

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月24日現在

機関番号：33916
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2008～2012
 課題番号：20590459
 研究課題名（和文） 毒素原性大腸菌の病原プラスミド水平伝播の分子生物学的・分子疫学的解析
 研究課題名（英文） Molecular biology and epidemiological analysis of Ent plasmid transmission in Enterotoxigenic *Escherichia coli*.
 研究代表者
 越智 定幸（OCHI SADAYUKI）
 藤田保健衛生大学・医学部・准教授
 研究者番号：80268705

研究成果の概要（和文）：毒素原性大腸菌のプロトタイプ菌株である H10407 株の病原プラスミド（pEntH10407）の全塩基配列を決定した。解析の結果、pEntH10407 は、病原性に関連する領域、プラスミド複製やメンテナンスに関連する領域、そして、接合伝達に関連する *tra* 遺伝子群の領域の 3 つの異なる機能領域から構成されていることが明らかになった。H10407 株は、pEntH10407 の接合伝達能が関連して病原性を獲得した可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：The complete nucleotide sequence was determined for an Ent plasmid (pEntH10407) in enterotoxigenic *Escherichia coli* H10407. Sequence analysis indicated that pEntH10407 contains three distinct major regions: (i) a pathogenicity islet containing enterotoxin genes, (ii) a region involved in plasmid replication and maintenance, and (iii) a region including *tra* genes that cause the self-transmissibility. This raises possibility that the H10407 strain might have been born by self-transmissibility of pEntH10407.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：細菌学

科研費の分科・細目：基礎医学・細菌学（含真菌学）

キーワード：病原細菌・プラスミド

1. 研究開始当初の背景

下痢患者から単離される毒素原性大腸菌（ETEC）の Ent プラスミドには易熱性エンテロトキシン（LT）、及び、耐熱性エンテロトキシン（ST）の両毒素がコードされている場合と、いずれか一方の毒素がコードされる場合がある。ヒトの下痢症患者から分離された ETEC の H10407 株は、多くの研究者により研究されてきた ETEC 菌株の一つで、Ent

プラスミドと病原性の関連性が最も理解されている菌株の一つである。ETEC H10407 株の Ent プラスミドは、LT と ST の両方のエンテロトキシンをコードするプラスミドで、LT、ST のコード領域の塩基配列と構造が明らかにされている。また、この Ent プラスミドは、接合による自己水平伝達能がなく、別の接合性プラスミドの存在下で他の菌へ水平伝搬されることが実験的に証明されて

いる。この研究結果は、Ent プラスミドが非病原菌、あるいは、他の病原菌へ水平伝搬され、新たな下痢原因菌が誕生する危険性を警告している。しかしながら、Ent プラスミドの水平伝搬による病原因子の拡散に関する調査研究報告はなく、接合性プラスミド共存下における Ent プラスミドの水平転移機構についても詳細は不明である。また、LT、あるいは、ST のみをコードする Ent プラスミドにおいては、接合能の有無、あるいは、伝達性の有無についても明らかではない。さらに、Ent プラスミドが薬剤耐性遺伝子を有する報告もあるが、その一般性については不明である。エンテロトキシン遺伝子をコードする Ent プラスミドが ETEC による下痢症、及び、病原因子の拡散に重要な役割を演じていると認識されているにもかかわらず、種々の疑問点を解明するための Ent プラスミドの分子レベルでの解析研究は乏しい現状にある。ETEC の Ent プラスミドと病原性の関連性が最も良く理解されている菌株に H10407 株がある。H10407 株は、ETEC のプロトタイプ菌株で、バングラディッシュのヒト下痢症患者から単離された菌株である。本菌株は、病原性に密接に関連する LT と ST の両エンテロトキシンを産生し、宿主に下痢を引き起こすことが明らかにされている。また、これらエンテロトキシンは、Ent プラスミド上にコードされることが示された。さらに、この Ent プラスミドは、自己水平転移能を有さず、自力では他の細菌宿主へ転移しないことが報告された。私は、ETEC 菌株のうち、病原性と Ent プラスミドに関して研究報告の多い ETEC H10407 株に注目、本菌株の Ent プラスミドの全塩基配列の決定に着手し、その配列決定と解析が進行中である。H10407 株の Ent プラスミド上には、以前の報告に一致して LT と ST の両エンテロトキシンがコードされていた。また、予備的なアノテーションにおいて、LT と ST のコード領域周辺には多数のトランスポゾンが散在して検出された（未公開データ）。さらに、本プラスミド上には接合転移関連タンパク質群 (Tra) が見出された（未公開データ）。

一方、下痢症患者から単離される ETEC 中の Ent プラスミドは、その分子量に多様性が報告されている。この多様性は、地理的に異なる場所でそれぞれの Ent プラスミドが分子進化のプロセスを経て遺伝学的に進化した結果と考えられるが、如何なる遺伝学的進化の相違が多様性の原因となっているのかは不明である。これらを明らかにするためには、Ent プラスミドの分子レベルでの比較解析が有用と考えられるが、その比較解析において利用可能な基準となる Ent プラスミドの全塩基配列、及び、その配列解析情報が存在しない。ETEC の Ent プラスミドの基準と

なる全塩基配列とその解析情報は、本菌の分子生物学的病原性、そして、疫学解析において重要な基盤情報になると考えられる。

2. 研究の目的

World Health Report 2003 として WHO によって報告された世界の死因統計で微生物感染症は、第 1 位の死因となっている。下痢症は、その微生物感染症のうち、肺炎、AIDS について多い感染性疾患である。ETEC による下痢症は、発展途上国での小児下痢症として多発している。先進国でも旅行者下痢症として知られ、その下痢症の原因の 30~60% が ETEC であると報告されている。ETEC の下痢因子である LT、そして、ST が Ent プラスミドにコードされることから、本菌の病原性には Ent プラスミドが関連することが示されている。各地で単離される ETEC の疫学的解析において、病原論的な解析に Ent プラスミドの比較解析が重要であると考えられているが、これまで Ent プラスミドの全塩基配列は解読されていないため、基準となる配列情報が存在しない。これは、ETEC の Ent プラスミドの分子疫学解析が進まない大きな原因となっている。一方、プラスミドには、自己転移能を有するものも存在し、これがプラスミドのコードする種々の形質の伝播に役割を演じている。その形質に病原因子が含まれる場合、病原性の伝播につながる。このことから、Ent プラスミドの自己水平転移能の有無は、病原性伝播に直接関連するため重要である。しかしながら、Ent プラスミドの自己水平転移に関連する因子に関する分子生物学的情報はなく、その詳細は不明である。そこで、本研究では、ETEC の病原性について良く研究され、ETEC プロトタイプ菌株である H10407 株の Ent プラスミドの全塩基配列を決定、そして、配列解析する。また、H10407 株が単離された地域とは地理的に異なる地域において、ETEC 菌株を単離し、その Ent プラスミドの全塩基配列を決定、それを H10407 株の塩基配列と比較することにより、Ent プラスミド間の異同、そして、特徴を明らかにする。また、配列決定された Ent プラスミドにおいて、自己水平転移関連分子のコードの有無を調べ、ETEC の病原性伝播性について明きからにする。

3. 研究の方法

(1) 毒素原性大腸菌の分離

便検体中の細菌を BTB 寒天培地で培養し、形成されるコロニーを DHL 寒天培地に接種して培養した。疑わしいコロニーを釣菌し、各種生化学試験を行った。

(2) Ent プラスミドの分離

Luria-bertani (LB) broth で培養した ETEC をアガロースゲルに包埋し、リゾチーム、サルコシン、プロテイナーゼ K で処理してアガロースプラグを調製した。得られたアガロースプラグ中の DNA は、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) により分離した。

(3) Ent プラスミドの塩基配列の決定

ETEC のプラスミドは、Kado と Liu の方法に準じて菌体から抽出した。パルスフィールドゲル電位泳動 (PFGE) で分画された Ent プラスミドを Tn5 (カナマイシン耐性遺伝子を含む) でトランスポジションにより標識し、形質転換された大腸菌 JM109 から標識 Ent プラスミドを精製した。標識 Ent プラスミドを細断片化し、2 kb 付近の断片を平滑化してショットガンライブラリーを調製した。クローニングされた断片の塩基配列を決定した。解読された配列断片のアセンブル後に生じるギャップは、PCR によるギャップフィリングで閉鎖した。

(4) Ent プラスミドの接合伝達

供与菌として標識 Ent プラスミドで形質転換された DH5 α 、受容菌としては、ナリジクス酸耐性大腸菌 DH5 α 菌株を用いた。供与菌と受容菌を LB broth 中で混和した後、37°C で 12 時間インキュベーションした。インキュベーション後、培養液を選択寒天培地に塗布し、形成されるコロニー数から接合伝達頻度を算出した。

4. 研究成果

毒素原性大腸菌 H10407 株の Ent プラスミド (pEntH10407) の全塩基配列の決定を行った。標識 pEntH10407 (pEntH10407K) は、67,094 塩基対から成る環状プラスミドで、51.2% の平均 G+C 含量であった。決定された塩基配列をもとにタンパク質コード領域 (ORF) を推定し、その推定アミノ酸配列の相同検索解析からコードタンパク質を推定した。その結果、pEntH10407K は、100 個の ORF が存在し、3 つの異なる機能領域、すなわち、エンテロトキシン遺伝子が局在する病原性領域、プラスミド複製やメンテナンスに関与するプラスミド複製領域、そして、接合伝達遺伝子が存在する *tra* 領域から構成される機能モザイク様病原プラスミドであることが明らかになった。

pEntH10407K の病原性領域には LT、及び、ST の両エンテロトキシン遺伝子 (*eltAB* と *estIa*) が存在し、*eltAB* の上流には IS1 と IS600、*eltAB* と *estIa* の間には、ISEc8 様エレメント、*estIa* の下流には、IS1 が局在していた。また、これら IS 以外に *eltAB* と *estIa* の周辺にはトランスポザーゼ遺伝子が散在して存在していた。*eltAB* と *estIa* の平均 G+C 含量が 37.6% と 30.1% であり、大腸菌の平

均 G+C 含量 50.2% と比較して著しく低いことを考慮すると、pEntH10407 は、*eltAB* と *estIa* が大腸菌以外の他の細菌からトランスポジションの機序により転移して病原性プラスミドへ変化したと推察された。さらに、この病原性プラスミドへの変化が非病原性大腸菌から病原性大腸菌への変遷に寄与したと推察された。また、pEntH10407 の病原性領域は、その構造から、病原性アイリットを形成していると推察された。

pEntH10407K のプラスミドの複製領域には、IncFIIA プラスミドの複製やメンテナンスに関連するタンパク質が 16 個の ORF によってコードされていた。pEntH10407K の複製関連因子と推定された RepA1、RepA2、RepA3、RepA4、TapA は、IncFIIA プラスミド、R100 の対応するタンパク質に対して 54~100% のアミノ酸配列同一性を示した。また、9 bp の DnaA ボックスと複製オリジン (*oriR*) は、repA1 の下流に検出された。pEntH10407K の推定上の CopA アンチセンス RNA は、R100 の CopA アンチセンス RNA に対して 90% の塩基配列同一性を示した。このことから、pEntH10407 の宿主菌体内でのコピー数は、R100 のコピー数に類似して、1 個、あるいは、2 個であると推察された。

pEntH10407K には、低コピープラスミドの娘細胞への継承に必須のプラスミド分配システムが 3 種類存在していた。1 つは、Hok/Sok であり、R100 の Hok/Sok トキシン・アンチトキシンシステムに対して高いアミノ酸配列同一性を示した。次に、ParMRC も R100 のプラスミド分配システムである ParMRC に対して高い配列同一性を示した。残りの 1 つは、StbDE であり、ソネネ赤痢菌の pSS で発見された推定上のトキシン・アンチトキシンシステムである StbDE に対して高い配列同一性を示した。pEntH10407K の StbDE は、腸管病原性大腸菌の pB171、腸管出血性大腸菌の pO86A1 の StbDE に対しても高い配列同一性が認められた。これらのことから、pEntH10407 のこれらプラスミド分配システムは、宿主細胞内で機能的であると考えられ、宿主細胞内で Ent プラスミドの安定した保持に寄与していると推察された。

pEntH10407K の *tra* 領域は、典型的な *tra* 領域をもつ R100 プラスミドの *tra* 領域と比較すると、いくつもの *tra* 遺伝子が欠失していることから、不完全な *tra* 領域を形成していることが判明した。不完全な *tra* 領域において、*tra* 遺伝子の欠落している領域には ISEc8、そして、ISEc8 に高い相同性を示す ISEc8 様エレメントが挿入されていた。これら IS の挿入は、pEntH10407 の *tra* 領域における遺伝子再構成の痕跡と考えられ、これらの IS による遺伝子再構成が *tra* 遺伝子欠失の原因と推察された。また、pEntH10407K の

tra 領域が不完全な *tra* 領域を形成していることは、pEntH10407K の接合転移能が R100 のそれとは異なる可能性を示唆し、pEntH10407 には自己転移能がないと報告されている原因であると考えられた。

プラスミドの接合伝達の際には、*oriT* と呼ばれる領域で二本鎖 DNA にニックが入り、生じたプラスミド DNA の一本鎖が接合伝達される。そこで、pEntH10407K の *oriT* 領域の有無を調べた。その結果、*traM* の 463 塩基上流に *oriT* 配列が検出された。また、この領域は、他の接合伝達性プラスミドの *oriT* 領域の塩基配列が高度に保存され、R100 の *oriT* のニック領域の配列に完全に一致していることが判明した。

pEntH10407K の自己水平転移能について検討した。R100 の接合伝達頻度 (3×10^{-6}) に比較すると低頻度ではあるが、pEntH10407K は、 3×10^{-9} の頻度で接合伝達が観察された。この接合伝達は、接合伝達に必須の *traA* を欠失させた pEntH10407KΔ*traA* では完全に消失することから、pEntH10407K の自己水平転移は、不完全な *tra* 領域による接合が関与すること、そして、*traA* が必須であると推察された。

次に pEntH10407K と R100 の配列類似性を調べるため、ドットマトリックス解析を行った。その結果、pEntH10407K は、プラスミド複製領域、そして、*tra* 領域において、R100 に対して塩基配列類似性を有することが判明した。pEntH10407K と R100 の *tra* 領域間で配列類似性が認められない部分が存在したが、この部分は、*tra* 遺伝子が *ISEc8* と *ISEc8* 様エレメントに置き換わっている領域であった。一方、pEntH10407K の病原性領域では *IS1* 配列を除き、配列類似性は検出されなかった。これらのことから、pEntH10407 は、R100 配列をバックボーンとして、種々のトランスポゾンによるトランスポジションや組換えが起こり、特に、病原性領域でのこれらの現象が原因となって Ent プラスミドへ進化したと推察された。

以上から、pEntH10407 は、病原性領域、プラスミド複製領域、*tra* 領域の 3 つの異なる機能領域から構成されること、プラスミド複製領域と *tra* 領域の塩基配列が R100 に類似していること、そして、R100 配列をバックボーンとして病原性領域が形成されて Ent プラスミドへ進化したことが明らかになった。pEntH10407K の病原性領域以外に病原因子はコードされておらず、Ent プラスミドの病原性領域の多様性が、宿主菌の病原性の多様性に関係していると考えられた。また、pEntH10407K の自己水平転移能は、他の菌への病原性の転移に関与すると考えられ、病原性の伝播に関連する重要な機能であると推察された。

毒素原性大腸菌の下痢因子が Ent プラスミ

ドにコードされること、そして、Ent プラスミドの水平転移が病原因子の伝達であることから、Ent プラスミドの重要性が認識されていたが、Ent プラスミドの全塩基配列の決定、そして、その解析は報告されていなかった。本研究では、毒素原性大腸菌のプロトタイプ株であるヒト下痢症患者由来 H10407 株の Ent プラスミドの全塩基配列を決定し、その解析に基づいた Ent プラスミドの分子生物学的特徴を世界で初めて報告した。これまで毒素原性大腸菌の Ent プラスミドの分子疫学的比較解析のための基準となる情報が存在していなかったが、本研究で明らかにされた pEntH10407 の分子生物学的情報は、基準情報として有用である。これは、日本をはじめ、世界各国で発生する毒素原性大腸菌による下痢症において、分子疫学的比較解析、Ent プラスミドの病原学的解析を可能にする。これらの疫学的情報は、地理的に異なる地域で発生する毒素原性大腸菌下痢症を分子疫学的に分類し、そして、本下痢症の予防対策に有用な情報の提供につながると考える。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

① Masataka Oda, Manabu Hashimoto, Masaya Takahashi, Yuka Ohmae, Soshi Seike, Ryoko Kato, Aoi Fujita, Hideaki Tsuge, Masahiro Nagahama, Sadayuki Ochi, Teppei Sasahara, Shunji Hayashi, Yoshikazu Hirai and Jun Sakurai. Role of sphingomyelinase in infectious diseases caused by *Bacillus cereus*. PLoS One, 7(6), e38054 (2012), 査読有

DOI: 10.1371/journal.pone.0038054

② Masahiro Nagahama, Masataka Oda, Sadayuki Ochi, Keiko Kobayashi and Jun Sakurai. Role of phospholipid metabolism and G protein in the action induced by *Clostridium perfringens* alpha-toxin. J. Glycom. Lipidom., 2 (3), S3-001 (2012), 査読有

DOI: 10.4172/2153-0637.S3-001

③ Kentaro Tsukamoto, Hideyuki Arimitsu, Sadayuki Ochi, Keiji Nakamura, Yoshikazu Tanaka, Nipawan Nuemket, Koki Taniguchi, Shunji Kozaki and Takao Tsuji. P19 embryonal carcinoma cells exhibit high sensitivity to botulinum type C and D/C mosaic neurotoxins. Microbiol. Immunol., 56(10), 664-672 (2012), 査読有

DOI: 10.1111/j.1348-0421.2012.00490.x

④ Masahiro Nagahama, Masataka Oda,

Sadayuki Ochi, Keiko Kobayashi and Jun Sakurai. Recent insights into *Clostridium perfringens* alpha-toxin. Res. Adv. Infect. Immun., 1, 1-10 (2011), 査読有

<http://www.trnres.com/index.htm>

⑤ Sadayuki Ochi, Tohru Shimizu, Kaori Ohtani, Yoshio Ichinose, Hideyuki Arimitsu, Kentaro Tsukamoto, Michio Kato and Takao Tsuji. Nucleotide sequence analysis of the enterotoxigenic *Escherichia coli* Ent plasmid. DNA Res., 16 (5), 299-309 (2009), 査読有
DOI: 10.1093/dnares/dsp015

⑥ Hideyuki Arimitsu, Kentaro Tsukamoto, Sadayuki Ochi, Keiko Sasaki, Michio Kato, Koki Taniguchi, Keiji Oguma and Takao Tsuji. Lincomycin-induced over-expression of mature recombinant cholera toxin B subunit and the holotoxin in *Escherichia coli*. Protein Expr. Purif., 67(2), 96-103 (2009), 査読有

DOI: 10.1016/j.pep.2009.04.011

⑦ Masataka Oda, Takayuki Matsuno, Ryouta Shiihara, Sadayuki Ochi, Rieko Yamauchi, Yuki Saito, Hiroshi Imagawa, Masahiro Nagahama, Mugio Nishizawa and Jun Sakurai. The relationship between the metabolism of sphingomyelin species and the hemolysis of sheep erythrocytes induced by *Clostridium perfringens* a-toxin. J. Lipid Res., 49 (5), 1039-1047 (2008), 査読有

DOI: 10.1194/jlr.M700587-JLR200

⑧ Hideyuki Arimitsu, Yoshihiko Sakaguchi, Jae-Chul Lee, Sadayuki Ochi, Kentaro Tsukamoto, Yumiko Yamamoto, Shaobo Ma, Takao Tsuji and Keiji Oguma. Molecular properties of each subcomponent in *Clostridium botulinum* type B haemagglutinin complex. Microb. Pathog., 45 (2), 142-149 (2008), 査読有
DOI: 10.1016/j.micpath.2008.04.007

⑨ Takao Tsuji, Takeshi Shimizu, Keiko Sasaki, Kentaro Tsukamoto, Hideyuki Arimitsu, Sadayuki Ochi, Toshiyasu Shimizu, Koki Taniguchi, Masatoshi Noda, Paola Neri and Hiroshi Mori. A nasal vaccine comprising B-subunit derivative of Shiga toxin 2 for cross-protection against Shiga toxin types 1 and 2. Vaccine, 26 (17), 2092-2099 (2008), 査読有

DOI: 10.1016/j.vaccine.2008.02.034

⑩ Takao Tsuji, Takeshi Shimizu, Keiko Sasaki, Yoshiyasu Shimizu, Kentaro Tsukamoto, Hideyuki Arimitsu, Sadayuki

Ochi, Satoshi Sugiyama, Koki Taniguchi, Paola Neri, Hiroshi Mori. Protection of mice from Shiga toxin-2 toxemia by mucosal vaccine of Shiga toxin 2B-His with *Escherichia coli* enterotoxin. Vaccine, 26 (4), 469-476 (2008), 査読有
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X07013370>

[学会発表] (計14件)

① Hideyuki Arimitsu, Kentaro Tsukamoto, Sadayuki Ochi, Keiko Sasaki, Takao Tsuji, Carbohydrate structure of lincomycin activates lac promoter in *Escherichia coli*, The 47th Annual Joint Panel Meeting on Cholera and Other Bacterial Enteric Infections Panel: United States-Japan Cooperative Medical Science Program, 平成24年12月13日、千葉市

② 越智定幸、Martin Bundi、Sora Suka、有満秀幸、塚本健太郎、佐々木慶子、清水利康、一瀬休生、辻孝雄、ケニアのマンデラ東県で発生した下痢症アウトブレイクの原因菌の疫学調査、第48回日本細菌学会中部支部総会、平成24年11月9日、金沢市

③ 越智定幸、マーチン ブンディ、ソラスカ、嶺直幸、有満秀幸、塚本健太郎、佐々木慶子、清水利康、一瀬休生、辻孝雄、ケニア・マンデラ地方下痢症のアウトブレイクに関連する EAST1 遺伝子保有大腸菌、第85回日本細菌学会総会、平成24年3月28日、長崎市

④ Martin Bundi, Sadayuki Ochi, Gabriel Miringu, Angela Makumi, Sora Huka, Ernest Wander, Amina Galat, Victor Ager, Mwajuma Abubakar, David Mutonga, D. Langat, Hillary Limo, Z. Irura, Mohamed Karama, Takao Tsuji and Yoshio Ichinose, Enterotoxigenic *Escherichia coli* associated with a massive outbreak of gastrointestinal illness in Mandera, Kenya, 2nd KEMRI Annual Scientific & Health (KASH) Conference, 平成24年2月8日、Nairobi, Kenya

⑤ Hideyuki Arimitsu, Sadayuki Ochi, Kentaro Tsukamoto, Keiko Sasaki and Takao Tsuji, Lincomycin-induced overexpression method of mutant Shiga toxin-2 for vaccine antigen, The 46th Annual Joint Panel Meeting on Cholera and Other Bacterial Enteric Infections Panel: United States-Japan Cooperative Medical Science Program, 平成23年12月14日、Kolkata, India

⑥ Hideyuki Arimitsu, Kentaro Tsukamoto, Sadayuki Ochi, Keiko Sasaki, Michio Kato

and Takao Tsuji, Over-expression methods of shiga toxin 1, shiga toxin 2 and their mutants in *Escherichia coli* for evaluating toxoid vaccine、第 84 回 日本細菌学会総会、平成 23 年 9 月 7 日、札幌市
⑦ Kentaro Tsukamoto, Nipawan Nuemket, Yoshikazu Tanaka, Hideyuki Arimitsu, Sadayuki Ochi, Keiji Nakamura, Shunji Kozaki, Isao Tanaka and Takao Tsuji, Structure and activity of receptor binding domain of *Clostridium botulinum* D/C mosaic neurotoxin、第 84 回 日本細菌学会総会、平成 23 年 9 月 7 日、札幌市

⑧ Sadayuki Ochi, Tohru Shimizu, Kaori Ohtani, Yoshio Ichinose, Hideyuki Arimitsu, Kentaro Tsukamoto, Michio Kato, Toshiyasu Shimizu and Takao Tsuji, Analysis of the transfer and plasmid maintenance regions of the enterotoxigenic *Escherichia coli* Ent plasmid pEntH10407, The 45th Annual Joint Panel Meeting on Cholera and Other Bacterial Enteric Infections Panel: United States-Japan Cooperative Medical Science Program、平成 22 年 12 月 7 日、京都市

⑨ 越智定幸、清水 徹、大谷 郁、有満秀幸、塚本健太郎、佐々木慶子、加藤道夫、一瀬休生、辻 孝雄、毒素原性大腸菌 H10407 株 Ent プラスミドの機能領域の配列解析、第 57 回トキシシンポジウム、平成 22 年 7 月 14 日、長浜市

⑩ 越智定幸、有満秀幸、塚本健太郎、大谷 郁、Neri Paola、佐々木慶子、加藤道夫、一瀬 休生、清水 徹、辻 孝雄、毒素原性大腸菌 H10407 株 Ent プラスミドの接合伝達領域、第 46 回 日本細菌学会中部支部総会、平成 21 年 10 月 23 日、名古屋市

⑪ Hideyuki Arimitsu, Kentaro Tsukamoto, Sadayuki Ochi, Keiko Sasaki, and Takao Tsuji, Construction of lincomycin-induced expression system of cholera toxin B subunit in *Escherichia coli*, The 43th Joint Meeting of the US-Japan Cholera and other Bacterial Enteric Infections Panel、平成 20 年 11 月 18 日、福岡市

⑫ 越智定幸、有満秀幸、塚本健太郎、大谷 郁、佐々木慶子、加藤道夫、清水 徹、辻 孝雄、毒素原性大腸菌 H10407 株 Ent プラスミドの塩基配列解析、第 45 回 日本細菌学会中部支部総会、平成 20 年 10 月 17 日、金沢市

⑬ 越智定幸、有満秀幸、塚本健太郎、大谷 郁、佐々木慶子、清水 徹、辻 孝雄、毒素原性大腸菌 H10407 株 Ent プラスミドの全塩基配列決定と解析、第 20 回微生物シンポジ

ウム、平成 20 年 9 月 3 日、岐阜市
⑭ 越智定幸、有満秀幸、塚本健太郎、大谷 郁、佐々木慶子、加藤道夫、清水 徹、辻 孝雄、第 55 回毒素シンポジウム、平成 20 年 7 月 3 日、南都留郡

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

越智 定幸 (OCHI SADAYUKI)
藤田保健衛生大学・医学部・准教授
研究者番号：80268705

(2) 研究分担者 ()

研究者番号：

(3) 連携研究者 ()

研究者番号：