

【目的】鉄（イオン）は細菌の生命維持に必須の元素であるが、自然環境中や宿主内には細菌が自由に利用できる遊離鉄はほとんどない。そのため細菌はこのような鉄制限状態を打破するためにシデロフォア（三価鉄輸送キレーター）を介する鉄獲得系を獲得した。本邦における主要な食中毒原因菌である腸炎ビブリオは、鉄制限ストレスに応答してシデロフォアである vibrioferrin (VF) を産生、分泌し、宿主内の鉄結合蛋白質などから三価鉄を奪取することができる。本研究では腸炎ビブリオにおける VF を介する鉄獲得系の全容を分子遺伝学的に解析した。

【方法】FURTA 法により得た鉄制御遺伝子断片からプローブを作製し、周辺領域を gene walking により単離した。挿入変異株は suicide vector pKTN701 を用いて構築した。また、遺伝子欠失株は suicide vector pXAC623 を用いて構築した。増殖試験は 3%食塩含有の LB 培地を用い、EDDA（終濃度 22.5  $\mu\text{M}$ ）の添加により鉄制限として行った。転写解析はプライマー伸長法及び RT-PCR 法により行った。VF の産生能は CAS プレート及び HPLC を用いて解析した。【結果と考察】1) FURTA 法及び gene walking により VF の生合成と分泌に関わる *pvsABCDE* 遺伝子群、及び ferri-VF の取り込みに関わる *pvuABCDE* 遺伝子群を同定した。2) これら二つの遺伝子群の機能は挿入変異株を用いた表現型解析により明らかにした。3) これら二つの遺伝子群は各々鉄制御されていることを転写解析により明らかにした。4) *pvsC* 遺伝子は 12 回膜貫通型プロトン依存性排出ポンプと相同性を示した。HPLC で培地中の VF 量を測定したところ、*pvsC* 遺伝子欠失株ではその親株と比較して顕著に減少していた。現在、VF の生合成経路を解明すべく、PvsABDE 蛋白質の精製及び酵素学的検討を試みている。