

第 378 回雑誌会

(August. 3, 2022)

(1) Phage-mediated Shiga toxin (Stx) horizontal gene transfer and expression in non-Shiga toxigenic *Enterobacter* and *Escherichia coli* strains

Khalil, R., Skinner C., Patfield S. and He X.

Pathogens and Disease, **74**, 2429–2435, 2016.

Reviewed by H. Xie

志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) は、溶血性尿毒症症候群などのヒト疾患を引き起こす食品由来の主要な病原体である。STEC 株の毒性および重症化する能力は、志賀毒素転換ファージ (Stx ファージ) がコードする Stx 遺伝子の活性に関連している。近年、臨床的に重症化しやすい Stx2 ファージが Stx1 ファージよりも多く研究されている。そこで本研究では、大腸菌 O157:H7 株 RM8530 および M12X01451 株の Stx1a と Stx1e の転換ファージが、それぞれ複数の *Escherichia coli* および *Enterobacter cloacae* に感染する能力を検討した。形質導入実験のドナー株として、Stx1e 陽性の *Ent. cloacae* M12X01451 株と Stx1a 陽性の *E. coli* O157:H7 RM8530 株を使用した。レシピエントとして Stx 陰性の *Ent. cloacae* (ATCC 13047), *E. coli* (ATCC 25922), *E. coli* K12 (ATCC 29425), *E. coli* DH5 α , *E. coli* 465-97 を使用した。まず、精製高力価のドナー菌を作り、LB 培地上に置いて一晩培養し、ファージのプラーク数を数えた (PFU/mL⁻¹)。その後、スポット試験法を用いてレシピエント株への Stx1e と Stx1a の感染範囲を確認し、光学密度 (OD) 法により感染有無を検査した。形質導入実験については、100 μ L の CaCl₂ と 500 μ L のドナー株を含む 3mL の LB ブロスに 100 μ L レシピエント株を添加し、37°Cで一晩培養した。混合液は遠心分離で回収し、沈殿物を 3 mL の LB ブロスに懸濁し、0.1%滅菌 PW で 10 倍に連続希釈して LB 培地に広げ、37°Cで一晩培養した。単独のコロニーを単離し、PCR によって Stx1e と Stx1a 遺伝子を確認した。また、形質導入実験後の感染菌の安定性を判断するため、コロニーを LB 培地で継代し、T0, T10, T20 後に回収した感染菌について PCR 解析と酵素結合免疫吸着測定 (ELISA) を行った。実験に使用・回収したすべての株は、DNA シーケンスによって解析した。

レシピエント株は、2 つのドナー株に対する感受性が大きく異なり、Stx1e と混合したレシピエント株は Stx1a と混合したレシピエント株よりも感受性が低いことがわかった。Stx1e および Stx1a に最も感受性が高かった宿主は *Ent. cloacae* 13047 と *E. coli* 465-97 であった。Stx1e 遺伝子は形質導入した大部分の継代細菌で安定的に維持されたことが PCR によって確認されたが、*E. coli* DH5 α では T20 後に欠落した。Stx1a と混合し形質導入したコロニーでは、PCR で Stx1a 陽性であることが確認されていたにもかかわらず、DNA シーケンスでは Stx1a が検出されなかった。この結果から、Stx の保有株間で水平伝播が起こる可能性が高く、病原体に変化する可能性がある。