

# TUMSAT-OACIS Repository - Tokyo

University of Marine Science and Technology

(東京海洋大学)

クルマエビ類で見つかった病原微生物Vibrio  
nigripulchritudoの性状解析およびゲノム解析

メタデータ	言語: en 出版者: 公開日: 2024-03-25 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Jayasundara, Mudiyanseelage Sajani Nisansala Rathnapala メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/2000108">https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/2000108</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：JAYASUNDARA MUDIYANSELAGE SAJANI NISANSALA RATHNAPALA

博士論文題目：Identification and genomic characterization of a bacterial pathogen *Vibrio nigripulchritudo* isolated from Penaeid shrimps

(クルマエビ類で見つかった病原微生物 *Vibrio nigripulchritudo* の性状解析およびゲノム解析)

### 博士論文審査：

申請者から提出された論文について公開発表会が8月22日に行われ、審査委員と申請者の中で質疑応答がなされた。審査委員一同、提出された論文が博士論文としての質を十分に確保しているとの結論に至った。論文の内容は以下の通りである。

クルマエビ類養殖において、*Vibrio* 属細菌を原因とするビブリオ病は産業に慢性的な被害を与えることから、対策が求められている。しかしながら、*Vibrio* 属のうちクルマエビ類に感染し被害を及ぼす種は数多く存在する上、各菌種がどのような感染メカニズムでクルマエビ類に病気を引き起こすのかについては不明な点が多い、本研究は、近年当研究室で飼育しているシロアシエビ *Penaeus vannamei* から分離された *Vibrio nigripulchritudo* の3株 (TUMSAT-V. nig1、TUMSAT-V. nig2、および TUMSAT-V. nig3) について諸性状を解析するとともに、次世代シーケンサーを用いた全ゲノム配列解析を行い、本菌の感染メカニズムの解明を目的とした。

16S rRNA 遺伝子およびヘモリシン遺伝子を用いた分子診断の結果、上記3株はいずれも *V. nigripulchritudo* であることが確認された。また、感染試験により、これらの株はクルマエビ *P. japonicus* に対しても病原性を示した。このことから、本分離菌株は日本のクルマエビ養殖においても深刻な被害を与える可能性が示された。

次に、これらの菌株より DNA を抽出し Illumina MiSeq および Oxford Nanopore を用いた全ゲノム配列解析を行った。Nanopore によるロングリードを用いたゲノム概要を作製した後、MiSeq を用いて得られたショートリード配列を用いたポリッシングにより、各株の完全長ゲノム配列を得た。これらは全て2本の染色体を持ち、1つまたは2つのプラスミドを持つことが示された。多くの病原性関連遺伝子が2本の染色体上に見つかった。また、プロフェージ、抗生物質耐性遺伝子、あるいはゲノムアイランドなどの移動性遺伝要素が存在することから、これらの分離株は水平方向の遺伝子移動によって新たな遺伝情報を獲得したことが示唆された。さらに、既報の2株を含む分子系統解析の結果、今回得られた株は既報の日本由来株と近く、ニューカレドニアで分離されたものとは分岐していた。

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い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2022年8月22日および翌年の2023年8月21日に行われた。まず2022年8月22日に行われた最終試験において、博士論文が英語で書かれ最終発表会も英語で行われたことから、英語の学力について問題ないと判断した。学生が第一著者となる論文 (**Rathnapala, J.M.S.N., Kawato S, Kondo H, Hirono I. Genomic characterization and identification of the role of virulence related genes in *Vibrio nigripulchritudo*.**) について、退学後1年以内に受理される見込みであり、学位論文審査要項第22条(学位授与の特例)の適用条件を満たしていると判断した。合同セミナーは企業型セミナーを履修していることを確認した。大学院海洋科学技術研究科が指定した研究者倫理教育を修了していることを確認した。大学院海洋科学技術研究科が指定した方法により剽窃のチェックを行った結果、問題は認められなかった。審査員一同、学生に対して論文内容について質疑応答を行い、その内容は十分であった。また、専門知識については、公開発表会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。以上のことから、博士論文審査を合格、最終試験を特例適用と判定した。その後、上記論文が *Journal of Fish Diseases* 誌 (2023 Jul;46(7):779-790) に掲載されたことから2023年8月21日に再度審査を行い、博士論文審査および最終試験ともに合格と判定した。