The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Streptococcus sanguis ATCC 10557株の菌体表面に存在するレクチンの分離・精製とその性質
Author(s)	永田, 清
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33635
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）	永田　清（ながた　きよし）
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第 6146 号
学位授与の日付	昭和58年6月29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	***Streptococcus sanguis*** **ATCC 10557 株の菌体表面に存在するレクチンの分離・精製とその性質**
論文審査委員	（主査）教授 常光　旭 （副査）教授 小谷　尚三　教授 鈴木不二男　講師 恵比須繁之 講師 鳥居　光男

論文内容の要旨

最近，微生物から，各種の中性糖やアミノ糖に特異的な糖結合物質であるレクチンが次々と見い出されている。例えば，*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptomyces* sp. などから，それぞれのレクチンが分離・精製され，その糖結合特異性や生物学的諸活性が次第に明らかにされつつある。一方，歯学領域では，エナメル質表面の獲得被膜を構成する唾液のタンパク質や糖タンパク質と口腔細菌との相互作用がデンタル・プラークの形成機構との関連で注目され，*Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii*, *Streptococcus mutans* や *Streptococcus sanguis* などの細胞表面にレクチン様物質が局在することを示唆する研究結果が相次いで報告されている。

著者が所属する教室の柴田（1979）は，ヒト耳下腺唾液より，プロリンに富む糖タンパク質（proline-rich glycoprotein，以下PRGPと略す）を精製し，糖側鎖の構造を推定するとともに，〔^{3}H〕— PRGPが口腔レンサ球菌の中で，特に，*S. sanguis* ATCC 10557 株に強く結合することを見出した。さらに，この結合がD－ガラクトースにより特異的に阻止されることから，ATCC 10557 株の菌体表面にガラクトース特異性レクチンの存在を推定した。しかし，柴田は，このレクチンを分離・精製することには成功しなかった。

この研究で，著者は，*S. sanguis* ATCC 10557 株の菌体をまず2％ Triton X－100，0.1 M EDTAあるいは8M塩化リチウムで処理し，レクチンを取り出すことを試みたが，結果は満足すべきものではなかった。そこで，菌体を凍結融解処理し，ガラクトシド－bovine serum albumin（BSA）複合体との結合性（fluorescein isothiocyanate 標識抗BSAウサギ血清を用いた蛍光抗体間接法により

調べた）を指標として菌体表面のレクチンの挙動を調べたところ，未処理の菌体表面には本複合体が結合するが，凍結融解処理したものでは，この結合性がみられなくなることが判明した。また，電顕的観察によって，凍結融解処理した菌体では未処理の菌体表面に認められた〝fuzzy coat〟がほとんど消失すること，しかし，このこと以外には特に検知できるような形態学的な変化は惹起されないことを知った。

ついで，凍結融解処理によって菌体から剥がしとったレクチンの粗標品を，β－D－ガラクトース結合バイオーゲルP－2によるアフィニティクロマトグラフィー，バイオ－ゲルP－150，さらにバイオーゲルP－30により分画し，赤血球凝集活性を指標として，目標とするレクチンを精製することを試みた。このようにして分画，精製したレクチンは電気泳動的に均質で，サブユニットをもたない一量体であり，約2万の推定分子量，8.5－9.0の等電点を与えた。化学的には，グルタミン酸，グリシン，セリン，アスパラギン酸を主な構成アミノ酸とし，フコース，リボース，キシロース，ガラクトースを構成糖とする塩基性糖タンパク質であった。

精製レクチンはPRGPと沈降反応を起こし，各種の糖による沈降反応阻止効果を調べたところ，D－ガラクトースが著明な阻止効果を示すこと，その他の糖では，D－アラビノースとラクトースとが明確な阻止作用を示すことが判明し，本標品がD－ガラクトース特異性レクチンであることが明らかにされた。

精製標品のPRGPとの沈降反応性は，標品を加熱処理（中性で100℃，10分間）しても完全には消失しなかった。また，EDTAで処理し，さらにカルシウム，マグネシウム，マンガンイオンを添加しても，精製レクチンのPRGPとの沈降反応性には変化は認められなかった。一方，プロナーゼEによる処理では，精製レクチンのPRGPとの沈降反応性は完全に消失した。この事実は，精製レクチンのタンパク質部分がPRGPとの沈降反応の発現に重要な役割を演じることを示唆する所見といえよう。

以上，1）*S. sanguis* ATCC 10557株の菌体表面に存在するガラクトース特異性レクチンを，凍結融解処理により他の菌体成分の混在を最小限にとどめ得る条件で取り出すことができること，したがって比較的容易な分画操作で目指すレクチンを精製し得ること，2）精製されたレクチンは分子量約2万，等電点8.5－9.0の塩基性糖タンパク質であり，プロナーゼEで処理すると，PRGPとの沈降反応性が失われることなどの新しい事実を明らかにした。

S. sanguis ATCC 10557株とPRGPとの結合は，菌体表面に存在する上記の特性を示すレクチンがproline－rich glycoproteinの糖側鎖に存在するガラクトースを認識することによると結論されよう。

論文の審査結果の要旨

本研究は，*Streptococcus sanguis* ATCC 10557株の菌体表面に存在するD－ガラクトース特異性レクチンを分離・精製し，その性質の一端を明らかにしたものである。

この研究により，1）本菌株の菌体表面に存在するレクチンは，全菌体を凍結融解処理することにより，他の菌体成分の混在を最小限にとどめ得る条件で分離し得ること，2）精製レクチンは分子量約2万，等電点8.5－9.0 の塩基性糖タンパク質であること，3）プロリン含量の多いヒト唾液に存在する糖タンパク質（PRGP）と沈降反応を呈する精製標品の特性は，プロナーゼE処理によって，失われること，などの新しい事実が明らかにされた。

この研究は，本菌株とPRGPとの結合が，菌体表面に存在する上記のガラクトース特異性レクチンとPRGPの糖側鎖に存在するガラクトースとのレクチン—糖結合反応によるという事実を明らかにすることを通じて，初期の歯垢形成を支配する要因の解明に重要な新しい知見を提供するものである。したがって，永田清君の論文は歯学博士の学位請求に十分値するものと認める。