

魚類および環境水由来細菌におけるテトラサイクリン耐性遺伝子 *tet(M)*とTn916系の分布

きむ そくりよる のなかり さ すずき さとる
○金 錫烈・野中里佐・鈴木 聡
愛媛大 CMES

【目的】オキシテトラサイクリン(OTC)に対する細菌の耐性機構はこれまで大きく二つが知られている。一つはOTCを Mg^{2+} との複合体として菌体外へ排出する機構, もう一つはOTCがリボソームへ結合することをリボソーム保護タンパク質(Ribosomal Protection Protein; Tet(B)P, Tet(M), Tet(O), Tet(Q), Tet(S), Tet(T), Tet(W)およびOtr(A))でrescueする機構である。後者の中で*tet(M)*はこれまでに臨床・畜産・地下水などに由来する菌から知られているが, 海洋細菌での報告はグラム陽性菌からの一例のみである。本研究では, OTC耐性遺伝子の環境中動態と進化を明らかにする研究の一環として, 魚類及び海洋細菌におけるOTC耐性遺伝子, とくにトランスポゾンTn916系に含まれている*tet(M)*の分布の検討を行った。

【方法】*tet(M)*はこれまでに24属50種以上の菌からトランスポゾンTn916系によって伝播されるものが特定されている。そこで*tet(M)*を増幅するプライマー(*tet(M)*-1; 5'-GTAAATAGTGTCTTGGAG-3' および *tet(M)*-2; 5'-CTAAGATATGGCTCTAACAA-3')とトランスポゾンTn916系のIntegraseを増幅するプライマー(*Int1*; 5'-TGACACTCTGCCA GCTTTAC-3' および *Int2*; 5'-CCATAGGAAGTTGACGTTTCG-3')を用いて, OTC耐性菌から*tet(M)*とトランスポゾン遺伝子を検出した。さらに増幅された*tet(M)*遺伝子を用いて, この遺伝子がクロモソームとプラスミドどちらにコードされているのかをみるためSouthern hybridizationを行った。対象菌は健康な養殖ブリの腸内(55株)および海水から分離した菌(31株), ならびに感染症ブリの各種臓器から分離した病原菌33株である。

【結果と考察】*tet(M)*とInt-TnのPCRの結果, 健康ブリ腸内由来OTC耐性菌55株のうちでは*Vibrio/Aeromonas*グループ菌で30株中12株, およびグラム陽性菌3株中3株に*tet(M)*遺伝子が検出され, それらのうち*Vibrio/Aeromonas*グループ菌の12株中10株, およびグラム陽性菌の3株中2株にInt-Tn遺伝子が検出された。海水由来菌では, *Vibrio/Aeromonas*グループ菌で31株中3株が*tet(M)*陽性であり, それらのうち3株中2株がInt-Tn陽性であった。Southern hybridizationの結果*tet(M)*遺伝子はすべて耐性菌のクロモソームとhybridした。このことは*tet(M)*遺伝子は耐性菌のクロモソーム上に存在しており, 魚の腸内と海水の異なる菌種間でトランスポゾンによって水平伝播していることが考えられる。魚病菌では由来魚種にかかわらず*Vibrio* sp., *Lactococcus garvieae* および*Photobacterium damsela* sbsp. *piscicida*で*tet(M)*遺伝子が検出された。今回*tet(M)*が魚類腸内菌, 魚病菌及び海水菌から検出されたのは初めてであり, この遺伝子が海洋環境に広く分布していることが明らかになり, トランスポゾンによって細菌間を水平伝播していることが示唆された。

金 錫烈 seokryel@agr.ehime-u.ac.jp