

26PA-pm094

Aeromonas hydrophila におけるシデロフォア、アモナバクチン排出機構

○舟橋 達也¹, 井戸 友梨¹, 田邊 知孝¹, 山本 重雄¹ (¹松山大薬)

【目的】 *Aeromonas hydrophila* は通性嫌気性のグラム陰性桿菌で、下痢や創傷感染を引き起こすことが知られている。鉄（イオン）は細菌の生存、増殖に必須の元素であるが、自然環境や宿主内で細菌が容易に利用可能な遊離鉄濃度は極めて低いレベルに保持されている。このような鉄欠乏ストレスに応答して細菌は siderophore（三価鉄輸送キレート分子）を産生し、宿主内の鉄結合性タンパク質などから効率的に鉄を獲得することができる。本菌は鉄欠乏に応答して siderophore として amonabactin を産生する。本研究では amonabactin 排出に関与する遺伝子を同定し、解析を行った。

【方法】 1) *A. hydrophila* ATCC7966 株の全ゲノム配列を検索し、amonabactin 排出に関与していると推測された遺伝子の欠失株を作成した。各遺伝子欠失株は *sacB* を含む pXAC623 を用いた 2 回交差の相同性組換えにより作製した。2) amonabactin の産生は CAS (chrome azuroil S) agar plate assay により行った。3) 増殖試験は LB 培地を用いた。鉄制限条件ではピピリジルを添加して培養した。4) 鉄豊富および鉄欠乏条件下で培養した菌体から RNA 抽出を行い、RT-PCR により amonabactin 排出に関与する遺伝子の転写レベルを調べた。

【結果及び考察】 CAS agar plate assay では野生株である ATCC7966 が siderophore 産生を示す明瞭な halo を形成したのに対し、外膜タンパク質 *tolC* 欠失株では halo の形成は認められなかった。同様の結果は、RND 型の薬剤排出ポンプである *acrAD* 欠失株でも得られた。また、増殖試験の結果から鉄制限条件における増殖の抑制が認められた。RT-PCR 解析により *acrAD* は転写レベルで Fur を介した鉄制御を受けることが示唆された。