

# 30T-pm05

*Serratia marcescens* の未解析 RND 型多剤排出ポンプの遺伝子クローニングおよび解析

○鳥羽 晋輔<sup>1</sup>, 港 雄介<sup>1</sup>, 小川 和加野<sup>1</sup>, 黒田 照夫<sup>2</sup>, 土屋 友房<sup>1</sup> (<sup>1</sup>岡山大学, <sup>2</sup>岡山大学)

【目的】*Serratia marcescens* は院内感染原因菌の一つである。この菌は多くの抗菌薬に対して自然耐性及び獲得耐性を示す。このような多剤耐性に最も深く関与しているのが多剤排出ポンプである。特に RND 型多剤排出ポンプは、緑膿菌などの多剤耐性に大きく関与し、また病原性にも関与することが報告されている。私達は *S. marcescens* の多剤排出ポンプの内、RND 型多剤排出ポンプの解析を進めた。Web 上で公開されているデータベースを用いて解析したところ、*S. marcescens* の染色体 DNA 上には推定 RND 型多剤排出ポンプ遺伝子が 8 個存在することが分かった。現在までにこのうちの 3 個(*sdeXY*, *sdeAB*, *sdeCDE*)が解析され報告されている。私達は、未解析の 5 個の遺伝子のクローニングと解析を試みた。【方法】PCR 法により、*S. marcescens* Db10 株の染色体 DNA 上に存在する推定 RND 型多剤排出ポンプ遺伝子のクローニングを行った。宿主として抗菌薬高感受性大腸菌 KAM32 株を用いた。クローニングしたものについて各種抗菌薬の MIC(最小生育阻止濃度)と ethidium 及び rhodamine 6G の排出活性を調べた。【結果・考察】クローニングした 5 個の遺伝子をそれぞれ *sdeHI* (SMA1059-1060), *sdeMN* (SMA1255-1254), *sdeVW* (SMA1698-1699), *sdeOPQ* (SMA1743-1741), *sdeF* (SMA2891)と名付けた。*sdeMN* を大腸菌 KAM32 に導入したところ各種抗菌薬の MIC が上昇した。*sdeHI* を導入したところ triclosan, benzalkonium chloride の MIC が上昇したことから、臨床現場で問題となる消毒薬耐性への *SdeHI* の関与が示唆された。なお、*sdeHI* あるいは *sdeMN* を導入した大腸菌 KAM32 株では、それぞれ、コントロールより強い ethidium 排出活性、rhodamine 6G 排出活性が観察された。すなわち *SdeHI*, *SdeMN* はエネルギー依存的な多剤排出ポンプであることが確認された。