

審 査 結 果 の 要 旨

論文題目 「サル寄生病原アメーバの全ゲノム解析による宿主特異性関連分子の探索」

学位申請者 田中 政之

本論文は、マカク属のサルに感染している赤痢アメーバ *Entamoeba nuttalli* の全ゲノム配列を、DNA シークエンサーおよび計算機を使った配列解析によって高精度に決定し、その遺伝子レパートリーの解析と他の *Entamoeba* 種のゲノムとの比較解析を通じて、赤痢アメーバの宿主特異性に関わる分子の探索を行った研究である。

ヒトの腸管に寄生し大腸炎や肝膿瘍の原因となる赤痢アメーバ *Entamoeba histolytica* は、ヒト以外の霊長類にも感染すると考えられてきたが、マカク属のサルに自然感染しているのは別種の *E. nuttalli* であることが最近明らかになった。そこで申請者らは、両者のゲノム比較を行うことで、赤痢アメーバの宿主特異性を決める因子を明らかにすることをめざした。

Entamoeba 種のゲノム DNA は AT リッチであり、反復配列も多いため、高精度のゲノム配列を得ることは困難が予想された。しかし本研究ではロングリード型およびショートリード型の DNA シークエンサーを併用し、両者の配列データをアセンブルすることによって、従来よりも高精度のゲノム配列データを作成することに成功した。最終的に得られたゲノムアセンブリは総塩基長 23Mb であり、395 本のコンティグから成る。

次に、得られたゲノム配列のバイオインフォマティクス解析により、*E. nuttalli* の遺伝子カタログを作成した。その結果、予測遺伝子が 9,647 個同定され、この中には *E. histolytica* 特異的リピートとして知られる *ERE2* も含まれていた。また、Gene Ontology エンリッチメント解析の結果、AIG1 ファミリータンパク質などの Integral membrane components および BspA 様タンパク質などの Small GTPase mediated signal transduction に関連するタンパク質が有意に多いことが判明した。

さらに、宿主特異性に関わる分子の同定をめざし、*E. nuttalli* の種特異的な細胞表面タンパク質を探索した結果、8 アミノ酸残基の 42 回反復配列を含むユニークな新規膜表面タンパク質 PTORS を同定した。PTORS はリン酸化や O 型グリコシル化などの翻訳後修飾を受けることが示唆された。また、PTORS に対する抗体を作成し免疫蛍光染色を行ったところ、*E. nuttalli* 特異的に細胞膜表面で発現していることが確認できた。寄生虫においてリピート含有タンパク質は接着や侵入など宿主との相互作用に関与していることが知られており、PTORS の宿主特異性への関連が示唆された。

本論文の発表に対して、各審査委員から次のような質疑がなされた。

1. 赤痢アメーバの染色体の本数や倍数性などのゲノム構成はどうなっているか
2. ゲノム配列のコンティグを作成する際にパラメータ設定はどのように決めたか。
3. 本解析に用いたハイブリッドアセンブリ法はヒト疾患研究にどのように応用できるか。
4. 今後、染色体レベルまでゲノムアセンブリを進めるには、さらにどのような解析が必要か。
5. オルソログクラスターと進化系統樹の関係からどのようなことが分かるのか。
6. Western blot で観察された PTORS の 2 つのバンドは、スプライシングバリエーションである可能性はないのか。

7. *E. nuttalli* に特異的な遺伝子の中から宿主特異性に関わるタンパク質の遺伝子を探索しているが、その根拠は何か。
8. PTORS の 42 回繰り返し配列の機能については何がわかっているか。
9. ヒトアメーバ感染では直腸や盲腸への局在性が知られているが、PTORS の繰り返し配列との親和性の高い腸管表面の構造や分子が知られているか。
10. フィブリノゲン、フィブロネクチンの遺伝子増幅と細胞接着の関係は何か。
11. *Entamoeba* 種の病原性の有無という観点から、病原性に関わる遺伝子群は解析したか。

これらの幅広い質問に対して申請者は、自らの研究成果による知識と文献に基づく考察を含めて十分な議論を行い、今後の研究における検討課題も含めて、的確かつ詳細な答弁を行った。また質疑応答を通じて、ゲノム科学の領域のみならず、感染症学や分子生物学の分野に関する知識と考察力が備わっていることが伺えた。本研究で得られたゲノム配列とその遺伝子レパトリーのデータは、今後のアメーバ赤痢研究を新たな発展段階に導くものであり、非常に意義があると考えられた。

以上の結果、本論文は学位論文として十分な内容を有するものと審査委員全員の一致で判定された。したがって、申請者 田中 政之 は東海大学博士（医学）の学位を授与されるに値すると判断した。

論文審査委員

主査	博士（理学）	今西	規	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士（医学）	秦野	伸二	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	医学博士	橘	裕司	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	医学博士	宮地	勇人	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士（医学）	松嶋	成志	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）