

## 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	<a href="http://id.nii.ac.jp/1342/00001275/">http://id.nii.ac.jp/1342/00001275/</a>

## 〔課程博士〕 (博士論文審査及び最終試験の結果要旨)

学生氏名：京井 大輔

博士論文題目：次世代シーケンサを用いた *Listeria monocytogenes* の疫学的基礎研究

### 博士論文審査：

近年、登場した次世代シーケンサは、分子生物学的手法を利用した疫学研究において、新たなブレイクスルーを促すと期待されている。一方で、本技術を利用した研究は発展途上にあり、次世代シーケンサより得られる膨大なデータを、どのように食品微生物分野に活用するかということに関しては試行段階にある。そこで、本研究では、食中毒細菌である *Listeria monocytogenes* の疫学研究の3つのテーマに対して次世代シーケンサによる全ゲノム解析を適用し、これまで技術的な限界から未解明とされてきた事柄に対して知見を得た。

第1章では、ゲノムタイピング法にて極めて類似した結果を示す F2-382 株と NIHS-28 株に対して全ゲノム比較を行った。ゲノムタイピング法が示す株間の関係性の検証を目的として、上記の2株を含めた20株に対して全ゲノム配列の比較を行った。その結果、ゲノムタイピング法によって明らかとされる株間の関係性は、全ゲノム配列の関係性と概ね一致することが確認された。更に、NIHS-28 株と F2-382 株は、外部からの挿入領域および一塩基多型において差異を有し、そのゲノム配列の相同性は、クローン株には及ばないことが明らかとされた。

第2章では、病原性の低下という特徴的な性状を示す株に対して、病原性関連遺伝子の網羅的な解析を行い、その病原性を総合的に明らかとすることを試みた。本菌の病原遺伝子と知られる Interanalin A (InlA) 変異株の病原性関連遺伝子の塩基配列を次世代シーケンサによって網羅的に明らかとし、臨床野生株との比較を行った。その結果、InlA 変異株は、病原性関連遺伝子を全て有しており、また、その塩基配列は InlA 以外には病原性に影響を及ぼすと考えられる変異は発見されなかった。従って、InlA 変異株は、InlA を介した侵入性以外においては、臨床野生株と同等の病原性を有すると考えられた。

第3章では、*L. monocytogenes* の生活様式の一つであり、食品製造環境中で問題となるバイオフィームに注目し、全ゲノム解析によるバイオフィーム形成関連遺伝子の解明を試みた。グルコースの濃度条件に対するバイオフィーム形成の応答が異なる菌株に対して全ゲノム比較を行い、応答との相関を示す遺伝子を明らかとした。

以上、本研究では、1) ゲノムタイピング法の正確性と識別能の限界点、2) InlA 変異株の総合的な病原性と疫学的な位置付け、3) バイオフィーム形成能と遺伝因子の関係性、以上の3つのテーマに関して次世代シーケンサを用いた解析によって技術的な限界から未解明であった *L. monocytogenes* の性状及び病原性と全ゲノム配列の関係性について疫学的な知見を得た。

以上の内容から、学生から提出された博士論文は、国内外の研究の水準に照らし、各研究分野における学術的意義、新規性、独創性及び応用的価値を有しており、博士の学位に値することを審査員一同確認した。

### 最終試験の結果要旨：

最終試験は2月19日に行われた。学術論文は2編(いずれも、BMC Microbiology)が第1著者として発表済みであると共に、1篇が審査中であることを確認した。また、参考論文において2編の発表がなされていることを確認した。また講演発表は4回(自身発表は3回)行っていることも確認した。合同セミナーへの出席は、企業型プロジェクトへの参加で対応していることを確認した。主論文の学術論文3論文はすべて英語で書かれており、語学能力については問題ないと判断した。また、専門知識については公開発表会(2月19日)当日の質疑や予備審査時でのディスカッションを含め十分であると審査委員一同確認した。

以上から、申請者について論文審査、最終試験とも合格と判定した。