

腸炎ビブリオO6のリポ多糖(LPS)に見出されるTBA反応陽性物質とLPSの糖鎖構造の解析

○一色恭徳¹、橋井則貴¹、井口毅裕²、久恒和仁¹、近藤誠一¹
¹城西大・薬・病原微生物、²城西大・薬・医療栄養

腸炎ビブリオは12種類のO抗原型に分類され、それらのO抗原は本菌の内毒素すなわちリポ多糖(LPS)の糖鎖構造によって決定される。衛生行政上重要な意味を持つO抗原の型別試験は現在も菌体凝集反応によって行われている。しかし、腸炎ビブリオの複雑なO抗原構造から、その凝集反応では型別が困難なO-untypable株が数多く分離され、本菌感染症のサーベイランス活動の支障となっている。従って、腸炎ビブリオのO抗原構造を発現するLPS分子上のエピトープを明らかにすることが課題とされる。本研究では、腸炎ビブリオO6 LPSに特異的に見出される2-チオバルビツール酸反応に陽性を示す未同定物質(TBA-P)の分離・同定を行い、さらに、そのLPS全糖鎖構造について検討した。

TBA-Pは弱酸処理によってLPSから遊離する。そこで、*Vibrio parahaemolyticus* O6:K18 (V89-129)から分離したLPSの酢酸加水分解物のゲル濾過を行った。その結果、LPS多糖部に次いでTBA-Pが単糖画分付近に溶出された。得られたTBA-P画分のNMRおよびGC-MS分析から、TBA-PはKdoであることが示唆された。すなわち、腸炎ビブリオO6のLPSは、すべての血清型のLPSに共通して存在することが知られる内部コア部分のリン酸化Kdoの他に、多糖部構成糖としてKdoを持っていることが示唆された。さらに、同LPSからTBA-Pとして見出されたKdoが実際にLPSの構成糖質であることを確認するために、LPS多糖部の糖鎖構造を解析した。TBA-Pを分離する際に得られたLPS多糖部とLPSをアルカリ分解することによってリポドA部分の脂肪酸を除いたLPS全糖鎖のFAB-MS分析を行った。その結果、O6 LPSの糖鎖部分はGlc、Gal、GlcNAc、GlcA、リン酸化Kdo(Kdo-P)および2分子のL,D-HepにリポドAバックボーンであるGlcN2糖からなる9糖を基本構造とし、それに加えて、少なくとも4分子のリン酸と1分子のethanolamineを有していた。しかし、TBA-Pとして見出されたKdoが腸炎ビブリオO6 LPSの多糖部に存在することを示す結果は得られなかった。

今後、腸炎ビブリオO6 LPSに特異的な構成糖と思われるTBA-PのLPS分子上の局在をより詳細に解析する。