

次世代シーケンサを用いたListeria monocytogenes の疫学的基礎研究

著者	京井 大輔
学位名	博士(海洋科学)
学位授与機関	東京海洋大学
学位授与年度	2015
学位授与番号	12614博甲第387号
URL	http://id.nii.ac.jp/1342/00001275/

博士学位論文内容要約

Abstract

専攻 Major	応用生命科学	氏名 Name	京井大輔
論文題目 Title	次世代シーケンサを用いた <i>Listeria monocytogenes</i> の疫学的基礎研究		

Listeria monocytogenes は、グラム陽性の感染型食中毒細菌である。本菌による食中毒は、症状が重篤であることが特徴であり、敗血症や髄膜炎等を引き起こし、約 20-30%という高い致死率を示す。また、本菌は高い環境適応能を有する為に食品中での制御が難しく、食品製造業に対してはリコール等によって経済的に大きな被害を与える。これらの健康的・経済的被害を軽減するため、*L. monocytogenes* の病原性や性状を明らかとすることが必要とされている。

近年、次世代シーケンサが実用化され、飛躍的な DNA 配列解読能の向上を齎した。本技術により、これまでは多大なコストや時間が必要とされてきた全ゲノム配列の解析が容易となり、網羅的な遺伝配列の解析によって *L. monocytogenes* の性状や病原性が明らかとなることが期待されている。現在までに 57 株の *L. monocytogenes* について、完全長の全ゲノム配列が報告されており、今後、更に多くの株について解析が加速的に進められると予想される。

L. monocytogenes の全ゲノム配列について疫学的な解析が行われており、病原性グループと非病原性グループの派生過程の解明や、それに伴う遺伝子の獲得・喪失などが明らかとされた。しかしながら、全ゲノム配列から性状や病原性を明らかにするには、それらの関係性に関する知見が十分ではない。そこで、本稿では、*L. monocytogenes* の全ゲノム配列と性状の関係性を明らかにする為、3つのテーマについて研究を行った。

第1章では、ゲノムタイピング法と全ゲノム配列の関係性について検証を行った。ゲノムタイピング法は、ゲノム配列の違いから株間の識別を行う方法であり、*L. monocytogenes* においては病原性と相関性を示すことが知られている。また、感染・汚染経路を調査する上で、株の同一性を担保するゲノムタイピング法は不可欠の技術となっている。上述の様に、ゲノムタイピング法による結果は *L. monocytogenes* の病原性の評価や株識別において有効である事が経験的に知られているが、ゲノムタイピング法に反映されるゲノム上の一部の差異が、全ゲノム配列とどの程度の相関性を有しているのかは明らかとされていない。本章では、ゲノムタイピング法において同じサブタイプを示す株同士的全ゲノム配列を比較し、ゲノムタイピング法との相関性とゲノム配列の差異を明らかとした。

第2章では、侵入因子である Internalin A の欠損株について、その他の病原遺伝子の大規模な解析を行った。*L. monocytogenes* の中には、*inlA* 遺伝子に変異を生じ、感染性を失った株が存在することが知られている。しかしながら、*inlA* 変異株における他の病原遺伝子がどのような配列を有しているのかは未解明である。本章では、次世代シーケンサを用いた全ゲノム配列の解読により *inlA* 変異株の病原性遺伝子を大規模に解析し、*inlA* 欠損株が *L. monocytogenes* の中でどのような位置づけにあるのかを明らかとした。

第3章では、バイオフィーム形成能と全ゲノム配列の関係性について調査を行った。バイオフィームは、*L. monocytogenes* の食品への主要な混入源の一つであり、その防除が必要とされている。だが、*L. monocytogenes* のバイオフィーム形成能は、既存のゲノム解析法からは評価することができていない。本章では、バイオフィーム形成能を試験した株について全ゲノム解析を行い、バイオフィーム形成能に関連するゲノム上の特徴を明らかとした。

本稿では、上述の3つの観点から *L. monocytogenes* の全ゲノム配列と性状および病原性に関する疫学的な知見を得た。現在、次世代シーケンサは更なる性能向上と低価格化および普及が進んでおり、今後の食中毒予防や病原菌の生態解明において核心的な役割を果たすことが期待される。本研究は、新技術である次世代シーケンサを用いて *L. monocytogenes* に関する疫学的な知見を得る試みであり、全ゲノム配列に関する知見を提供するだけでなく、今後の次世代シーケンサを用いた研究アプローチの指針となるものである。