

|         |  |
|---------|--|
| 氏名      | MD. MONZUR RAHMAN  |
| 授与した学位  | 博 士  |
| 専攻分野の名称 | 薬 学  |
| 学位授与番号  | 博甲第1630号   |
| 学位授与の日付 | 平成9年3月25日  |
| 学位授与の要件 | 自然科学研究科生体調節科学専攻<br>(学位規則第4条第1項該当)  |
| 学位論文題目  | Genetical studies on some pathogenic factors of<br><u>Vibrio mimicus</u> and <u>Vibrio fluvialis</u><br><u>Vibrio mimicus</u> および <u>Vibrio fluvialis</u> の病原因子の遺伝<br>学的研究 |
| 論文審査委員  | 教授 篠田 純男 教授 大森 晋爾 教授 土屋 友房<br>教授 白石 友紀 教授 東出 栄治  |

### 学位論文内容の要旨

1982年に食中毒原因菌に指定された *Vibrio mimicus* と *V. fluvialis* は種々の病原因子を分泌している。本研究では、それらの病原因子の遺伝子を大腸菌にクローニングし、その塩基配列を解析した。

*V. mimicus* は結紮した腸管ループ内に液体を貯留させる 63 kDa の溶血毒素を産生している。この溶血毒素の遺伝子は 2,232 塩基であり、*V. cholerae* O1 の毒素遺伝子と相同性が高かった。そして、遺伝子産物 (83,903 Da) の N 末端 25 個のアミノ酸はシグナルペプチドであることが示唆された。さらに、*V. mimicus* から精製した毒素の N 末端アミノ酸配列との比較から、152 番目のセリン以降の 539 個のアミノ酸で構成される 65,972 Da の蛋白質が成熟毒素であると考えられた。つまり、*V. mimicus* の溶血毒素は 2 段階のプロセッシングを受け成熟毒素になると推察された。

*V. fluvialis* と *V. mimicus* は亜鉛を補因子とする金属プロテアーゼを分泌している。この酵素は腸管粘膜を破壊し細菌細胞の腸管上皮細胞への結合を促進させるので、病原因子の 1 つと考えられている。*V. fluvialis* の金属プロテアーゼの遺伝子を解析した結果、他の *Vibrio* のものと極めて似ていることが明らかとなった。また、サーモリシンファミリーに共通する亜鉛結合モチーフも見出された。さらに、N 末端側にシグナルペプチドおよびプロ領域を持っていることも示唆された。したがって、*V. fluvialis* の金属プロテアーゼは、プレプロ酵素として産生されるサーモリシンファミリーのプロテアーゼであると結論できる。

## 論文審査結果の要旨

ビブリオ属の細菌には数種の病原種が含まれているが、予備審査論文提出者が取り上げた *Vibrio mimucus* および *V. fluvialis* もその中に含まれる。本論文は両種の病原因子の中のヘモリジンとプロテアーゼの遺伝子の解析を行ったものである。*V. mimucus*のヘモリジンは溶血活性とともに下痢原性を示す重要な病原因子である。*V. mimucus* E33株の遺伝子ライブラリーから、ヘモリジン活性を示すクローンが得られたが、その中に2つのopen reading frame (ORF)が見られた。このうちヘモリジンをコードするORFは *V. cholerae* O1のヘモリジン遺伝子と高い相同性を示し、約84kDaの遺伝子産物が2段階のプロセッシングを受けて63kDaの成熟毒素になることが示された。また、他のORFはヘモリジン分子の分泌に関与する外膜タンパク質の遺伝子であると推定された。一方、細菌のプロテアーゼも炎症のメディエーターとして、あるいは腸管粘膜への細菌の付着の際の働きなど病原因子として機能している。*V. fluvialis* のプロテアーゼのクローニングを行って遺伝子の解析を行った結果、他のビブリオのプロテアーゼ遺伝子と極めて似ており、サーモリシンファミリーに共通する亜鉛結合モチーフが見られた。また、N末端側にシグナルペプチドおよびプロ領域を持つことも示された。これらの研究は病原ビブリオの病原因子の機能、さらには感染発症機構を知る上で重要な情報を提供しており、学位審査委員会は本研究が学位に値するものと判断した。