The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Staphylococcus aureus L型菌の細胞融合について
Author(s)	平地, 慶行
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32542
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

【4】

氏名・(本籍)	平地慶行（ひらち よしゆき）
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第 4786 号
学位授与の日付	昭和55年1月5日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	***Staphylococcus aureus* L型菌の細胞融合について**
論文審査委員	(主査) 教授 小谷 尚三 (副査) 教授 常光 旭　教授 鈴木不二男　助教授 下野 勉 講師 佐藤 光信

論文内容の要旨

Ehrlich 腫瘍細胞がHVJウイルスの作用により融合することを示した岡田ら（1957, 1958）の先駆的な研究を嚆矢として，多くの動物および植物細胞が種々のfusogenic agentの助けを借りて融合することが明らかにされている。異なった2種の細胞が融合し，核その他の遺伝物質ならびに細胞質を「合体」するこの細胞融合現象は，基礎および応用遺伝学ならびにその他の生命科学の幅広い分野において，重要な研究手段として，種々の研究目的に利用されている。

細菌以外の微生物では，Ferenczyら（1974），Bindingら（1974）がまず動植物細胞と同様，真核細胞である真菌のプロトプラストの融合を報告し，以後多くの研究がある。しかし同じく微生物ではあるが，真菌とは異なり，原核細胞である細菌については，*Bacillus*や*Streptomyces*を細胞壁溶解酵素で処理するなどして得たプロトプラストあるいはスフェロプラストの融合が報告(Foderら，Schaefferら，Hopwoodら，1976-1979)されているが，その他の細菌種や天然の状態で細胞壁を持たないL型菌や*Mycoplasma*に関しては，細胞融合の報告は皆無である。

本研究では，薬剤耐性のマーカーを付けた*Staphylococcus aureus* L型菌の2種の亜株を用いて細胞融合を試み，以下述べる結果を得た。

1．*S. aureus* L型菌(横浜市大・医・田所一郎教授より分与を受けたSTA-EMT-1株)からまずストレプトマイシン(SM)耐性(1,000μg/ml)株とエリスロマイシン(EM)耐性(10μg/ml)株を分離した。これらの両菌株を，4.5％NaCl加Brain Heart Infusionブロスに一夜37℃で増殖させ，得られた培養菌体を混合して種々の濃度のポリエチレングリコール(PEG)1,000，4,000および6,000により，37℃で10分間処理した。ついで反応液を遠心してPEGをできるだけ除いた後，沈渣を上記液体培地中

で一夜増菌培養し，SM(500 μg/ml)およびEM(3 μg/ml)を含む上記液体および固型（0.8％寒天加）培地を用い，SMおよびEMに対して二重耐性を示す組換え体の出現を調べた。出現する組換え体の出現頻度は，50%(ω/ω)のPEG 6,000をfusogenic agentとした場合に最大値を示した（そこで以下の実験では，PEG 6,000を50%(ω/ω)の濃度で使用した)。PEGを用いなかった場合には，両薬剤に耐性を示す組換え体は得られなかった。

2．一方SM耐性菌又はEM耐性菌を別々に上記の条件でPEG処理しても，SMおよびEMの両薬剤を含む培地に増殖しうる組換え体は出現せず，前項の実験で得られた二重薬剤耐性菌は，PEGが突然変異誘発物質として働いた結果生じたものでないことが示された。

3．上記組換え体が生じる条件でPFG処理時ならびに増菌培地にブタ膵臓由来のDNase-Iを加えても，組換え体の出現頻度は影響されなかった。またSMあるいはEMに単独耐性のL型菌の一方を浸透圧ショックで破裂させてえた細胞溶解物を他方のL型生菌に加えてPEG処理しても，組換え体は得られなかった。すなわち二重薬剤耐性菌の出現は，一方の耐性菌のDNAが他方の耐性L型菌に取り込まれること(transformation)によるものではないことが示唆された。

4．SM耐性菌あるいはEM耐性菌の一方をPEGにより処理し，その反応液のメンブランフィルター濾液によって他方の耐性菌をPEG存在下で処理した際にも，またSM耐性菌とEM耐性菌を別々にPEG処理後混合して増菌培養した場合にも，組換え体は得られなかった。すなわちPEG処理によって，一方の耐性菌からバクテリオファージが誘導されて他方の耐性菌に感染すること(transduction)によって組換え体が生じたのではないことが示唆された。

5．増菌培地にSMあるいはEMの一方のみを加えるか，又は両者のいずれをも加えなかった場合には，両薬剤に耐性の組換え体が出現したが，両薬剤を加えた増菌培養では組換え体は生じなかった。さらに両薬剤を含まない増菌培養では，培養を開始して4～6時間経過した時点で，組換え体の出現が認められた。

6．6時間の増菌培養で生じた組換え体の第一次集落を両薬剤を含まない培地で増菌させ，この培地に生じた第二次集落を調べたところ，これらはすべて両薬剤に対して二重耐性を保有すること，すなわち二重薬剤耐性が安定なことが示された。

以上の研究結果から，*S. aureus* L型菌がPEG処理により細胞融合することをはじめて明らかにするとともに，細胞融合した二倍体で融合に与った両亜株由来のDNAの間に組換えが起り，さらに分裂した後に，はじめて両薬剤に耐性な組換え体が生じることが結論された。

論文の審査結果の要旨

この研究は，岡田善雄博士により発見された細胞融合現象がL型細菌細胞においても起こることを，世界の研究者に先駆けて，異論の余地なく実証したものである。

細菌細胞間における遺伝子等の移行ないし交換については，従来，接合，形質導入，形質転換など

の種々の機構が知られているが，この研究により，自然界に存在する細菌についてはこれまでに報告のなかった，細胞融合による新しい遺伝子等の交換の機序が存在することが明らかにされた。細胞融合現象が生命科学の種々の分野で様々な目的に，かけがえのない研究手段として利用されていることを考えると，この研究の意義はきわめて大きいと言えよう。

ここに，平地慶行君の研究が歯学博士の学位授与に十分価する，優れた研究業績であることを一致して認めるものである。