

有機鉄化合物の食中毒菌 *Campylobacter jejuni* 毒素活性に及ぼす影響

鈴木 聡・堀 越 有 希・川 口 真理子・高 間 浩 蔵・鈴 木 鐵 也
(北海道大学・水産学部・水産食品学科*)

Effect of Organic Iron Compound on Toxin Activity of *Campylobacter jejuni*

Satoru SUZUKI, Yuki HORIKOSHI, Mariko KAWAGUCHI, Kozo TAKAMA and Tetsuya SUZUKI
Department of Food Science and Technology, Faculty of Fisheries, Hokkaido University

Enterotoxin production of *Campylobacter jejuni* was surveyed when the bacterial cells were exposed to iron compounds. When the cells were treated with 10 μ M of hemin, the highest activity of the toxin was observed in supernatant fraction but not in cell-fraction. This suggests that hemin might have positive regulation ability in the toxin production of *C. jejuni*.

緑膿菌¹⁾大腸菌²⁾ジフテリア菌³⁾などの毒素タンパク質の発現調節には、転写レベルで2価の鉄が関与していることが知られている。本研究では、*Campylobacter jejuni* における毒素発現機構を明らかにするために、まず、本菌のエンテロトキシン産生に及ぼす鉄化合物の影響を検討した。

実 験 方 法

1) 菌株と培養

秋田県衛生研究所より分与を受けた臨床分離株 AK11 を用いた。スキロー寒天平板培地で培養した菌を実験に供した。

2) 鉄化合物による菌体の処理

カザミノ酸・イーストエキス液体培地に菌をけんだくし、各種鉄化合物を最終濃度で10 μ M となるように添加した。37°C 15分間保温のち、10,000×g, 30分間遠心分離し、上清と菌体画分を得た。上清はさらに0.2 μ m のフィルターを通し除菌した。菌体はポリミキシン処理を行い⁴⁾、放出されたタンパク質を菌体画分とした。

*所在地：函館市港町3-1-1(〒041)

3) エンテロトキシン活性の測定

一次抗体として抗コレラ抗体を用いた酵素標識免疫測定法 (ELISA) によった⁴⁾。

4) ウェスタンブロット及び免疫染色

2) で得られた上清及び菌体画分を SDS 存在下 10% ポリアクリルアミド電気泳動 (PAGE) に付し、タンパク質をウェスタンブロット法でニトロセルロース膜に移した。エンテロトキシンの主要サブユニット (68KDa) の検出には当教室で調製したウサギ抗エンテロトキシン IgG を一次抗体として用いた。

結果と考察

各鉄化合物で菌体処理 (37°C 15 分間) を行った時の上清及び菌体画分に検出されるエンテロトキシン活性を Fig. 1 に示す。ヘミン処理群で上清に明らかに高いエンテロトキシン活性が検出された。この時の各群での菌体画分ではどの群でも有為の差は認められなかった。また、68KDa のエンテロトキシンサブユニットは、やはり同様にヘミン処理群の上清画分にもっとも多く、ついで FeCl₃ と FeSO₄ 群であった。コントロールの上清画分と菌体画分全群では 68KDa サブユニットの増加は認められなかった (Fig. 2)。

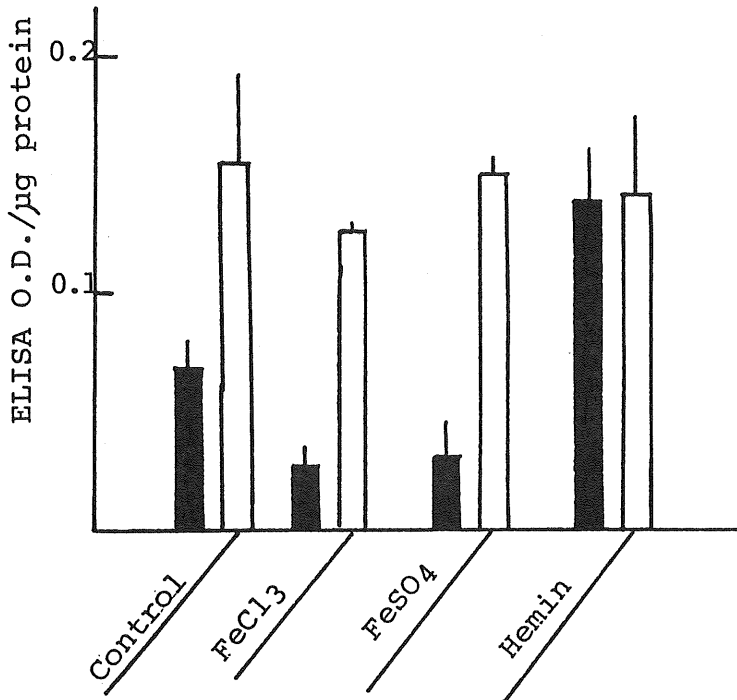


Fig. 1. Effect of iron compounds on enterotoxin production of *C. jejuni*. Open bars show extracellular enterotoxin and closed bars show those of cell-fraction. Vertical bar shows standard deviation of 3 to 6 experiments.

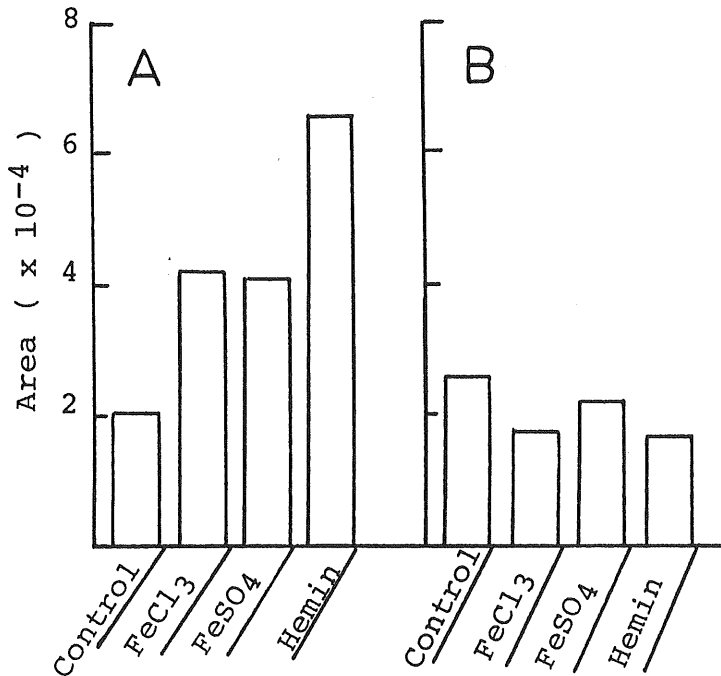


Fig. 2. Effect of iron compounds on extracellular (A) and cell-fraction (B) enterotoxin subunit (68 KDa) of *C. jejuni*. Detection of the subunit was performed with immunostain of Western-blotted nitrocellulose filter. Area of the stained bands was quantitated by scanning densitometry of the nitrocellulose filter.

本研究では、短時間のヘミンによる菌体処理で菌体外に高いエンテロトキシン活性が検出されたが、このメカニズムについてはまだ明らかでない。緑膿菌¹⁾や大腸菌²⁾の毒素タンパク質の発現には転写レベルで2価鉄が関与していることが知られているが、カンピロバクターについては現在検討中である。今回、カンピロバクターで観察された結果、すなわち、有機鉄であるヘミンによって毒素が増加する現象は、これまで知られているもの¹⁻³⁾とは大きく異なるので、毒素発現調節の新しいメカニズムがあるのかも知れない。

文 献

1. LORY, S. (1986) J. Bacteriol. 168 : 1451
2. CALDERWOOD, S. B. and J. J. MEKALANOS (1987) J. Bacteriol. 169 : 4759
3. FOUREL, G., A. PHALIPON and M. KACZOREK (1989) Infect. Immun. 57 : 3221
4. DAIKOKU, T., M. KAWAGUCHI, K. TAKAMA and S. SUZUKI (1990) Infect. Immun. 58 : 2414