

| | |
|---------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 学位授与番号 | 甲第1563号 |
| 学位授与年月日 | 平成15年3月25日 |
| 氏名 | 王 興 民 |
| 学位論文題目 | Genetic Analysis of Type E Botulinum Toxin-Producing <i>Clostridium butyricum</i> Strains (E型ボツリヌス毒素産生性ブチリカム菌の分子遺伝学的解析) |
| 論文審査委員 | 主 査 教 授 吉 本 谷 博 副 査 教 授 市 村 宏 教 授 山 本 博 |

内容の要旨及び審査の結果の要旨

ボツリヌス毒素は、ボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*) 以外の細菌によって産生される場合がある。E型ボツリヌス毒素産生性ブチリカム菌 (Type E botulinum toxin-producing *Clostridium butyricum*) はイタリアでの乳児ボツリヌス症において1986年に初めて分離された。著者等は本菌がボツリヌス食中毒の原因菌となりえること、および本菌が土壌に存在することを世界で最初に報告した。本研究では、ボツリヌス毒素遺伝子塩基配列の決定、random amplified polymorphic DNA (RAPD) プロファイル、パルスフィールドゲル電気泳動 (pulsed field gel electrophoresis, PFGE) およびサザンブロッティングにより、中国食中毒由来株、中国微山湖土壌由来株およびイタリア乳児ボツリヌス症由来株を分子遺伝学的に解析した。成績は以下のように要約される。

(1) 中国由来ブチリカム菌 11 株のE型ボツリヌス毒素遺伝子の塩基配列は全て同一であり、ボツリヌス菌E型毒素およびイタリア由来ブチリカム菌E型毒素と比較したところ、アミノ酸レベルでの同一性はそれぞれ 96.9%、95.0%であった。

(2) RAPD プロファイルにより毒素産生性ブチリカム菌はイタリア由来株、中国食中毒由来株、微山湖土壌由来株の3つのクラスターに分別された。毒素非産生性ブチリカム菌株はいずれの毒素産生性株とも異なるプロファイルを示した。

(3) 制限酵素 *Sma*I および *Xho*I を用いて各被験菌株のゲノム DNA を処理した PFGE を用いた解析では、RAPD アッセイと同様に、毒素産生性株はイタリア由来株、中国食中毒由来株、微山湖土壌由来株の3つのクラスターに分別された。各クラスター内ではさらにサブクラスターに分別された。

(4) PFGE 後のサザンブロット解析の結果、毒素遺伝子が位置する断片によって、RAPD および PFGE と同様に被験菌株は3つのクラスターに分別された。また、毒素遺伝子は全ての菌株において染色体上に存在することが明らかとなった。

以上の結果は、異なる遺伝学的背景を持つE型ボツリヌス毒素産生性ブチリカム菌株がそれぞれ特定の地域に分布していることを示している。

本研究は、ボツリヌス食中毒を起こす新たな病原菌であるE型ボツリヌス毒素産生性ブチリカム菌の分子遺伝学特性を明らかにしたものであり、ボツリヌス食中毒の疫学、予防および治療に寄与する労作と評価された。