

Title	毒素原性大腸菌のST-Entプラスミドに特異的なバクテリオファージM124の分離
Author(s)	Pratiwi, Soedarmono
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/33747">http://hdl.handle.net/11094/33747</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名・（本籍）	<sup>フラチイウイ</sup> PRATiWi <sup>スダルモノ</sup> SOEDARMONO
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 6 3 4 8 号
学位授与の日付	昭 和 59 年 3 月 14 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	毒素原性大腸菌の ST-Ent プラスミドに特異的なバクテリオ ファージ M 124 の分離
論文審査委員	(主査) 教 授 松代 愛三 (副査) 教 授 三輪谷俊夫 教 授 松原 謙一

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目 的)

毒素原性大腸菌による下痢はこゝ数年来、日本における輸入伝染病のトップの座を占める重要な疾患となっている。伊丹空港検疫所と三輪谷、竹田らの協同調査結果がこのことを如実に示している。所がこの病原菌の細菌検査法として、LT 産生菌には CHO-テストや微研法など、ST 産生菌には乳呑マウス・テストなどがあるが簡便迅速で且つ正確な方法はないのが実状である。特にこの病原菌の源泉流行地である東南アジア地方では我邦以上に簡便な検索法が待望されている。

#### (方法ならびに成績)

インドネシア、ジャカルタ市内とその郊外の各所から汚水のサンプルをとり、毒素原性大腸菌 E.coli 269-1 (ST<sup>+</sup>LT<sup>+</sup>) を指示菌として、これにプラークを作るファージを検索した。その結果得られた約 150 種のファージの中で、透明なものを 50 種選び、ST<sup>+</sup>菌、LT<sup>+</sup>菌、ST<sup>+</sup>LT<sup>+</sup>菌にプラークを作るか否かを検討し、整理してみた。更に三輪谷と竹田が伊丹空港検疫所において下痢患者から分離した 278 株の大腸菌がこれらのファージによって溶菌させられるか否かをしらべてみた。その結果 M 124 株は ST 毒素産生株を特異的に溶菌させることを発見した。

M 124 ファージが ST-Ent プラスミド保持菌を特異的に溶菌さす証拠を固めるため、次に述べる実験を行った。ST 産生菌 10 株を選び、ST-Ent プラスミドを喪失させる目的で、アクリジンオレンジ 50 μg/ml 存在下に一夜培養した。約 20% のコロニーが Ent プラスミドを失い毒素産生能を消失していた。これらの各クローンの M 124 に対する感受性をしらべたところ、Ent プラスミドを失い毒素を産生しなくなったものは M 124 に対する感受性も全く並行してなくなっていることが分った。

患者から分離された大腸菌について、従来から広く実施されて来た乳呑マウス・テストと、M 124 に対する感受性テストを並行して行ってみると、95%以上は両者の結果が一致するものの、5%は乳呑マウス・テストで陰性、M 124 には感受性を示した。この5%の疑陽性のものについて、Ent プラスミド DNA をブルーブとしてコロニーハイブリダイゼーションを行った所、その殆んどは弱いながらポジティブな結果を示した。また疑陽性の各株から抽出した DNA をアガロース・ゲル電気泳動したものに対して Ent プラスミド DNA をブルーブとしてブロード・ハイブリダイゼーションした所、Ent プラスミドに相当する大きさのプラスミドの存在が確認できた。従ってこれら疑陽性のものは ST 遺伝子（又はトランスポゾン）を失った Ent プラスミドを保持しているので、M 124 には感受性を示すものと考えられる。また Ent プラスミドのコピー数が少く毒素産生の微弱な株も M 124 に対する感受性テストでは陽性に出るケースも考えられる。

（総括）

1. 毒素原性大腸菌の ST-Ent プラスミド保持菌に特異的に感染する M 124 フェージを発見した。ST<sup>+</sup>菌及び ST<sup>+</sup> LT<sup>+</sup>菌はこのフェージに感受性を示すが、LT 産生菌やプラスミドをもたない菌はこのフェージに感受性でない。
2. アクリジンにより ST-Ent プラスミドを喪失した菌はこのフェージに対する感受性も失う。
3. ST-Ent プラスミドに相当する大きさのプラスミドをもち、M 124 に対する感受性を示すが、乳呑マウス・テストでは陽性でないものが数%みつかった。
4. 以上のことから M 124 フェージを使う毒素原性大腸菌の検査法は従来の方法より簡便であると云える。

## 論文の審査結果の要旨

毒素原性大腸菌はこゝ数年来、日本の輸入伝染病のトップの座にあるが、その検索法は現在でも充分とはいえない。この毒素タンパクは LT と ST があるが、これらは夫々別の Ent-プラスミドから code され则认为られている。本論文は ST-Ent プラスミドが code する細胞表面に局在するタンパクに特異的に吸着するバクテリオフェージ M 124 を分離したという報告である。

このフェージを使えば従来の乳呑マウス法などに比べてより迅速且簡便に ST-産生性大腸菌を検出し得て、細菌検査上からも寄与するところが大である。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。