P-001

Study on induction of drug resistant bacteria by mutagen

Emiko Miyahara[1], Shota Takumi[2], Hiroaki Miyanohara[3], Jyunichiro Nishi[4], Kiyotaka Yoshiie[5], Hiroshi Oda[5], Masaharu Komatsu[6], Kohji Aoyama[1], Masahisa Horiuchi[1], Minoru Takeuchi[7], Toru Takeuchi[1]
[1]Department of Environmental Medicine; [3]Clinical Laboratory; [4]Pediatrics; [5]Microbiology and Infection Control, Graduate School of Medical and Dental Sciences; [6]Department of Science of Fisheries, Kagoshima University; [2]Department of Environmental and Symbiotic Sciences, Prefectural University of Kumamoto; [7]Department of Biotechnology, Kyoto Sangyo University

The emergence of drug resistant bacteria is an important medical and social problem. Drug resistant bacteria often have mutations in the target molecules of the drug. There is a large number of mutagens in the environment and they may become a cause of mutation in bacteria DNA. We have exposed *Pseudomonas aeruginosa* to environmental mutagens, anticancer drug, and mutagens in cigarette smoke or exhaust gas. Some of them increased the frequency of rifampicin (Rif) or ciplofloxacin (CPFX) resistant *P. aeruginosa*. We have found mutations in *rpoB* or *gyrA*, targets molecules of Rif or CPFX, respectively. Those mutations are the same as those found in naturally emerging Rif or CPFX resistant bacteria. The findings indicate that environmental mutagens as well as anticancer drug induce drug resistant bacteria in concern.

Acknowledgement: Makiko Nishie, Fumio Kishi (Molecular Genetics, Kawasaki Medical School).

変異原物質による薬剤耐性菌の誘発に関する研究

宮原恵弥子[1]、内匠正太[2]、宮之原弘晃[3]、西順一郎[4]、吉家清貴[5]、小田 紘[5]、小松正治[6]、青山公治[1]、堀内正久[1]、竹内 実[7]、竹内 亨[1]
[1]鹿児島大学医歯学総合研究科・環境医学、[3]医学部歯学部付属病院・臨床技術部、[4]小児発達機能病態学、[5]感染症制御学、[6]水産学部、[2]熊本県立大学環境共生学部、[7]京都産業大学工学部生物工学科

薬剤耐性菌の発生は社会的・臨床的に重大な問題である。細菌が薬剤耐性を獲得する機構の一つに薬剤標的分子の変異があり環境中にはこれを引き起こす要因が多々存在する。当研究では、環境変異原が臨床的に問題となる薬剤耐性菌を発生させるか、どのような機構でこれを発生させるかを検討した。緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa* を抗がん剤、タバコ煙及び排ガス中の化学物質などの環境変異原物質に暴露し、薬剤耐性緑膿菌が発生するか否かを検討した。その結果いくつかの変異原物質が緑膿菌に、抗菌剤である Rifampicin(Rif)または Ciprofloxacin(CPFX)耐性を獲得させること、さらには Rif または CPFX の標的遺伝子 *rpoB* あるいは *gyrA* に変異を誘発することを見出した。これらの変異は自然発生した Rif あるいは CPFX 耐性菌と同様の変異であり、環境中の変異原が薬剤耐性菌を誘発することを示唆する。また薬剤耐性であるが標的遺伝子に変異を確認できない株も存在した。これらについては標的遺伝子の塩基配列解析の範囲を変えた解析と標的遺伝子の変異によらない耐性獲得機構例えば薬物輸送タンパク質の変異やプロモータ領域の変異による発現変動についての解析の必要がある。
研究協力者：西江真希子、岸文雄（川崎医大分子生物 2）

P-002

Adsorbing part of lactic acid bacteria against heterocyclic amines.

Takashi Hatakeyama, Naoto Tanaka, Eiichi Sato, Tai Uchimura, Sanae Okada
Tokyo University of Agriculture

We are exposed to many kinds of mutagens in daily life. Therefore, we constantly have the risk of mutation. Now, antimutagenesis is important. Lactic acid bacteria [LAB] have been reported as one of the antimutagens. It is considered that the cell of LAB adsorb mutagens, and inhibit insorption of mutagens in body. Although their reports have been done in phenomena, details of the adsorption including adsorbing part are remained unclear. For resolution of LAB' antimutagenesis, we have studied many researches at the view of adsorbing.

In this study, we prepared four fractions [cell extract, crude cell wall, cell wall, peptidoglycan] from five LAB species, and examined adsorbing part of four heterocyclic amines by HPLC. As the results, cell wall fraction or peptidoglycan fraction was high activity against four heterocyclic amines. And these results were common in most species. Moreover, we tested the adsorbing activity of the peptidoglycan fraction treated with lysozyme against Trp-P-1, then, the adsorbing activity against Trp-P-1 was lost. Thus it is certainly indicated that peptidoglycan is the adsorbing part against Trp-P-1.

乳酸菌の変異原物質吸着部位に関する研究

畠山誉史、田中尚人、佐藤英一、内村 泰、岡田早苗
東京農業大学

我々の身の回りには多くの変異原物質が存在し、常に遺伝子変異の危険性に曝されているため、現在抗変異原性の重要性が着目されている。その一つに乳酸菌が挙げられ、吸着による変異原吸収抑制を主とした様々な抗変異原性の研究がこれまでに行われてきた。しかし、現象面ではいくつかの報告例はあるものの、吸着部位を始めとする詳細はいまだ不明なことが多い。よって当研究室では乳酸菌の抗変異原性を明らかにすべく、吸着の面から様々な研究を行ってきた。

今回の報告では、乳酸菌の菌体構成成分に着目し吸着部位を検証した。供試菌株五種の菌体構成成分(菌体内容物画分、粗細胞壁画分、細胞壁画分、ペプチドグリカン画分)と四つのヘテロサイクリックアミンを用いて HPLC によって吸着活性を調べた。Trp-P-1 ではペプチドグリカン画分が最も吸着活性が高く、ほかの変異原物質では細胞壁画分に吸着活性が高い結果が多く得られた。この傾向は多くの供試菌株で共通していた。さらに、ペプチドグリカン画分をリゾチーム（ペプチドグリカン分解酵素）で処理し、その吸着活性を調べたところ消失したことから、Trp-P-1 の吸着部位はペプチドグリカンであることが確定的になった。

NII-Electronic Library Service