

# A Latex Agglutination Assay for the Detection of Panton-Valentine Leukocidin

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2011-03-20 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 大石, 金成 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://jair.repo.nii.ac.jp/records/2001171">https://jair.repo.nii.ac.jp/records/2001171</a>

順天堂大学 博士(医学)

氏名 大石 金成

論文題目 A Latex Agglutination Assay for the Detection of Panton-Valentine Leukocidin

(ラテックス凝集法による Panton-Valentine Leukocidin の検出方法)

#### 論文内容の要旨

Panton-Valentine Leukocidin (PVL) は黄色ブドウ球菌が産生する白血球崩壊毒素である。近年、この毒素を産生する黄色ブドウ球菌 (特に MRSA) は、市中感染症における重篤化の因子として注目されている。現在、PCR 法により pvl 遺伝子の有無を検定する方法、そして PVL 毒素を検出する免疫学的方法が行われている。免疫学的方法は、PVL 毒素タンパクを直接定量できる点で PCR 法よりも有用な情報が得られるが、従来法は、特異性や測定の煩雑さなどの問題点を含んでいたため、必ずしも有効ではなかった。本研究では、PVL に対する特異抗体を新たに作製し、逆受身ラテックス凝集反応による免疫学的測定法を開発した。免疫抗原として PVL を構成する 2 成分 (LukS-PV, LukF-PV) の遺伝子組換え体を作製し、得られた組換え蛋白をウサギに免疫し、それぞれに対する抗血清を得た。得られた抗血清を評価した結果、黄色ブドウ球菌が産生する類縁毒素 (α-hemolysin, LukED) に対する交差反応性を有していたため、類縁毒素組換え蛋白を用いてアフィニティーカラムを作製し、抗血清に含まれる類縁毒素反応成分を吸収する事によって、特異ウサギポリクローナル抗体の作製を試みた結果、目的蛋白のみに結合し、類縁毒素に結合しない特異抗体をそれぞれ作製することに成功した。次に、得られた特異抗体を用いて、PVL 検出用ラテックス試薬を作製しその評価を行った。臨床分離された黄色ブドウ球菌の pvl 遺伝子保有を PCR 法により確認し、その株の培養上清中の PVL を本開発試薬で測定したところ、各分離株の pvl 遺伝子の有無と良好な相関結果:感度 100% (35 / 35), 特異性 100% (29 / 29) を得た。また、検出感度は約 1 ng / mL であった。本 PVL 測定方法は、感度、特異性に優れており、臨床分離黄色ブドウ球菌の PVL 産生性を確認するための簡便で有用な検査法を提供することができる。また、本方法は半定量的な測定が可能であり、本論文により各菌株によって PVL の産生量が異なっていることを明らかとした。本研究の成果により、各種条件下における PVL 産生性に関する検討や PVL と病原性の関連性の解明に寄与できるものと考えられる。