

<学会記録>7.Porphyrromonas gingivalisの検出と定量のための新しいprimerについて(東日本歯学会第19回学術大会 一般講演抄録)

著者名(日)	鎌口 有秀, 鈴木 真由美, 安彦 善裕, 荒川 俊哉, 宮川 博史, 田隈 泰信, 賀来 亨, 馬場, 久衛
雑誌名	東日本歯学雑誌
巻	20
号	1
ページ	108
発行年	2001-06-30
URL	http://id.nii.ac.jp/1145/00008612/

験管内では共凝集として観察できる。我々は *P. gingivalis* は *Prevotella intermedia* と共凝集すること、またこれには *P. gingivalis* の *rgp A* 遺伝子産物が関与する可能性を示唆してきた。しかし、これらの共凝集の機構については明確にできていない。今回は *P. gingivalis* の変異株と *rgp A* 遺伝子産物の HGP44 について検討を行った。

【方法】*P. gingivalis* ATCC 33277 とその変異株, KD-P112 (*rgp A::Em, rgpB::Tc*), KDP129 (*kgp::Cm*), KD-P134 (*rgpA::Em, kgp::Cm*), KDP136 (*rgpA::Em, rgpB::Tc, kgp::Cm*), KDP98 (*fim A* mutant) と *P. intermedia* ATCC 25611 との共凝集を比較した。*rgp A* の種々の長さの DNA fragment を pGEX 6P3 に組み込み GST との融合タンパク質として発現し *P. intermedia* の結合性を検討した。

【結果および考察】*P. gingivalis* ATCC 33277 とその変異株による共凝集の結果、*rgp A* の産物が関与し、*kgp* 産物や *fim A* 線毛は殆ど関与しないことがわかった。*rgp A* 産物の C 末端領域の付着因子ドメインは HGP44, HGP15, HGP17, HGP27 より成り、各ドメインの融合タンパク質に対して *P. intermedia* が結合することを観察した。HGP44 は HGP15, 17, 27 とアミノ酸配列の共通部分をもつことがこれらの理由の 1 つとして考えられた。そこで、HGP44 の前半部分と後半部分の断片を GST との融合タンパク質として発現し、*P. intermedia* の結合性をみたが、両断片に対して結合がみられた。以上のことより HGP44 も共凝集に関与する成分の 1 つであることが強く示唆された。

(会員外共同研究者：中山浩次 (長崎大・歯))

7. *Porphyromonas gingivalis* の検出と定量のための新しい primer について

○鎌口 有秀, 鈴木真由美, 安彦 善裕*,
荒川 俊哉**, 宮川 博史, 田隈 泰信**,
賀来 亨*, 馬場 久衛

(北海道医療大学歯学部口腔細菌学講座・*北海道医療大学歯学部口腔病理学講座・
**北海道医療大学歯学部口腔生化学講座)

【目的】特定の細菌の細菌数を測定するには一般には検体を培養後、同定作業を行う。この間多くの時間を必要とする。しかし、菌種特異性の高い primer を用いることにより PCR にて検出および定量が可能となりつつある。近年 *P. gingivalis* も 16Sr RNA gene に対する primer を用い検出と定量が検討されている。しかし、*P. gingivalis* の他の遺伝子を標的としても定量が可能と考えられるので *P. gingivalis* の特異的な成分の遺伝子に対する primer を用いて検討した。

【方法】*P. gingivalis* ATCC 33277 を培養後、菌数を測定し、その一定量から DNA を抽出し template とした。定量用の primer pair として下記のものを作製した。(1) *rgp A*, *kgp*, *hag A* の共通部分の primer pair (537bp),

(2) *rgp A* の protease 領域内の 3 種の primer pair (418 bp, 327bp, 321bp)。

【結果および考察】(1) の primer pair では複数のバンドがみられた。これは *hag A* において近接する 4 つの共通領域があるためと思われた。(2) のうち 2 つの primer pair では PCR 産物の melting curve は 2 峰性となり副生成物がみられたが、1 つは melting curve も単峰性であり定量に有効な primer pair であることがわかった。また、この primer pair は *Prevotella intermedia*, *P. nigrescens* 等とは反応はみられない。以上のことより *P. gingivalis* の *rgp A* の protease 領域の一部を増幅する primer pair を用いて定量できることがわかった。