

Title	ウエルシュ菌の λ , κ 毒素および赤血球凝集素の欠損変異株間の相補性
Author(s)	田附, ツル
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32667
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	田 附 ツ ル
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 4894号 号
学位授与の日付	昭和55年3月25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	ウエルシュ菌の λ , κ 毒素および赤血球凝集素の欠損変異株間の相補性
論文審査委員	(主査) 教授 天野 恒久 (副査) 教授 三輪谷俊夫 教授 松田 守弘

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

教室の東等(1973)はウエルシュ菌, PB6K株の θ 毒素非産生変異株が2群(a, b群)にわかれ, 異なる群の株を混合培養すると θ 毒素をb群菌がつくることを明らかにした。さらに東等(1976)は θ^- 変異株の中に λ 毒素(蛋白分解酵素), κ 毒素(コラゲナーゼ)の非産性または弱産生株があったので, a, b両群菌(θ 毒素産生の相補性)を混合培養すると, θ 毒素の場合と同様に各毒素をb群菌が産生すること, および θ^- b群菌はいずれも λ^- , κ^- であることを報告した。

著者はこの λ 毒素, κ 毒素の非産生変異株を直接に分離して, 東等の裏付けを行うと共に, 赤血球凝集素(hemagglutinin)についても検討し, 同様の現象がみられることを明らかにした。

〔方 法〕

PB6K株より, 常法によりNG(N-methyl-N'-nitro-N-nitroso-guanidine)処理を行って, 変異株を分離した。培地に加える基質としてはNa-caseinate, gelatin(λ 毒素), 牛アキレス腱微細断片(κ -毒素)を使った。casein(Cas)分解はrennet作用の有無と酢酸滴下後の白濁の消失で, gelatin(Gel)分解は飽和硫酸滴下による白濁の消失で判定した。 κ 毒素の分解は牛アキレス腱の溶解により判定した。hemagglutinin(HA)非産生変異株の分離にはトリソイ寒天培地を用い, NG処理後の20本の増菌培養の各1本分から約100個のコロニーを無差別にトリソイ培地に増殖させ, 1:100稀釈で鶏赤血球の凝集の有無をしらべた。陰性株を改めて同一培地で培養し, 上清の階段稀釈について, 赤血球凝集活性を測定し, 親株のHA⁺(1:4,000~8,000まで陽性)に対して, 1:64で陰性のものをHA⁻, 1:512で陰性のものをHA⁺株とした。

〔成績〕

1. λ -毒素 Gel⁻として53株分離した。 θ -b群菌はすべてGel⁻であったので、これとの相補により、47株がa群菌で、6株がb群菌となった。Cas⁻24株のうち、23株がa群菌で、b群菌は1株のみであった。Cas⁺として13株とれたがすべてa群菌であった。これらのb群菌はすべて θ ⁻であった。相補は寒天培地上でセロファン膜を隔てても起る。Gel⁻株の培養上清はPB6Kのそれに比べると、 $\frac{1}{4}$ ~ $\frac{1}{100}$ の活性が認められたが、Cas⁻に対してはCas寒天上でも培養上清においても凝乳活性は共に陰性であった。また、Cas⁻株の培養上清はGel⁻に対して $\frac{1}{2}$ ~ $\frac{1}{100}$ の活性が認められた。これらのGel⁻への活性は χ 毒素 (collagenase) がcollagenのみならずGelにも分解作用があることから当然と考えられる。aM₄₋₁とb300-11の相補により作られたproteaseを親株のそれと比較した。親株のはCMセファデックスのクロマトで少くとも3種作られるがこの2株の相補により作られるものは1種類のみであった。Casと両proteaseとの反応において、 χ -Casがまず作用をうけて凝塊を作ること、 χ -Casの分解のされ方は同様であることがわかり、この相補により作られるproteaseはrennet様proteaseであることがわかった。

2. χ -毒素 13株の変異株のうち、12株は θ ⁺、Cas⁺で1株は θ ⁺、Cas⁻であったがいずれもa群菌であった。相補で作られる χ -毒素は χ -抗毒素で中和されることは東等の報告の通りであった。

3. 赤血球凝集素 HA⁻として23株、HA⁺として27株、計50株とれ、そのうちa群菌47株、b群菌3株であった。b群菌は θ ⁻、 λ ⁻、 χ ⁻または χ ⁺であった。a群菌の3活性は、まちまちで3活性共に残存するもの、2活性のみ残るもの、1活性のみ残るもの、3活性共に消失したb群菌のようなものもあった。この最後のものは相補の性質はa群菌であった。

4. a群菌よりb群菌への変異 a32 (θ ⁻、HA⁻、 λ ⁺、 χ ⁺) から λ ⁻株をとったものの中に λ ⁻のa群菌とcross streakしてCas⁺となるものが5株とれた。これは同時に χ ⁻であって、 λ 、 χ 産生についてb群であった。aF-11 (θ ⁺、HA⁺、 λ ⁻、 χ ⁺) をNG処理し、同時に約10⁶個のbM₂₋₁₁をCas培地にうえ、 λ の相補のないコロニーを2株とった。これもb群菌に変わっていたが λ のみは産生しなかった。これらはa群活性は勿論失っている。

〔総括〕

1. θ 毒素のみならず、 χ 毒素、 λ 毒素、HAの産生においてもa群菌、b群菌の変異株がとれる。

2. b群菌は各構造遺伝子は正常でも各物質産生が抑制されており、a群菌は各々対応する構造遺伝子に欠損があるが、a物質を産生し、これが混合培養でb群菌に与えられると抑制から開放されて、物質産生が起るものと考えている。

論文の審査結果の要旨

著者はこれらの非産生株を多数分離して調べた結果、教室の東等の θ 毒素非産生株の如く、a、b 2群に分かれること、b群菌はいづれのマーカーでとつても常に θ ⁻、 λ ⁻、 χ ⁻HA⁻であり、a群菌に変

異をおこしても b 群菌がとれること、この b 群菌には a 群菌の欠損はそのまま残ること等から、親株からいきなりとれる b 群菌には構造遺伝子は欠損しておらず、抑制された状態にあり、a 群菌が作って与へる a 物質（仮称）により、抑制より解放されて、所謂相補がみられることを明らかにした。尚、λ の相補の場合、作られるのは親株のつくる少くとも 1 種類がつくられ、これは rennet 様プロテアーゼであることも明らかにした。これらの業績は充分学位に価するものと思う。