

総 合 研 究 分 担 研 究
報 告 書

病原大腸菌食中毒事例株の解析

大岡 唯祐

令和 3 ～ 5 年度 厚生労働科学研究費補助金
(食品の安全確保推進研究事業)

食中毒原因細菌の検査法の整備のための研究

研究代表者 工藤由起子 国立医薬品食品衛生研究所

分担研究報告書

病原大腸菌の検出指標遺伝子および病原性発現解析

研究分担者 大岡唯祐 鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科

研究要旨

astA 遺伝子 (腸管凝集付着性大腸菌熱性毒素をコード) 保有大腸菌を中心とした種々の病原性大腸菌について“効果的な検出法の確立”および“病原因子の組み合わせによる重症化リスクの解明”を目的として研究を進めた。これまで収集した下痢症患者由来大腸菌 (2,730 株) の中から *astA* 遺伝子陽性株を 194 株同定し、multi-locus sequence analysis (MLSA) による系統解析の結果から、系統の異なる 31 株を選定して完全長ゲノム配列取得を行った。また、公共データベース上の完全長配列決定大腸菌株 (約 9,000 株) の中から、713 株の *astA* 遺伝子陽性株を抽出し、計 35 種類の *astA* 遺伝子バリエント (V1-V35) を同定した。保有株数の多い主要な *astA* 遺伝子バリエントは V22、prototype、V6、V27、V12、V7 であること、また、それらとは別に *astA* 遺伝子の断片を持つ株が 349 株存在することを明らかにした。各バリエントの intactness についての解析から、V7、V15、V22、V33 は premature stop codon などにより不完全であると考えられ、多数の株が保有し配列上完全なバリエントは prototype、V6、V27 の 3 種類と推定された。これら 3 種類のバリエントについて、*astA* 遺伝子高発現株を用いて HeLa 細胞への細胞障害性の解析、カイコへの病原性評価を実施したがいずれも有意な結果は得られなかった。prototype、V2、V7、V31、V32 がコードされた挿入配列 IS1414 は構造的に intact であることが判明し、これらのバリエントが今後、ゲノム上でのコピー数増加に関わる可能性が示唆された。配列上完全な *astA* 遺伝子バリエントを保有する 395 株について、共通する病原因子の同定を試みたが、同一バリエントが大腸菌進化系統に分散して存在することが判明し、共通因子の同定が困難であることが明らかになった。そのため、特に集団感染事例由来株について、共通する遺伝子バリエントや病原関連遺伝子等の同定を行った結果、*astA* 遺伝子バリエントに共通するものの、blaTEM-1B や blaCTX-M-15 など β -ラクタム系に対する耐性遺伝子を保有頻度が高いことを明らかにした。

A. 研究目的

近年、病原大腸菌を原因とする食中毒が多発しており、令和 2 年には、学校給食を喫食した小中学生の児童生徒等 2,529 人の患者をとまなう *astA* 遺伝子保有大腸菌による大規模食中毒が発生した。*astA* 遺伝子保有大腸菌による食中毒は毎年発生が続

いており、患者が 100 人を超える事例も多く、食中毒予防対策が必要とされている。また、腸管凝集付着性大腸菌 [EAEC] (凝集付着性因子: *aggR* 遺伝子等の保有株) や腸管病原性大腸菌 [EPEC] (細胞への局在付着性因子: *eae* 遺伝子等の保有株) による食中毒の発生も続いている。これらの

病原大腸菌による食中毒においては、原因食品が不明であることが多く、感染源（食材や食品）が明らかになることはまれである。これらの病原大腸菌の食品等の検査法は国内外で確立されておらず、一般的な大腸菌の検査法を用いて実施されることが多く、効率的な検査法が実施されていないことが危惧される。食中毒細菌の食品汚染菌数レベルは低いことがいわれており、その食中毒細菌に適した検査法が原因食品究明には重要である。

本研究では、ゲノム情報を基に各病原型に保存性の高い病原関連遺伝子を同定する。その際、既知の病原因子だけでなく、新規因子の同定も試みる。病原因子の発現解析および機能解析をおこない、検出指標に適した病原関連遺伝子を既知・新規因子を含め検討する。以上のような研究を進めることにより、遺伝子検出法を主とした病原性大腸菌の効果的検査法の開発を最終目標とする。

B. 研究方法

〔1〕下痢症患者由来大腸菌株からの *astA* 遺伝子保有株の同定

申請者の研究グループでは当大学病院小児科および鹿児島県内の小児科から、下痢症患者由来の大腸菌株の収集を進めており、現在までに約 3,000 株を収集している。これらの株を対象に *astA* 遺伝子特異的プライマー ペア (EAST1-F: 5' -GCCATCAACACAGTATATCC -3' ; EAST1-R: 5' -GAGTGACGGCTTTGTA GTCC-3') による PCR スクリーニングを実施し、*astA* 遺伝子の保有頻度の検討および保有株の同定を行った。

〔2〕Random amplified PCR polymorphic DNA 法 (RAPD) を用いた

株多様性の検討

項目〔1〕で同定した 194 株のうち、同一株の可能性が疑われる株（同一日、同一病院からの分離株）について、P1254 (5' -CCGCAGCCAA-3'), P1290 (5' -GTGGATGCGA-3'), P1252 (5' -GCGGAAATAG-3') の 3 プライマーを用いた RAPD により検証した。

〔3〕multi-locus sequence analysis (MLSA) による進化系統解析

大腸菌のハウスキーピング遺伝子 7 遺伝子 (*adk*, *gyrB*, *mdh*, *fumC*, *recA*, *purA*, *icd*; <http://mlst.ucc.ie/mlst/dbs/Ecoli>) の内部配列を PCR により増幅して配列決定した後、各配列を連結（計 3,423 bp）して clustalW によりマルチプルアライメントを実施した。その結果を、MEGA6 を用いて系統解析を行い、Neighbour-joining 法により系統樹を作成した。

〔4〕進化系統の異なる株のドラフトゲノム解析

項目（2）で作成した系統樹から比較的系統の異なる 31 株を選定し、MiSeq (Illumina) および MinION (Nanopore) による完全長ゲノム配列取得を行った。具体的には DNeasy Blood and tissue kit (Qiagen) を用いてゲノム DNA を精製し、250-300 bp のショットガンフラグメントライブラリー Nextera XT DNA Sample Prep kit (Illumina) を用いて作製し、MiSeq により解析した。また、長鎖ゲノム DNA は NucleoBond HMW DNA (Takara Bio) を用いて精製し、短鎖 DNA を除去したのち、MinION で解析した。得られたロングリード配列を MiSeq リード配列とともに unicycler-v0.4.8 でハイブリッドアセンブルした。

〔5〕公共データベース上に登録された *astA* 遺伝子保有大腸菌株の網羅的同定

astA 遺伝子の局在を正確に把握するため、NCBI データベース上に登録された完全長配列が決定された大腸菌株 9,065 株（2021 年 12 月現在）を解析対象とした。既知の *astA* 遺伝子バリエーション 9 種類を query とした blastn 解析を行い、遺伝子保有株を同定した。

〔6〕同定した *astA* 遺伝子保有株（鹿児島株 31 株と公共 DB 由来 713 株、計 749 株）に関する *astA* 遺伝子バリエーションの詳細な解析

項目〔4〕で得られたゲノム配列を元に、既知の *astA* 遺伝子バリエーションとの配列比較を行い、それらのゲノム上での局在・コピー数について検討した。また、*astA* 遺伝子はトランスポゾン的一种である挿入配列 IS1414 の内部にコードされているため、IS1414 の構造的特徴をもとに転移能の有無を検討した。

〔7〕*astA* 遺伝子保有株の進化系統解析と *astA* 遺伝子バリエーションの分布

計 744 株についてコア遺伝子を用いたゲノム系統解析を行った。進化系統解析は、各ゲノム配列を DFAST でアノテーションした後、Roary（アミノ酸配列相同性 80%以上）によりコア遺伝子の抽出、アライメントし、iqtree を用いて系統解析した。系統樹は iTOL (<https://itol.embl.de>) を用いて作成した。同定された *astA* 遺伝子バリエーションを系統樹上にマップし、系統と分布の関連を解析した。

〔8〕異なる系統に存在する同一 *astA* 遺伝子バリエーション周辺のゲノム構造比較

744 株のコア遺伝子ゲノム系統解析結果において、異なる系統に同一

バリエーションがあり、その局在がプラスミドであったものについて、プラスミド構造を比較し、同一プラスミドによる水平伝播の可能性を検証した。具体的には各株からバリエーションが局在するプラスミドの配列を抽出し、GenomeMatcher3.04 の CompareSequences 機能を用いて比較した。

〔9〕配列上完全な *astA* 遺伝子保有 395 株に共通する因子の同定

昨年度に同定した配列上完全な *astA* 遺伝子バリエーションを保有する 395 株について、CD-HIT を用いた CDS のクラスタリングを行い、各バリエーションにのみ共通な遺伝子の抽出を試みた。

〔10〕集団感染事例由来株に共通する *astA* 遺伝子バリエーションと病原関連遺伝子の同定

集団感染事例由来株について、*astA* 遺伝子バリエーションの共通性および共通の薬剤耐性遺伝子や病原関連遺伝子の同定を試みた。薬剤耐性遺伝子の同定には AMRFinderPlus を用いた。

〔11〕主要 *astA* 遺伝子バリエーションの機能解析のためのクローニング

昨年度同定した主要な *astA* 遺伝子バリエーションの機能を明らかにするため、T7 プロモーターで制御可能な発現ベクター pTEBA（BioDynamics Laboratory Inc.）を用い、N 末端に His x6 タグが付加されるようクローニングした。具体的には prototype, V6, V27 をそれぞれ *astA_P-V6-BamH_F* (5'-GGCCGGA [redacted] -3') /*astA_P-R* (5'-GGGGGAA [redacted])

██████████-3') [for prototype],
astA_P_V6-BamH_F/astA_v6-R (5'-
GGGGGAA ██████████
██████████
██████████-3') [for
V6], astA_P_V27-BamH_F (5'-
GGCCGGA ██████████
██████████
██████████-3') /astA_v27-R (5'-
GGGGGAA ██████████
██████████-3') [for V27]のプライ
マーペアを用いて KOD -Multi & Epi
(Toyobo) で PCR 増幅した。pTEBA ベ
クターおよび上記の PCR 産物を制限
酵素 EcoRI と BamHI で処理し、DNA
Ligation Kit Ver.2.1 (Takara)
でライゲーションした後、コンピテ
ントセル大腸菌 DH5 α へ形質転換し
た。得られた形質転換体について、ベ
クター挿入部位の配列確認を行った
後、各 *astA* 遺伝子バリエーションがク
ローニングされたベクターを QIAprep
Spin Miniprep Kit (Qiagen) を用
いて精製し、T7 RNA ポリメラーゼ遺
伝子を持つ発現用 E. coli Zip BL21
(DE3) (BioDynamics Laboratory
Inc.) へ再度形質転換して、目的タン
パクの発現および機能解析のための
形質転換体を作製した。

[12] 培養細胞への感染実験による
astA 遺伝子バリエーションの細胞毒性試
験

HeLa 細胞を MEM 培地、5% CO₂,
37°C 条件下で confluent まで培養し
た。項目 [3] で作成した形質転換体
と pETBA ベクターのみを入れた形質
転換体 (陰性コントロール) を LB 培
地で培養し、IPTG で蛋白質発現誘導
した後、その遠心上清 50 μ l を HeLa 細
胞へ添加して 24 時間反応させた。そ
の後、0.02% Trypsin-EDTA で細胞剥

離した後、PBS で洗浄、トリパンブ
ルー染色を行って血球計算盤により生
細胞数をカウントした。また、比較対
象として、LB 培地 50 μ l のみを HeLa
細胞へ添加し、上記と同様の処理を
行った。

[13] カイコへの感染実験による病
原性解析法の確立

カイコ (*Bombyx mori*) , F85 系統
を人工飼料である Silkmate PS5 (日
本農産工) を用い、25°C 条件下で 5
齢 2 日あるいは 3 日まで飼育した。
astA 遺伝子バリエーションの形質転換株
と大腸菌 K-12 非病原株 (陰性コント
ロール) について生理食塩水を用い
て 6×10^7 cells/50 μ l の菌液を作成し、
27G シリンジで 50 μ l ずつ体液内投与
し、24 時間後に生死を判定した。

[14] *aggR* 遺伝子保有 (typical) ある
いは非保有 (atypical) の腸管凝集性
大腸菌に特異的な病原関連遺伝子の
検索

以前の研究において MiSeq によるド
ラフトゲノム解析が完了している 31
株について、既知の EAEC 関連病原因
子について tblastx 検索を実施し、
EAEC に共通するあるいは保存性の高
い病原関連遺伝子群の同定を行った。

C. 研究結果

[1] 下痢症患者由来大腸菌株から
の *astA* 遺伝子保有株の同定

PCR による *astA* 遺伝子スクリー
ニングの結果、検証した 2,970 株のう
ち 194 株 (7.1%) において *astA* 遺伝
子の保有が確認された。

[2] RAPD 法を用いた株多様性の検
討

同一株の可能性が疑われる 47 組に
ついて検証した結果、5 組が同一パタ
ーンを示したこと。その結果をうけ、
それら 5 組からそれぞれ 1 株 (計 5

株)を以降の解析から除外した。

[3] multi-locus sequence analysis (MLSA)による進化系統解析

項目[1]、[2]で選定した189株および参照株として大腸菌 phylogroup の各代表株に関して、MLSA解析を実施した。その結果、*astA* 遺伝子保有株は大腸菌進化系統の中で幅広い系統に存在していることが明らかとなった。

[4] 進化系統の異なる鹿児島大保有 *astA* 遺伝子保有 31 株の完全長ゲノム配列解析

MiSeq と MinION の各リード配列をハイブリッドアセンブルした結果、18 株の完全長ゲノム配列を取得することが出来た。その他の株については、類似したファージなどの挿入があったためか、染色体を環状にすることが出来なかった。ゲノムサイズは約 4.72 -5.65 Mb (平均 5.12 Mb) であった。

[5] 公共データベース上に登録された *astA* 遺伝子保有大腸菌株の網羅的同定

2021 年 12 月現在、NCBI データベース上に登録されていたゲノム完全長配列が決定された大腸菌株 9,065 株のうち、既知の *astA* 遺伝子バリエーションもしくはそのホモログを保有する株が 713 株同定された。

[6] 抽出した *astA* 遺伝子保有株に関する *astA* 遺伝子バリエーションの詳細な解析

astA 遺伝子バリエーションは既知の 8 種類を含め、計 35 種類存在することが明らかとなった。

各バリエーションの遺伝子構造：V7, V15, V22, V33 は premature stop codon などにより不完全であると考えられたが、それ以外は配列上完全

な構造であった。また、5' 末端領域が完全に欠失している *astA* 遺伝子も見られた。

各バリエーションの保有株数：保有株数の多い主要なバリエーションは V22 (218 株)、prototype (145 株)、V6 (68 株)、V27 (46 株)、V12 (36 株)、V7 (12 株) であり、それ以外は 10 株未満であった。また、5' 末端領域が完全に欠失した *astA* 遺伝子は 349 株で検出された。

各バリエーションのゲノム局在：prototype は染色体 (76 株) およびプラスミド (76 株) のどちらにも多く局在していたが、それ以外の主要バリエーションも含めた他のバリエーションのほとんどが染色体かプラスミドのどちらかへの局在を示した。

株あたりの各バリエーションのコピー数：prototype 保有株では、複数コピー保有する株が 145 株中 41 株 (28%) 存在し、1 株で最高 11 コピー保有する株が見られたが、他のバリエーションでは、最高でも 2 コピー保有する株が 1 株あるいは 2 株存在するのみであった。

各バリエーションが存在する挿入配列 IS1414 の構造：prototype, V2, V7, V31, V32 の 5 種類のバリエーションをコードする IS1414 は intact な構造であった。それ以外の 30 種類は IS の転移酵素をコードする遺伝子が欠損しているため機能しない、あるいは IS の 5' 末端や 3' 末端が欠失していた。

[7] *astA* 遺伝子保有ドラフトゲノム解析株の進化系統解析

Roary による解析からコア遺伝子が 1,600 個同定され、アライメントの結果、informative SNP は 42,536 個同定された。その結果を基に作成した系統樹に *astA* 遺伝子バリエーション

の分布をマップした。その結果、バリエーションの多くは大腸菌の進化系統 (A, B1, B2, C, D, E) に偏りなく散在していることがわかった。また、5' 末端領域が完全に欠失している *astA* 遺伝子は進化系統 A と E に多くみられた。

[8] 異なる系統に存在する同一 *astA* 遺伝子バリエーション周辺のゲノム構造比較

異なる系統に同一の *astA* 遺伝子バリエーションが検出され、当該バリエーションがプラスミド上にコードされている場合、プラスミドを介した水平伝播が想定されるため、その可能性を確認する目的で該当株のプラスミド構造を比較した。一例として、バリエーション V24 は異なる系統に属する 7 株が保有し、全てプラスミド上にコードされていることが判明している。そのため、これら 7 株において *astA* 遺伝子をコードしているプラスミドの構造比較を行った。その結果、①のグループに属する 5 株のプラスミドは非常に類似性が高いことが判明したが、①②③のグループ間では部分的な類似性しか検出されなかった。

[9] 配列上完全な *astA* 遺伝子保有 395 株に共通する因子の同定

各バリエーションの共通因子の同定を進めたが、同一バリエーションが複数の大腸菌進化系統に分散して存在すること、また、各バリエーションの周辺構造にも共通性が見られなかったことから、共通因子を同定することは出来なかった。

[10] 集団感染事例由来株に共通する *astA* 遺伝子バリエーションおよび病原関連遺伝子の同定

07:H4 株ではプラスミド上に *astA* 遺伝子バリエーションが同定されたが、株によりタイプが異なっていた。

0166:H15 株では、染色体上に V31 を複数コピー保有するものが多かったが、プラスミド上のはタイプが異なり、プラスミド構造も異なるものであった。それ以外の血清型については、*astA* 遺伝子バリエーションの種類も多様であり、共通性はみられなかった。また、それらをコードするプラスミドの種類も異なっていた。また、耐性関連遺伝子については、全ての株ではなく、その局在も *astA* プラスミドとは異なるものの、 β -ラクタム系に対する耐性遺伝子の保有率が高かった。

[11] 主要 *astA* 遺伝子バリエーションの機能解析のためのクローニング

35 種類の *astA* 遺伝子バリエーションがコードするアミノ酸配列を比較した結果、prototype を含む 7 種類は同じ配列であったが、それ以外は配列多様性を認めた。このことから、集団感染事例由来株で保有頻度が高い、また、全株の中でも比較的保有頻度の高い prototype, V6, V27 に焦点を当て、その病原性を検討することとした。*astA* 遺伝子バリエーション由来蛋白質の精製・機能解析を行うため、N 末端に His x6 タグが付加されるように pETBA ベクターへのクローニングを行った。

[12] 培養細胞への感染実験による *astA* 遺伝子バリエーションの細胞毒性試験

MEM 培地に 50 μ l の LB 培地を添加したものを 100% として生存率を算定した結果、pETBA ベクター単体 (陰性コントロール) と *astA* 遺伝子バリエーションの形質転換体 (過剰発現株) はいずれも 80% 前後の生存率を示し、細胞毒性に有意差は見られなかった。

[13] カイコへの感染実験による病原性解析法の確立 (予備的な解析)

大腸菌 K-12 非病原株（陰性コントロール）と *astA* 遺伝子バリエーションの形質転換株（高発現株）はいずれも生存率が 100%であり、 6×10^7 個の菌数では *astA* 遺伝子バリエーションによる致死活性は見られなかった。

[14] *aggR* 遺伝子保有 (typical) あるいは非保有 (atypical) の腸管凝集性大腸菌に特異的な病原関連遺伝子の検索

EAEC の病原因子として知られている凝集接着関連プラスミド (pAA プラスミド) や線毛、各種毒素などについて、その保有状況を調べた結果、多くは線毛と毒素を少なくとも 1 つずつ保有していることが分かった。しかしながら、ドラフトゲノム配列情報しかないため、当該遺伝子の局在（例えば、同じプラスミド上に複数の病原因子が存在するなど）についての情報を得ることは出来なかった。また、線毛に関しては、既知のものとアミノ酸配列相同性が 50-70%程度の遺伝子が 3 種類同定された。

D. 考察

本研究では、*astA* 遺伝子保有株を中心にゲノム情報を基に各病原型に保存性の高い病原関連遺伝子を同定し、新規因子に関しては機能解析をおこない、検出指標に適した病原関連遺伝子を網羅的に抽出することで、遺伝子検出法を主とした病原性大腸菌の効果的検査法の開発を行うことを目的として研究を進めた。

申請者の研究グループがこれまでに当大学病院小児科および鹿児島県内の小児科から収集した下痢症患者由来大腸菌（2,970 株）および NCBI データベース上の大腸菌株ゲノム（9,065 株）における *astA* 遺伝子保有頻度の解析から、約 7.5% (907 株)

が当該遺伝子を保有していること、*astA* 遺伝子バリエーションが 35 種類存在することを明らかにした。また、計 744 株の *astA* 遺伝子保有大腸菌株に関して、35 種類の遺伝子バリエーションの詳細な解析を行った結果、①保有株数の多い主要なバリエーションは V22 (218 株)、prototype (145 株)、V6 (68 株)、V27 (46 株)、V12 (36 株)、V7 (12 株) であること、②バリエーション V7, V15, V22, V33 は欠損しており、不完全であると考えられること、③各バリエーションの局在は prototype を除き、プラスミドあるいは染色体のいずれかであること、④prototype を除いて、1 株あたりにマルチコピー存在するバリエーションはほとんどないこと、⑤5' 末端が完全に欠損している *astA* 遺伝子を保有する株を含めるとほとんどの大腸菌進化系統 (phylogroup A, B1, B2, C, D, E) に偏りなく散在していることがわかった。加えて、⑥株間のプラスミド比較から、同一バリエーションをコードしているプラスミド構造にも共通性が低いこと、⑦prototype, V2, V7, V31, V32 の 5 種類のバリエーションをコードする挿入配列 IS1414 は intact な構造であるがそれ以外は欠損しており、転移能を持たないと考えられることも明らかとなった。これらのことから、*astA* 遺伝子を保有する株を特異的に検出する疫学マーカーとなる遺伝子を同定するのは困難であること、また、単に全ての *astA* 遺伝子バリエーションを同定する現在用いられている PCR 等の検査法では、不完全なバリエーションも検出してしまうため、実際に病原性に寄与しているバリエーションのみを識別出来る検査法が必要であることが示唆された。また、臨床的・疫学的に重要なバリエーションとそうでな

いものを識別する必要性もあることが明らかとなった（今年度中に論文投稿予定）。

配列上完全な *astA* 遺伝子バリエントを保有する大腸菌株 395 株に限定して解析を進めたが、各 *astA* 遺伝子バリエントに共通する疫学マーカーとなる遺伝子の同定は困難であった。そのため、集団感染由来株にさらに特化して *astA* 遺伝子バリエントの共通性の有無や共通する薬剤耐性遺伝子・病原関連遺伝子の検索も実施したところ、集団感染由来株が共通して保有する *astA* 遺伝子バリエントの同定することは出来なかったが、薬剤耐性遺伝子に関しては、 β -ラクタム系に対する耐性遺伝子の保有頻度が高いことが明らかとなった。

コピー数の多い臨床的に重要と考えられるバリエントについての病原性に関する解析では、高発現株の培養上清を用いた細胞毒性試験ならびにカイコを用いた感染実験のいずれにおいても、有意な結果は得られなかった。しかしながら、*astA* 遺伝子は挿入配列である IS1414 の transposase (TPase) 遺伝子の内部にコードされており、IS1414 が転移する際に TPase の発現と連動して発現する可能性もあること、また、ゲノム上の他の因子と協調的に働く可能性も否定できないことから、異なる研究アプローチを検討する必要があると考えられた。

E. 結論

本研究により、*astA* 遺伝子の多様性と大腸菌進化系統における分布など、これまで機能を含め不明な点が多かった *astA* 遺伝子の特性を知ることが出来た。しかしながら、機能解析

では *astA* 遺伝子にコードされる EAST1 の病原性について、少なくとも単独で機能するという知見を得ることは出来なかった。*astA* 遺伝子が IS1414 の転移と連動して発現する可能性も考えられることから、今後は IS1414 を含めた領域をクローニングし、転移条件やそのメカニズム挙動と併せて病原性を評価するとともに、*astA* 遺伝子がゲノム上の他の因子と協調的に働く可能性についても検討し、同定された場合には新たに疫学マーカーとして追加した検出系を構築する必要がある。他の病原型も含め、多様性解析以降の病原性に関するデータをまとめて学会発表を行うとともに、国際科学雑誌での論文文化を進めていく。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

（誌上発表）

Ooka T#, Lee K#, Gotoh Y, Arai S, Hara-Kudo Y, Hayashi T, Iyoda S, and Nishi J. Prevalence and characterization of the *astA* gene variants in *Escherichia coli* lineage. (投稿予定)

（学会等発表）

大岡唯祐、後藤恭宏、林哲也、西順一郎．大腸菌における *astA* 遺伝子バリエントの同定およびその分布．第 96 回日本細菌学会総会．令和 5 年 3 月 17 日．兵庫

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし