

肉牛糞便から分離した薬剤耐性大腸菌の遺伝学的解析

多剤耐性大腸菌におけるゲンタマイシン耐性遺伝子 *aac(3)-VIa* について

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 応用菌学 中野 源紀

1. はじめに

抗生物質は肉牛の生育や病気の治療に必要な酪農資材である。先行研究では、日本各地の牧場の肉牛糞便から分離した 3,147 株の *Escherichia coli* のうち 44.4%の株が耐性菌であり、7.6%の株がゲンタマイシン (GM) に耐性を示した。本研究では検出例が極めて少ない GM 耐性遺伝子 *aac(3)-VIa* の存在に着目し、その周辺配列を調べて遺伝子伝播の特徴を解析した。

2. 方法

E. coli GM 耐株の 239 株を用いた。アルカリ抽出法とパルスフィールドゲル電気泳動によって染色体とプラスミドを分離し、サザンブロットにより *aac(3)-VIa* の位置を調べた。インバース PCR により *aac(3)-VIa* 周辺配列を増幅させ配列を調べた。

3. 結果と考察

GM 耐性株 239 株の内訳は、日本各地の 10ヶ所の牧場から分離された 147 株が GM 耐性遺伝子 *aacC2*、北海道の KT 牧場から分離された 60 株が GM 耐性遺伝子 *aadB* を保有しており、いずれもプラスミド上に存在していた。*aac(3)-VIa* は中部地方の GC 牧場から分離された 11 剤耐性菌 8 株の染色体上からのみ検出され、染色体上からの検出は本研究が初めてである。*aac(3)-VIa* はアミノグリコシドアダニルトランスフェラーゼ遺伝子 *aadA1* やヒートショックプロテイン遺伝子の *groS* および *groEL* と共にカセットを形成しており、それらの上流にはインテグラーゼ遺伝子 *int11* が存在していた。

GenBank の配列データと比較したところ、本研究の配列と共通した配列 (4368 bp) が登録されていた。配列データではカセットを囲うように *tnpA*, *tnpR* および *tnpM* といったトランスポゼース遺伝子, *insE* や *insF* といった挿入因子が存在した例もあり、*aac(3)-VIa* はインテグロンの働きでいくつかの遺伝子と共にカセットを形成して細菌間を移動しており、トランスポゾンなどの転移因子の働きで染色体に組み込まれたと考えられる。

4. まとめ

本研究により *aac(3)-VIa* がトランスポゾンによって染色体上に組み込まれた *E. coli* が同一の牧場内でクローンを拡散していると考えられたが、GC 牧場の中でも 11 剤耐性菌 8 株という限られた株しか *aac(3)-VIa* を保有していなかった。