

(26)

氏名(生年月日)	イ 伊	トウ 藤	タカ 隆	コ 子
本 籍				
学位の種類	医学博士			
学位授与の番号	乙第560号			
学位授与の日付	昭和57年4月16日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当(博士の学位論文提出者)			
学位論文題目	Group H Streptococcal Bacteriocins Having No Relation to Bacterial Transformation (H群レンサ球菌の産出する形質転換と無関係のバクテリオシンについて)			
論文審査委員	(主査) 教授 吉岡 守正 (副査) 教授 野本 照子, 教授 石津 澄子			

論 文 内 容 の 要 旨

研究目的

遺伝子伝達の一つである形質転換を高頻度に起こすレンサ球菌H群 Challis 株の培養上清中には、非転換性の Wicky 株を転換可能にするコンピテンス因子(CF)のほかに、Wicky 株をに対する抗生物質(バクテリオシン)を含むことを見出した。そこでH群レンサ球菌のバクテリオシンの性状およびバクテリオシン産生と形質転換との関係を調べた。

研究方法

バクテリオシンおよびCF調製：非働化ウマ血清加ET₃培地90分培養菌液遠心上清のミリポア濾液を用いた。

バクテリオシン活性：定量的には対数増殖期の被検菌液にバクテリオシン30分作用後の生菌数減少を測定した。定性的には被検菌液塗抹寒天平板上に産生菌液を滴下し一夜培養後その周囲の発育阻止帯を計測した。

CF活性：対数増殖期 Wicky 菌液にCFを30分作用した後ストレプトマイシン(SM)耐性マーカーを有するDNAを添加し2時間継続培養しSM含有寒天平板上でSM^r転換菌を数え総菌数に対する%による転換頻度を求めた。

バクテリオシンに対する各種処理：45, 50, 55, 60°C 30分加熱, -20, 4, 37°C, 室温48時間放置, 各種酵素30分作用後の残存活性を調べた。

結果

1) H群6株中 Challis と36658のみがバクテリオシン産生株であったが、36658にはCF活性はなく形質転換も起こさない。

2) Challis バクテリオシンは Wicky と58のみに作用し、36658バクテリオシンはさらに他のH群3株にも弱く作用した。定性的に測定すると36658菌液は他群および肺炎レンサ球菌、ブドウ球菌、大腸菌等の被検菌49株中33株(67.3%)に作用したのに対し、Challis 菌液は前記2株にも作用しなかった。

3) バクテリオシン産生はET₃培地に非働化ウマ血清を必要とし、90~120分をピークとし、5時間後には消失するが、Challisの方が急速に減少する。pH 5および9, プロナーゼ, 蛋白合成阻害剤存在下では産生されない。Challis バクテリオシンの産生条件および時期はCF産生の条件とほぼ一致する。

4) Wicky 株に対するバクテリオシン活性の強さは1 ml 当り Challis バクテリオシンは 1.8×10^7 , 36658 バクテリオシンは 1.2×10^7 殺菌するが、吸光度の減少はないので溶菌は起こっていない。

5) 両バクテリオシン共50°C 30分および室温, 37°C 48時間で失活し温度感受性であり、温度抵抗性のCFと異なる。Challis バクテリオシンはトリプシン, プロナーゼ, リパーゼに、36658バクテリオシンはプロナーゼ, パパインに感受性を示し、各々の酵素感受性は異なっていた。

6) Diaflo 濾過によると両バクテリオシンのおおよ

その分子量は100,000以上であった。

7) マイトマイシンCおよび紫外線照射による誘発や、超遠心沈査の電顕観察の結果、ファージ又は欠損ファージは検出されなかった。

結論

両バクテリオシン共その本質は蛋白質であるが、36658バクテリオシンは産生時期、活性スペクトラム、

酸素感受性に差のあるところから Challis バクテリオシンとその組成を異にする。又、Challis バクテリオシンはCFとは異なった物質であり、36658株はCF非産生かつ転換不能なので、これらのバクテリオシンはその産生も作用も形質転換には関係のないことがわかった。

論文審査の要旨

本論文は遺伝子伝達の際、受容細胞は代謝機能の旺盛な生育期にあること、ならびにコンピテンス因子による細胞膜上の受容体の修飾が必要であるとの従来の知見に加えて、コンピテンス因子標品に含まれる抗生物質による発育障害を受けることがあることを明らかにした点で学術上価値あるものと認める。

主論文公表誌

Group H Streptococcal Bacteriocins Having No Relation to Bacterial Transformation (H群レンサ球菌の産生する形質転換と無関係のバクテリオシンについて)

Microbiology and Immunology

第26巻 第2号

93~105頁 (1982年2月発行)

副論文公表誌

- 1) Transformability of Group H Streptococcus Challis. I. Diminution and Acquisition of Transformability in α -Hemolytic Variants of Group H Streptococcus Challis (H群レンサ球菌 Challis 株の形質転換. I. α 溶血変異 Challis 株の転換能の変化.
Jpn J Microbiol 17 (6) 431~437 (1973)
- 2) Transformability of Group H Streptococcus Challis. I. Diminution and Acquisition of Transformability in α -Hemolytic Variants of Group H Streptococcus Challis (H群レンサ球菌 Challis 株の形質転換) II. Transformation

of Hemolytic Activity and Competence-Provoking Factor Nonproducibility (H群レンサ球菌 Challis 株の形質転換 II. 溶血性と CPF 非産生性の形質転換).

Jpn J Microbiol 17 (6) 439~447 (1973)

- 3) Characteristics of Group A streptococcal Variants Treated with Mitomycin C: Appearance of cell wall Glucosamine and Uridine Diphosphate-N-acetylglucosamine-4-Epimerase Activity (マイトマイシンC処理A群レンサ球菌変異株の性状:細胞壁グルコサミンとUDP-N-アセチルグルコサミン-4-エピメレース活性の出現.
Jpn J Microbiol 17 (1) 53~62 (1973)
- 4) Transmission of Bacteriocinogenicity by Conjugation in Group D Streptococci (D群レンサ球菌におけるバクテリオシン産生性の接合による伝達)
Jpn J Microbiol 17 (6) 445~452 (1973)
- 5) 未熟児室の細菌分布.
感染症誌 54 (12) 789~797 (1980)