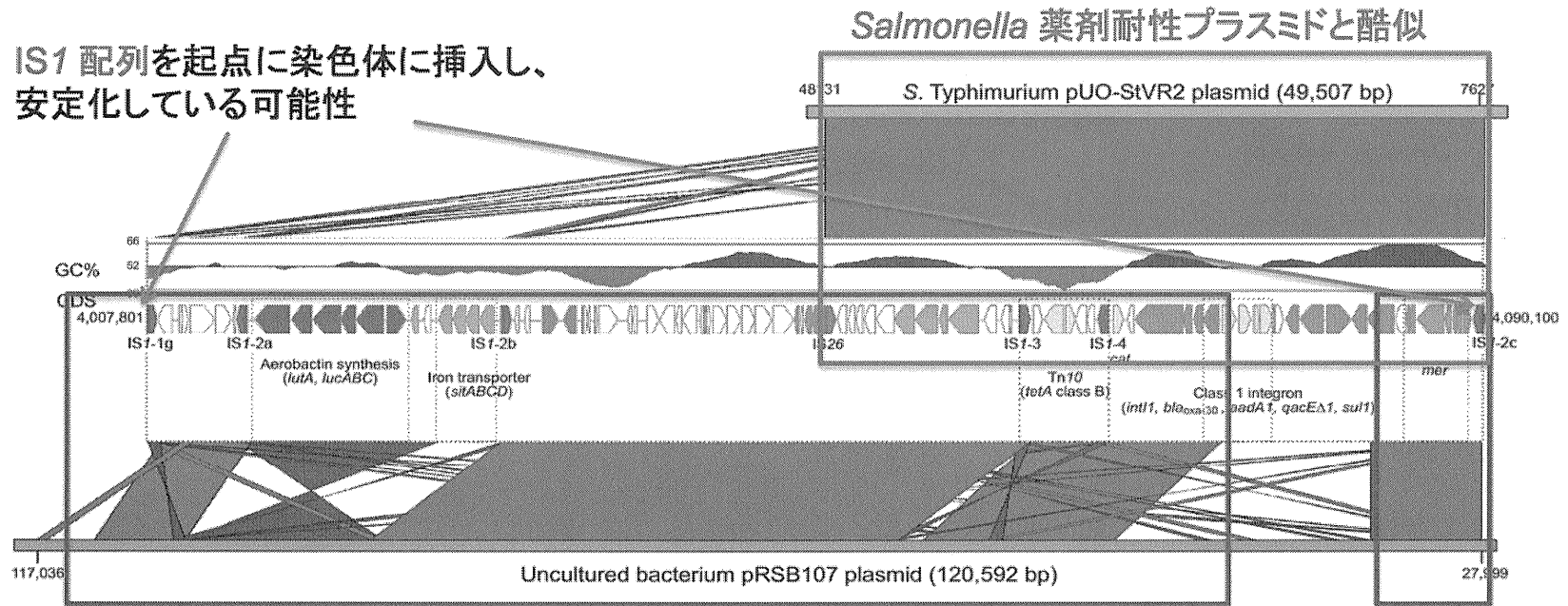


図7 *S. Typhimurium* 全ゲノム配列比較から得られた SNVs の系統比較解析。計 6 株の比較解析から、1425 箇所の SNVs を抽出し、T000240 株が LT2 株と非常に近縁であることがわかった (127 SNVs サイトが LT2 と異なる)。また、MLST 法による ST 分類では、ST19 と ST313 の違いが SNVs 比較でも明瞭に分けることができた。

多剤耐性 *Salmonella* Typhimurium T000240株の
薬剤耐性アイランド構造 (82 kb)

薬剤耐性因子が集積するアイランド構造 GI-DT12 は、従来の薬剤耐性プラスミドの水平伝達に加え、
環境細菌からも多くの耐性因子を複合的に獲得していることが示唆された。Antimicrob Agents Chemother. 2010 Nov 22.

図 8 ゲノムアイランド GI-DT12 の薬剤耐性因子の構造



ドイツの下水処理場の活性汚泥バクテリアから精製されたプラスミドと酷似



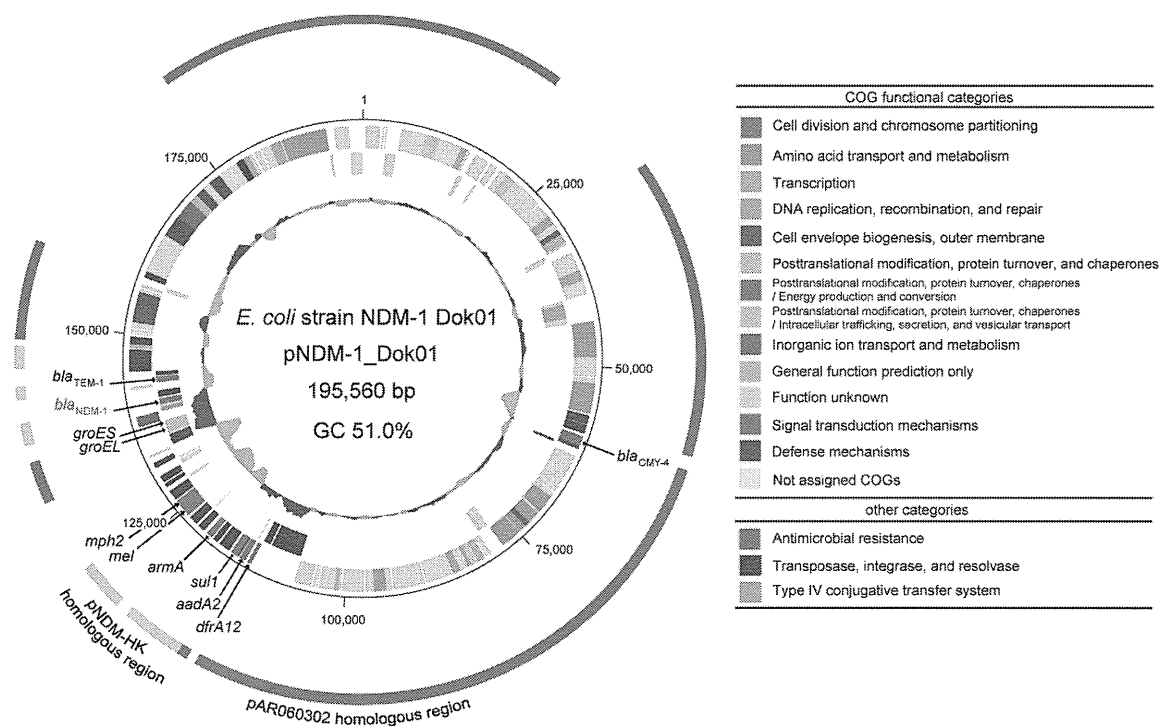


図9 NDM-1保有大腸菌 NDM-1_Dok01株 (multilocus sequence typing type: ST38) の *bla*_{NDM-1} プラスミド pNDM-1_Dok01 の完全長配列を決定した。全長 195.5 kb の IncA/C レプリコンを有するプラスミドであり、225 個の遺伝子の存在が予測された。pNDM-1_Dok01 は、大腸菌 AR060302 株の pAR060302 (166.5 kb) および *Salmonella enterica* serovar Newport の pSN254 (176.4 kb) 等の *bla*_{CMY-2} 陽性 IncA/C プラスミドと高い保存性を示した。pNDM-1_Dok01 には *bla*_{CMY-4} が存在し、IncL/M 型の *bla*_{NDM-1} 陽性プラスミド pNDM-HK とは異なっていた。外側から、サイズ (Mb)、推定 CDS の位置 (時計回り、反時計回り) と COG カテゴリーに分類される色で機能分別している。4 番目に GC% のプロット図を示している。

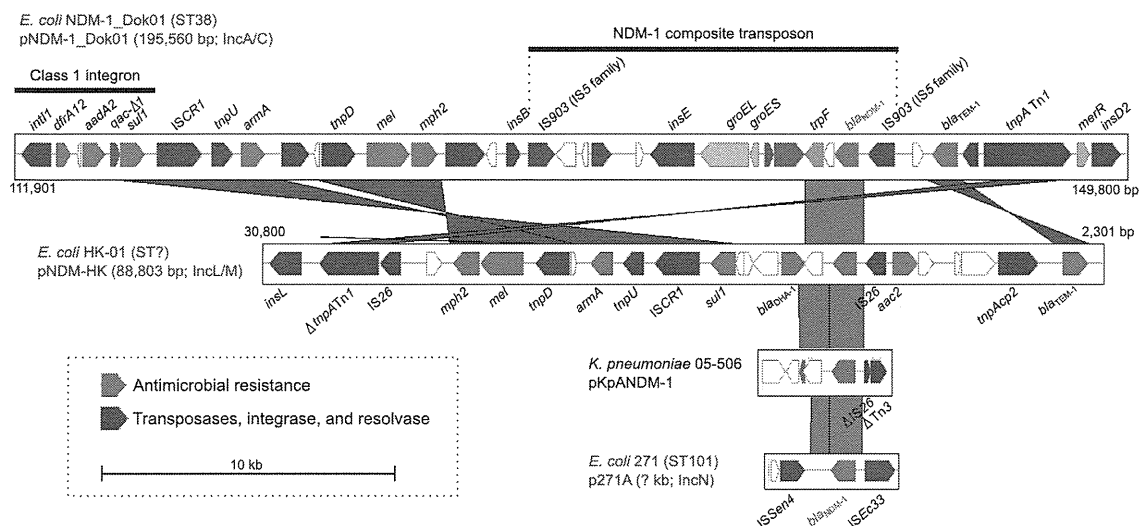


図10 プラスミド上の bla_{NDM-1} は、これまでの NDM-1 陽性プラスミドとは異なり、IS903 に挟まれた新規 composite transposon 内に含まれていた。更に、composite transposon 内には分子シャペロンの $groES$ および $groEL$ が存在していた。それら分子シャペロンは、系統解析および GC 含量の比較の結果、植物病原体である *Pseudoxanthomonas* および *Xanthomonas* 属に近縁であった。以上の結果から、NDM-1_Dok01 株 (ST38) の bla_{NDM-1} は、環境中に存在する植物病原体細菌等から composite transposon を介して IncA/C プラスミド上に水平伝播された可能性が示唆された。

表5 IS903 に挟まれた NDM-1 composite transposon の遺伝子情報

Gene_ID	Location	direction	gene	Top hit (blastp analysis)	Hit organism	aa identities
NDM1Dok01_N01630	129343..130266	+		gb AAO15539.1 IS903D transposase	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	307/307 (100%)
NDM1Dok01_N01640	130312..131013	-		ref YP_025329.1 hypothetical protein pRA2_07	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	81/207 (39%)
NDM1Dok01_N01650	131197..131421	-		ref ZP_04663571.1 hypothetical protein AbauAB_18243	<i>Acinetobacter baumannii</i> AB900	33/68 (49%)
NDM1Dok01_N01660	131543..132220	+		ref YP_001966417.1 resolvase	<i>Moraxella bovis</i> Epp63	93/205 (45%)
NDM1Dok01_N01670	133044..133328	+		ref ZP_06727037.1 acyltransferase	<i>Acinetobacter haemolyticus</i> ATCC 19194	70/82 (85%)
NDM1Dok01_N01680	133539..135068	-	<i>insE</i>	ref YP_001102021.1 transposase InsE	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Newport str. 5L254	483/498 (97%)
NDM1Dok01_N01690	135257..136897	-	<i>groEL</i>	ref YP_001102020.1 chaperonin GroEL	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Newport str. 5L254	489/533 (92%)
NDM1Dok01_N01700	136953..137243	-	<i>groES</i>	ref YP_004145503.1 chaperonin Cpn10	<i>Pseudoxanthomonas suwonensis</i> 11-1	81/96 (84%)
NDM1Dok01_N01710	137437..137766	+		ref YP_003374846.1 periplasmic divalent cation tolerance protein	<i>Xanthomonas albilineans</i> GPE PC73	64/100 (64%)
NDM1Dok01_N01720	137771..138802	+		ref ZP_08267023.1 tat twin-arginine translocation pathway signal sequence domain protein	<i>Brevundimonas diminuta</i> ATCC 11568	141/188 (75%)
NDM1Dok01_N01730	138813..139451	-	<i>trpF</i>	gb ADY00042.1 phosphoribosylanthranilate isomerase	<i>Escherichia coli</i> pNDM-HK	195/200 (98%)
NDM1Dok01_N01740	139456..139821	-		ref ZP_05033688.1 glyoxalase family protein	<i>Brevundimonas</i> sp. BAL3	76/119 (64%)
NDM1Dok01_N01750	139825..140637	-	bla_{NDM-1}	gb ADP05158.1 New Delhi metallo-beta-lactamase 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	270/270 (100%)
NDM1Dok01_N01760	140970..141893	-		ref YP_961838.1 transposase, IS4 family protein	<i>Shewanella</i> sp. W3-18-1	302/306 (99%)

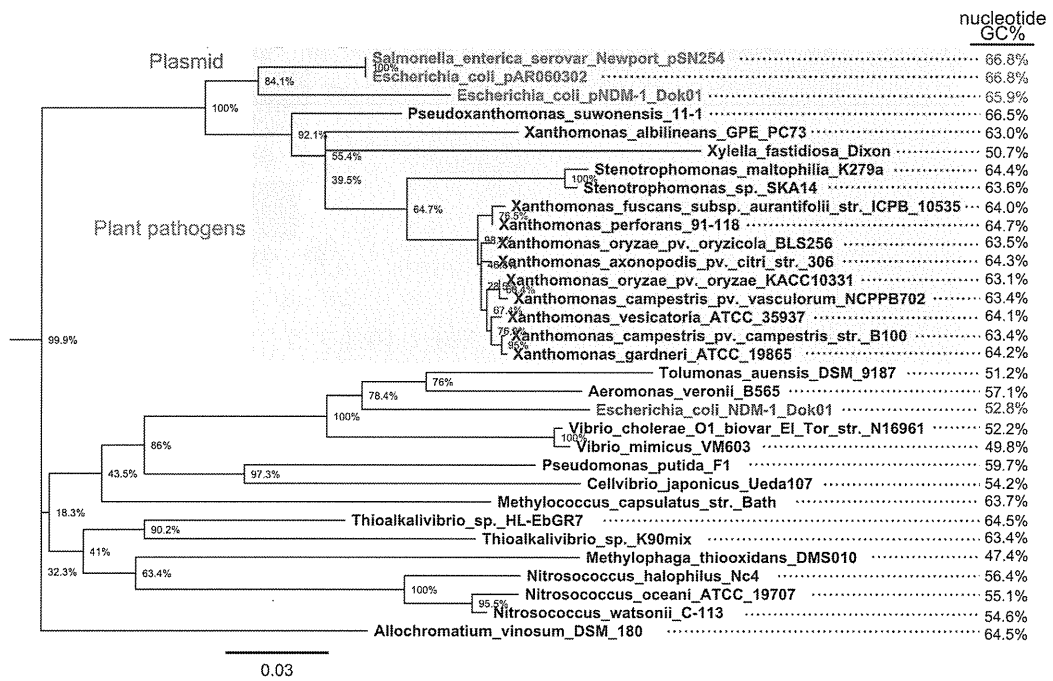


図 1 1 GroEL 分子シャペロンのアミノ酸配列系統解析（最尤法。1000 回のブートストラップ解析）。系統解析および GC 含量の比較の結果、植物病原体である *Pseudoxanthomonas* および *Xanthomonas* 属に近縁であった。

研究発表(平成21年～23年度)

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
H. Izumiya, Y. Tada, K. Ito, T. Morita- Ishihara, M. Ohnishi, J. Terajima, and H. Watanabe	Characterization of <i>Shigella sonnei</i> isolates from travel-associated cases in Japan.	J. Med. Microbiol.	58 (11)	1486-1491	2009
Ishihara, K., Takahashi, T., Morioka, A., Kojima, A., Kijima, M., Asai, T., Tamura, Y.	National surveillance of <i>Salmonella enterica</i> in food-producing animals in Japan.	Acta Vet Scand.	51	35-40	2009
Asai, T., Murakami, K., Ozawa, M., Koike, R., Ishikawa, H.	Relationships between multidrug-resistant <i>Salmonella enterica</i> serovar Schwarzengrund and both broiler chickens and retail chicken meats in Japan.	Jpn. J. Infect. Dis.	62	198-200	2009
Harada, K., Ozawa, M., Ishihara, K., Asai, T., Koike, R., Ishikawa, H.	Prevalence of antimicrobial resistance among serotypes of <i>Campylobacter jejuni</i> isolates from cattle and poultry in Japan.	Microbiol. Immunol.	53	107-111	2009
M. Taguchi, R. Kawahara, K. Seto, K. Inoue, A. Hayashi, N. Yamagata, K. Kamakura, and E. Kashiwagi	Plasmid-mediated quinolone resistance in <i>Salmonella</i> isolated from patients with overseas travelers diarrhea in Japan.	Jpn. J. Infect. Dis.	62	312-314	2009

Kojima A., Asai T., Ishihara K., Morioka A., Akimoto K., Sugimoto Y., Sato T., Kijima M., Tamura Y. and Takahashi T.	National monitoring for antimicrobial resistance among indicator bacteria isolated from food-producing animals in Japan.	J. Vet. Med. Sci.	7	1301-1308	2009
M. Morita, N. Takai, J. Terajima, H. Watanabe, M. Kurokawa, H. Sagara, K. Ohnishi, and H. Izumiya	Plasmid-mediated resistance to cephalosporins in <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi.	Antimicrob. Agents Chemother.	54 (9)	3991-3992	2010
Baba, K., Ishihara, K., Ozawa, M., Tamura, Y., Asai, T.	Isolation of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) from swine in Japan.	Int. J. Antimicrob. Agents.	36	352-354	2010
Asai, T., Sato, C., Masani, K., Masaru Usui, Ozawa, M., Ogino, T., Aoki, H., Sawada, T., Izumiya, H., Watanabe, H.	Epidemiology of plasmid-mediated quinolone resistance in <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium Isolates from Food-Producing Animals in Japan.	Gut Pathog.	2	17	2010

Ishihara K., Shimokubo N., Sakagami A., Ueno H., Muramatsu Y., Kadosawa T., Yanagisawa C., Hanaki H., Nakajima C., Suzuki Y., Tamura Y.	Occurrence and molecular characteristics of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> and methicillin-resistant <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> in an academic veterinary hospital.	Appl. Environ. Microbiol.	76(15)	5165-5174	2010
H. Izumiya, T. Sekizuka, H. Nakaya, M. Taguchi, A. Oguchi, N. Ichikawa, R. Nishiko, S. Yamazaki, N. Fujita, H. Watanabe, M. Ohnishi, and M. Kuroda	Whole-genome analysis of <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium T000240 reveals the acquisition of a genomic island involved in multidrug resistance via IS1 derivatives on the chromosome.	Antimicrob. Agents Chemother.	55(2)	623-630	2011
N. Sithivong, T. Morita- Ishihara, A. Vongdouangchanh, T. Phouthavane, K. Chomlasak, L. Sisavath, B. Khamphaphongphane, B. Sengkeoprasedh, P. Vongprachanh, O. Keosavanh, K. Southalack, J. Lee, R. Tsuyuoka, M. Ohnishi, and H. Izumiya	Molecular subtyping in cholera outbreak, Laos, 2010.	Emerg. Infect. Dis.	17 (11)	2060-2062	2011

Pinto AF, Todorovic S, Hildebrandt P, Yamazaki M, Amano F, Igimi S, Romão CV, Teixeira M.	Desulforubrerythrin from <i>Campylobacter jejuni</i> , a novel multidomain protein.	J. Biol. Inorg. Chem.	16(3)	501-510	2011
Okada Y, Okutani A, Suzuki H, Asakura H, Monden S, Nakama A, Maruyama T, Igimi S.	Antimicrobial susceptibilities of <i>Listeria monocytogenes</i> isolated in Japan.	J Vet Med Sci.	73(12)	1681- 1684	2011
Usui, M., Uchiyama, M., Baba, K., Nagai, H., Yamamoto, Y., Asai, T.	Contribution of enhanced efflux to reduced Susceptibilities of <i>Salmonella enterica</i> serovar Choleraesuis to fluoroquinolone and other Antimicrobials.	J Vet Med Sci.	73	279-282	2011
Asai, T., Masani, K., Sato, C., Hiki, M., Usui, M., Baba, K., Ozawa, M., Harada, K., Aoki, H., Sawada, T.	Phylogenetic groups and cephalosporin resistance genes of <i>Escherichia coli</i> from diseased food-producing animals in Japan.	Acta Vet Scand.	53	52	2011
M. Sugawara, J. Komori, M. Kawakami, H. Izumiya, H. Watanabe, M. Akiba:	Molecular and phenotypic characteristics of CMY-2 β - lactamase-producing <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium isolated from cattle in Japan.	J. Vet. Med. Sci.	73	345-349	2011

F. Shahada, T. Sekizuka, M. Kuroda, M. Kusumoto, D. Ohishi, A. Matsumoto, H. Okazaki, K. Tanaka, I. Uchida, H. Izumiya, H. Watanabe, Y. Tamamura, T. Iwata, M. Akiba	Characterization of <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium isolates harboring a chromosomally encoded CMY-2 β -lactamase gene located on a multidrug resistance genomic island.	Antimicrob. Agents Chemother.	55	4114- 4121	2011
Sato T., Yokota S., Uchida I., Okubo T., Ishihara K., Fujii N., Tamura Y.	A fluoroquinolone-resistant <i>Escherichia coli</i> clinical isolate without quinolone resistant-determining region mutations found in Japan.	Antimicrobiol Agents Chemother.	55(8)	3964- 3965	2011
Ishihara K., Kanamori K., Asai T., Kojima A., Takahashi T., Ueno H., Muramatsu M., Tamura Y.	Antimicrobial susceptibility of <i>Escherichia coli</i> isolates from wild mice in a forest of a natural park in Hokkaido, Japan.	J Vet Med Sci.	73(9)	1191- 1193	2011
Sekizuka T, Matsui M, Yamane K, Takeuchi F, Ohnishi M, Hishinuma A, Arakawa Y, Kuroda M.	Complete Sequencing of the <i>bla</i> (NDM-1)-Positive IncA/C Plasmid from <i>Escherichia</i> <i>coli</i> ST38 Isolate Suggests a Possible Origin from Plant Pathogens.	<i>PloS one</i> 2011.	2011;6	e25334	2011

M. Sugawara, F. Shahada, H. Izumiya, H. Watanabe, I. Uchida, Y. Tamamura, M. Kusumoto, T. Iwata, M. Akiba:	Change in antimicrobial resistance pattern in <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium isolates detected in a beef cattle farm.	J. Vet. Med. Sci.	74	93-97	2012
Baba, K., Ishihara, K., Ozawa, M., Usui, M., Hiki, M., Tamura, Y., Asai, T.	Prevalence and Mechanism of Antimicrobial Resistance in <i>Staphylococcus aureus</i> Isolates from Diseased Cattle, Swine and Chickens in Japan.	J Vet Med Sci.	in press		
Ishihara K., Hosokawa Y., Makita K., Nod J., Ueno H., Mukai T., Yamamoto H., Ito M., Muramatsu M., Tamura Y.	Factor associated with antimicrobial resistant <i>Escherichia coli</i> in zoo animals.	Res Vet Sci.	in press		
Yokota S., Sato T., Okubo T., Ohkoshi Y., Okabayashi T., Kuwahara O., Tamura Y., Fujii N.	Prevalence of fluoroquinolone-resistant <i>Escherichia coli</i> O25:H4- ST131 (CTX-M-15- nonproducing) strain isolated in Japan.	Chemotherapy.	in press		
泉谷秀昌	サルモネラ食中毒について	月間HACCP	第16巻 第2号	100-103	2010