

410 アミノ配糖体抗生物質生産菌の耐性機構

(微化研) O堀田国元, 山本博一, 岡見吉郎

1. 目的 我々は Istamycin や Kanamycin などのアミノ配糖体抗生物質生産菌の自己および類縁抗生物質に対する耐性機構を *in vitro* polyPhe 合成系を用いてリボゾームレベルで解析した結果、耐性機構は大別してリボゾームによるものと不活化酵素によるものとに別れた。¹⁾ 今回は、Neomycin 系抗生物質生産菌、Nebramycin 生産菌および抗生物質非生産であるが Istamycin 生産菌と同じ耐性パターンを示す放線菌について耐性機構を検討した。

2. 方法 *Streptomyces* sp. SS-1365 (Ribostamycin 生産), SS-1914 (paromomycin 生産), SS-1808 および *S. tenebrarius* ISP5477 (Nebramycin 生産) を用いた。抗生物質耐性は、10種のアミノ配糖体 - Kanamycin (KM), Gentamicin (GM), Ribostamycin (RM), Butirosin (BT), Neomycin B (NM), Paromomycin (PR), Lividomycin (LV), Neamine (NE), Istamycin (IM), Streptomycin (SM) - を 50 μ g/ml の濃度で加えた Salt-Starch (ISP No. 4, Difco) 寒天平板に各菌株懸濁液をスポットし、27°C, 4日間培養して判定した。*In vitro* polyPhe 合成は、各菌株をアルミナ破砕し、150,000 $\times$ g で遠心して得た S150 画分とリボゾームおよびそれらと *S. griseus* ISP5236 (Streptomycin を除くアミノ配糖体に感受性) から同様に調製した S150 とリボゾームとも組合わせて行った。アミノ配糖体不活化酵素は、S150 に ATP あるいはアセチル CoA を加える条件で測定した。

3. 結果 試験した10種の抗生物質に対して *Streptomyces* sp. SS-1365 は4剤 (RM, PR, NM, NE), SS-1914 は3剤 (PR, RM, NE), SS-1808 は5剤 (KM, RM, BT, NE, IM), *S. tenebrarius* ISP5477 は10剤の耐性を示した (*in vivo* 耐性)。

SS-1365 株の S150 とリボゾームを用いる polyPhe 合成は、*in vivo* で耐性を示した4剤 (100 μ g/ml) によって阻害されなかった。*S. griseus* の S150 やリボゾームとの交換実験では SS-1365 の S150 を含む系のみが4剤に耐性を示したが、SS-1365 のリボゾームは感受性であった。

SS-1914 株では、S150 に問題があって活性な polyPhe 合成系を確立できなかったが、*S. griseus* の S150 と SS-1365 のリボゾームとの組合わせて十分な polyPhe 合成活性が得られ、解析の結果 PR, RM, NE (*in vivo* で耐性) に対してもリボゾームは感受性であった。従って、すでに報告した NM 生産菌と併せて、NM 系生産菌の耐性は S150 画分 (不活化酵素) に起因すると考えられる。SS-1808 株も S150 に問題があったが、リボゾームは *S. griseus* の S150 との組合わせによる解析で、*in vivo* で耐性であった5剤に耐性を示し、従ってこの菌株の耐性の主因は、IM 生産菌と同様にリボゾームと推定された。*S. tenebrarius* ISP5477 では polyPhe 合成が10剤すべてに耐性で、そのリボゾームは KM, GM, RM, BT, NE, IM に対し耐性を示し、かつ S150 画分には RM, PR, LV, NE などをアセチル化する酵素および SM をリン酸化する酵素の活性が認められた。従ってこの菌の多剤耐性は、リボゾームおよび不活化酵素の双方の要因が重なったことによると結論できる。