

(¹ 九大院生資環, ² 九大院農院)

○川畑諄¹, 益田時光², 本城賢一², 宮本敬久²

【目的】バテリオファージは細菌に感染し溶菌作用を示すウイルスの総称で、宿主特異性が高く、多剤耐性菌に対しても効果を示すことから、新たな食中毒細菌制御法として注目されている。バクテリオシンは細菌が産生し、主に類縁菌種に対して狭い抗菌スペクトルをもつ抗菌ペプチドである。その中でも特殊なグループであるリーダーレスバクテリオシン(LLB)は、構造中にリーダー配列を有しておらず、転写翻訳後、菌体内で直ちに活性型となるという特徴を持っている。本実験では、バクテリオファージとLLBを組み合わせることによる抗菌力の向上と、それに伴うファージの耐性化抑制に加え、グラム陽性、陰性にかかわらず、様々な食中毒細菌をターゲットとすることができる、LLB 産生ファージの構築を目的とした。

【方法】大腸菌を宿主とする既知の溶菌ファージである T7 ファージと、すでに構造や抗菌スペクトルが解明されている LLB である、lacticinQ (lnqQ)を用いて実験を行なった。リアルタイム qPCR 法によるファージの定量法を確立した後、相同組換えにより *lnqQ* 遺伝子をファージ DNA に組み込んだ。その後、獲得したファージ群の中から *lnqQ*-T7 ファージを単離するため、プラークアッセイを行なった後、PCR 反応に供した。

【結果】T7 ファージを段階希釈し、リアルタイム qPCR 法に供したところ、 1.0×10^6 PFU/mL から 1.0×10^{10} PFU/mL の範囲でファージの定量が可能であることが示された。また、*lnqQ* 遺伝子をクローニングしたプラスミドベクターを形質転換した大腸菌 DH5 α に、T7 ファージを感染させ、37°C、overnight 培養することで相同組換えを起こさせ、その菌液の上清をリアルタイム qPCR に供した。その結果、相同組換え処理を 1 回行った後の溶液(HR1)において、T7 ファージ : *lnqQ*-T7 ファージ $\approx 9000 : 1$ の割合で相同組換えファージの獲得が確認できた。

さらに、現在は、相同組換え後のファージ溶液をプラークアッセイに供することで *lnqQ*-T7 ファージの単離を試みている。