

ふりがな はせがわ ひろゆき  
氏名 長谷川裕之  
学位 博士(農学)  
学位記番号 新大院博(農)第72号  
学位授与の日付 平成19年3月22日  
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当  
博士論文名

精密濾過膜を自力でくぐり抜ける動的細菌活性の研究

論文審査委員  
主査 教授 仲川洋治  
副査 教授 星野力  
副査 教授 大山卓爾  
副査 助教授 城斗志夫

#### 博士論文の要旨

メンブレンフィルターの上で増殖させた細菌は、自らが持つ侵入活性によってメンブレンの下へ通り抜ける。枯草菌、黄色ブドウ球菌、肺炎桿菌、大腸菌はポアサイズ 0.45  $\mu\text{m}$  メンブレンフィルターを 48-96 時間かけて通り抜けた。緑膿菌、霊菌、リステリア菌はポアサイズ 0.3  $\mu\text{m}$  メンブレンフィルターを通過し、通り抜けた。緑膿菌はポアサイズ 0.22  $\mu\text{m}$  メンブレンフィルターを通過し、通り抜けた。細菌が通り抜けたメンブレンフィルターは正常なバブルポイント圧を示しており、損傷は見られなかった。また、使用した全ての菌株は短時間の加圧濾過の場合、濾液から菌の検出はなかった。セラチア菌の変異株の調査から、鞭毛依存性の運動能や界面活性脂質の存在がメンブレンフィルターの通り抜けには重要であることが分かった。また、リステリア菌はポアサイズ 0.45  $\mu\text{m}$  メンブレンフィルターを 24 時間かけて通り抜け、ポアサイズ 0.2  $\mu\text{m}$  メンブレンフィルターを 5-6 日間かけて通り抜けた。リステリア菌の鞭毛欠損株はポアサイズ 0.45  $\mu\text{m}$  メンブレンフィルターを 84 時間かけて通り抜け、ポアサイズ 0.2  $\mu\text{m}$  メンブレンフィルターでは 5-6 日間かけて通り抜けた。ポアサイズが大きいときは鞭毛が機能できるが、ポアサイズが小さいときは機能できないようであった。鞭毛による運動と、菌の増殖の際に拡大しようとする集団圧がメンブレンフィルターのような網状構造物に侵入するための原動力になっていると考えられる。このことは、走査型電子顕微鏡像からも、細菌がポアサイズ 0.22  $\mu\text{m}$  メンブレンフィルターを通過し、通り抜けることを示していた。

また、トゥイッチング活性を示さない緑膿菌 PAO1 C 株は、ポアサイズ 0.22  $\mu\text{m}$  メンブレンフィルターを通過し、通り抜けることはできなかった。緑膿菌 PAO1 T 株の同系の突然変異株を調べたところ、鞭毛欠損株はポアサイズ 0.45  $\mu\text{m}$  メンブレンフィルターの通り抜けに親株の倍の時間を要した。しかし、ポアサイズ 0.22-0.3  $\mu\text{m}$  メンブレンフィルターの通り抜け時間に明らかな差は見られなかった。一方、トゥイッチング活性を示さないタイプ IV 線毛欠損株はポアサイズ 0.22  $\mu\text{m}$  メンブレンフィルターを通過し、通り抜けることはできなかった。この株は、形質転換によってタイプ IV 線毛を回復させることで、ポアサイズ 0.22  $\mu\text{m}$  メンブレンフィルターの通り抜けを回復した。このように、細隙侵入に緑膿菌のタイプ IV 線毛も関与していることが明らかになった。

## 審査結果の要旨

本論文はメンブレンフィルター上で増殖させた細菌は自らが持つ侵入活性によってメンブレンフィルターの下へ通り抜けることを述べている。しかし、普通の使用方法で、菌を短時間で加圧濾過した場合は、濾液からの菌の検出はなかった。細菌が通り抜けたメンブレンフィルターは正常なバブルポイント圧を示しており、損傷は見られなかった。セラチア菌の変異株の調査から、鞭毛依存性の運動能や界面活性脂質の存在がメンブレンフィルターの通り抜けには重要であることを示した。鞭毛による運動と、菌の増殖の際に拡大しようとする集団圧がメンブレンフィルターのような網状構造物に浸入するための原動力になっていると考えられる。このことは、走査型電子顕微鏡像からも立証された。また細隙侵入に緑膿菌のタイプ IV 線毛が関与していることも明らかにしている。

本研究で見いだされた現象はメンブレンフィルターの問題だけに留まらない。自然界には、動植物の組織や土壌中にメンブレンフィルターに似た網状構造の環境が多種あり、メンブレンフィルターは、微生物の侵入活性の研究にとって非常に有益なツールともなる。

よって、本論文は博士（農学）の博士論文として十分であると認定した。