The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	赤痢菌の産生する致死毒の精製とその性状について
Author(s)	岡本，敬の介
Citation	大阪大学，1979，博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32159
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【7】

氏名・(本籍)	岡本敬の介
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 4555 号
学位授与の日付	昭和54年3月24日
学位授与の要件	医学研究科 病理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**赤痢菌の産生する致死毒の精製とその性状について**
論文審査委員	(主査) 教授 三輪谷俊夫 (副査) 教授 川俣 順一 教授 松田 守弘

論文内容の要旨

〔目　的〕

Shigella dysenteriae がマウスに対する致死毒を産生することは，この菌の発見当初よりわかっていた。この毒素はneurotoxinと名づけられ，*S. dysenteriae* による神経症状の原因毒素であると考えられている。しかしながらこの毒素はいまだ高純度に精製されていないため，その作用機構などに関する研究も進展していない。この研究は*S. dysenteriae* が産生する致死毒（neurotoxin）を精製し，その性状を知ることを目的として行なったものである。

〔方法ならびに成績〕

Shigella dysenteriae RIMD 3101010を1％Bactopeptone, 0.5% yeast extract, 0.5% glucose, 1％ Na_2HPO_4 を含む液体培地で37℃，24時間振盪培養後，培養上清を10,000rpm 20分間遠心分離し得た上清を80%飽和硫安で塩析し，生じた沈澱物を 0.01M phosphate buffer pH 7.0に懸濁後同bufferで透析した。透析後DEAE- cellulose, CM-cellulose, Hydroxylapatite, Sephadex G-200の各カラムクロマトグラフィーを順次行ない致死毒を精製した。致死活性の測定は，4週令の雄のICR系マウスに検液0.5mℓを腹腔内投与し，1週間以内の致死をもって判定した。

この致死毒は0.01M phosphate beffer pH 7.0で平衡化したDEAE-cellulose columnには吸着せず，同bufferにて平衡化したCM-cellulose columnに吸着した。この吸着した致死毒は0.2M NaClを含む0.01Mphosphate buffer pH 7.0で溶出した。致死活性画分をHydroxylapatite columnに吸着させ，0.01，0.05，0.10，0.20Mのphosphate buffer pH 7.0で順次溶出した。その結果致死活性は0.10Mphosphate bufferで溶出する画分で認められた。この活性画分を濃縮後Sephadex G-200

columnを用いてゲル沪過を行ない毒素を高純度に精製することができた。

7％ゲル濃度のpolyacrylamide disc gel電気泳動を行なった結果，精製毒素は一本の蛋白バンドとして泳動した。またゲルの切り出し試験においてもバンドに一致して活性が認められた。

精製毒素を1 μgマウスに腹腔内投与すると10匹中10匹，0.1μgの投与では10匹中4匹が死亡した。蛋白量あたりの比活性は培養上清の約4760倍に上昇した。 精製毒素のマウスに対するLD_{50}は 6.5 μg/kgであった。

精製毒素の紫外部吸収を調べた結果，この毒素は280nm付近で最大吸収をもっていた。

精製毒素を20μg/mℓの濃度で100℃，10分間加熱処理すると活性は全く失なわれてしまいこの毒素が易熱性であることがわかった。

〔総　　括〕

*Shigella dysenteriae*の致死毒（neuro toxin）を培養上清から分離し，DEAE-cellulose，CM-cellulose，Hydroxylapatite，Sephadex G-200の各カラムクロマトグラフィーを順次行なって精製した。精製毒素はpolyacrylamide disc gel電気泳動で一本の蛋白バンドとして泳動した。精製毒素のLD_{50}は6.5μg/kgであり，培養上清と比べて約4760倍精製することができた。

論文の審査結果の要旨

この論文は*Shigella dysenteriae*が菌体外に産生する致死毒をpolyacrylamide gel disc電気泳動および SDS-polyacrylamide gel disc電気泳動で単一なバンドにまで精製し，精製した毒素は分子量約31,000の蛋白であり，マウスに対するLD_{50}は0.15μgであることを示している。

この致死毒が単一な毒素標品として報告されたのは最初であり意義ある研究といえる。