

Clostridium

difficile菌体内トキシンAの精製とその性状

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/15111

学位授与番号	医博甲第1100号
学位授与年月日	平成6年3月25日
氏名	孟 筱 琦
学位論文題目	<i>Clostridium difficile</i> 菌体内トキシンAの精製とその性状

論文審査委員	主査	教授	中村 信 一
	副査	教授	山本 博
		教授	福田 龍 二

内容の要旨および審査の結果の要旨

Clostridium difficile (*C. difficile*) は偽膜性大腸炎、抗生物質関連下痢症の原因菌であり、腸管毒性(結紮腸管液体貯留活性)を有するトキシンAが最も重要な病原因子である。本研究では菌体内に存在するトキシンA(菌体内トキシンA)を精製し、その物理化学的、生物学的、免疫学的性状について検討した。

菌体内トキシンAの精製は *C. difficile* VPI 10463株のm-BHI 培養菌液から得られた菌体の超音波処理上清液を出発材料とし、サイログロブリン(TG)アフィニティー、クロマトグラフィー、2回のMono Q-FPLCにより行った。研究成果は以下の如く要約される。

I. 超音波処理上清液中のトキシンA(菌体内トキシンA)は4℃でTGカラムに結合し、37℃で溶出された。赤血球凝集(HA)活性は素通り画分では高かったが(2°HAU/50μl)、37℃で溶出されたトキシンA画分では低かった(2°HAU/50μl)。しかしながら、菌体内トキシンA画分を透析することによりHA活性は2°HAU/50μlに上昇した。1回目のMono Q-FPLCにおいて、菌体内トキシンAのピークとHA活性のピークの解離が認められた。更に2回目のMono Q-FPLCを行った結果、HA活性を有しない菌体内トキシンAを得ることができた。

II. 上記の高度精製菌体内トキシンAについて、その性状を検討した。1) 分子量は未変性PAGEで580 kDaであり、SDS-PAGE上の主バンドは240kDaであった。2) 細胞毒性、マウス致死毒性およびウサギ結紮腸管液体貯留活性における最小有効量はそれぞれ0.83ng, 8.7ng, 5 μgであった。3) HA活性は1.5 μgの毒素を用いても検出されなかった。4) ゲル内沈降反応および毒素中和試験上、菌体内トキシンAと菌体外トキシンA(培養液中に放出されたトキシンA)の間には差異は認められなかった。5) 抗菌体内トキシンA血清は、抗菌体外トキシンA血清と同程度に、菌体外トキシンAのHA活性を中和した。

以上の結果は、トキシンAは細胞毒性・致死毒性・腸管毒性陽性-HA活性陰性の形で菌体内で産生され、菌体外へ放出される時、あるいは培養液中でその分子構造が変化することによりHA活性が活性化される可能性を示唆している。

以上、本研究は *C. difficile* 菌体内トキシンAの性状を明らかにしたものであり、医学細菌学、感染症学に多大に寄与する労作と評価された。