

ヒスチジン脱炭酸酵素 (HDC) を産生する細菌 *Morganella morganii* の HDC 遺伝子解析における食中毒分離株と標準株との比較

蔡 国喜、田栗 利紹、吉川 亮、本多 隆

Molecular cloning of Histidine decarboxylase from *Morganella morganii*

Guoxi CAI, Toshitsugu TAGURI, Akira YOSHIKAWA, Takashi HONDA

Key words: Histamine (Scombroid) fish poisoning, Histidine decarboxylase (HDC), Histamine forming bacteria

キーワード: アレルギー様食中毒、ヒスチジン脱炭酸酵素、ヒスタミン産生菌

はじめに

アレルギー様食中毒は魚肉やその加工品中で異常に蓄積したヒスタミンによって起こる食中毒で、食後 1 時間程度で口周りの熱感や眠気、じん麻疹様発疹などのアレルギー様症状を引き起こす。食品中のヒスタミンは、ヒスチジン脱炭酸酵素 (histidine decarboxylase, HDC) を保有するある種の細菌により産生されることが知られており、ヒスタミン産生菌と呼ばれる。¹⁾ 本研究は、本県で過去に経験したアレルギー様食中毒の原因食品からヒスタミン産生菌を分離し、クローニング技術によって純粋な HDC を抽出精製し、その生理活性を明らかにすることを目的とし、HDC 活性阻害物質の探索等により食中毒予防対策への基盤研究とする。

今回、分離したヒスタミン産生菌の HDC 遺伝子配列とアミノ酸配列を決定して標準株と比較したのでその概要を報告する。

調査方法

1 実験材料

2008 年 9 月、長崎県内の保育所で昼食を喫食した園児、保育士 35 名中 8 名が喫食後 30 分以内に蕁麻疹と発赤を呈した。原因は昼食のすりみ揚げと考えられ、その食品と原料から各々 59 mg/100 g 及び 100 mg/100 g のヒスタミンが検出されたためにアレルギー様食中毒と断定された。

2 ヒスタミン産生菌の分離

凍結保存したすりみ揚げから 100 個の分離株を検索した結果 HDC 遺伝子を保有する *Morganella morganii* と *Raoultella planticola* が検出された。

3 HDC 遺伝子の塩基配列の決定及び演繹アミノ酸配列の比較

今回は *M. morganii* を試験に供した。*M. morganii* の標準株 JCM 1672 (MM1) 及び食中毒分離株

(MM2) を 35 ℃、18 時間培養して約 2×10^9 個/mL に調製し、次の操作を行った。

MM1 と MM2 の HDC 遺伝子の全長増幅
各増幅 DNA 産物の TA クローニング
各 HDC 遺伝子の塩基配列の決定及び演繹アミノ酸配列の比較

結果及び考察

MM1 と MM2 の HDC 遺伝子のクローニングにより、それぞれの塩基配列の決定及び演繹アミノ酸配列の比較を行った。

- 1 組み換えにより MM1 は 3 連 (MM1-hdc-1-1, 1-2, 1-3) で、MM2 は 5 連 (MM2-hdc-2-1, 2-2, 2-3, 2-4, 2-5) で HDC 遺伝子を検索したが各クローンの遺伝子配列は全て一致した。
- 2 MM1 の 3 つのクローンにおいて、HDC 遺伝子の塩基配列 (1137bp) 及び演繹アミノ酸配列 (378) は GenBank: AB259290.1 (*M. morganii* hdc gene for histidine decarboxylase, complete cds) のデータと完全に一致した。
- 3 MM2 の 5 つのクローンにおいて、HDC 遺伝子の塩基配列は標準株と 6 箇所の相違があることが明らかとなった。MM2 の 5 つのクローンにおける演繹アミノ酸配列を標準株と比較すると、MM-hdc-2-5 のみ 1 箇所 (163rd, Isoleucine - Threonine) 異なったが、他の 4 つのクローンは標準株と全て同じアミノ酸配列であった。

M. morganii 菌 HDC 遺伝子分析の結果に基づいて、更なる HDC 酵素精製及び性状解明が求められる。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、協力をしていただいた長崎大学大学院環境・水産科学総合研究科の長富教授、吉田准教授をはじめとする共同研究関係各位に感謝する。

参 考 文 献

- 1) Lehane L, Olley J. : Histamine fish poisoning revised. *Int J Food Microbiol* 58 (1-2):1-3 (2000)
- 2) Takahashi et al. : Applied and environmental microbiology, pp. 2568-79 (2003)
- 3) Kanki et al. : Applied and environmental microbiology, pp. 1467-73 (2007)

