

C,difficileが産生する赤血球凝集活性を欠くトキシシンAの性状解析

著者	神谷 茂
著者別表示	Kamiya Shigeru
雑誌名	平成2(1990)年度 科学研究費補助金 一般研究(C) 研究課題概要
巻	1990
ページ	2p.
発行年	2016-04-21
URL	http://doi.org/10.24517/00067345



C,difficileが産生する赤血球凝集活性を欠くトキシンAの性状解析

Research Project

All



Project/Area Number

02670178

Research Category

Grant-in-Aid for General Scientific Research (C)

Allocation Type

Single-year Grants

Research Field

細菌学

Research Institution

Kanazawa University

Principal Investigator

神谷 茂 金沢大学, 医学部, 講師 (10177587)

Co-Investigator(Kenkyū-buntansha)

山川 清孝 金沢大学, 医学部, 助手 (20110629)

Project Period (FY)

1990

Project Status

Completed (Fiscal Year 1990)

Budget Amount *help

¥2,100,000 (Direct Cost: ¥2,100,000)

Fiscal Year 1990: ¥2,100,000 (Direct Cost: ¥2,100,000)

Keywords

C.difficile / トキシンA / 赤血球凝集活性 / 変異型トキシン / アフィンティクロマトグラフィ- / イムノプロットティング / 腸管毒性

Research Abstract

Clostridium difficile培養上清をモノQカラムを用いたFPLCにより分析した結果、トキシンA(エンテロトキシン)画分の細胞毒性ピークと赤血球凝集(HA)活性ピークとが分離することがわかった。Step-wiseのNaCl溶出実験により、この分離は溶出時のNaCl濃度差に基づくものではないことが明らかにされ、C.Difficileの培養上清中にはHA活性を

欠く変異型トキシンAが存在することが示唆された。培養上清のサイログロブリンアフィニティマトグラフィ-素通り画分(HA活性陰性)を用いてQセファロ-スFF及びモノQ-FPLCを行ない変異型トキシンAを精製した。未変性及びSDS-PAGEの結果、変異型トキシンAの分子量はHA活性をもつトキシンAと同じく未変性状態で540kDa、変性状態で240kDa(主バンド)であった。トキシンAに対するモノクロナル抗体を用いたSDS-PAGE後のイムノプロットングにより、変異型トキシンAの240kDaの主バンドはトキシンAと同様に抗体と強く反応することが明らかにされた。また還元時、160kDaのマイナーバンドが変異型トキシンAに比ベトキシンAで強く検出された。変異型トキシンAの生物活性をトキシンAのそれと比較した。変異型トキシンAはトキシンAと同程度の細胞毒性、マウス致死毒性、腸管毒性(ウサギ結紮腸管試験による)をもつことが明らかにされた。キモトリプシンを含まないトリプシン(Type XIII)を用いて酵素処理をしても、変異型トキシンAのHA活性が回復されたり、トキシンAのHA活性が消失するようなことはなかった。トキシンAのHA活性の生物学的意義は未だ明らかにされていないが、本トキシンの腸管上皮細胞への結合の際に重要な役割をなすものと考えられている。しかし今回得られた結果は、トキシンAのHA活性は腸管毒性の発現に必要なでないことを示唆している。

Report (1 results)

1990 Annual Research Report

Research Products (6 results)

All Other

All Publications (6 results)

- [Publications] S.Kamiya: "Recovery of spores of Clostridium difficile altered by heat or alkali" urnal of Medical Microbiology. 29. 217-221 (1989) ▼
- [Publications] S.Kamiya: "Purification and Characterisation of Clostridium difficile toxin A by bovine thyroglobulin affinity chromatography and dissociation in denaturing conditions with or without reduction" Journal of Medical Microbiology. 30. 69-77 (1989) ▼
- [Publications] S.Kamiya: "Modification of purification method for Clostridium difficile toxin A by thyroglobulin affinity chromatography and characterization of the purified toxin A" Japanese Journal of Medical Science and Biology. 42. 186-187 (1989) ▼
- [Publications] S.Kamiya: "Detection of variant toxin A without haemagglutination activity of Clostridium difficile, and analysis of its biochemical and biological characteristics" Japanes Journal of Medical Science and Biology. ▼
- [Publications] S.Kamiya: "Detection and characterisation of a non-haemagglutinating form of Clostridium difficile toxin A" Infection and Immunity. ▼
- [Publications] S.Kamiya: "Purification and biological characterisation of a non-heamaggluti-nating form of Clostridium difficile toxin A" Journal of Medical Microbiology. ▼

URL: <https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-02670178/>

Published: 1990-03-31 Modified: 2016-04-21