

17
E7:37
(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Sequence variation of the Cytochrome *b* gene of various human infecting members of the genus *Leishmania* and their phylogeny

(ヒト感染性リーシュマニア原虫種のシトクロム *b* 遺伝子の塩基配列の多様性と
その系統発生)

氏名 Shin-ichi Sugiyama 印

目的

Cytochrome *b* (*cyt b*) 遺伝子は生物のミトコンドリア内膜に存在する電子伝達系の成分である。同遺伝子は動物や植物などの系統関係の解析ツールとして広く使用されている。一方、世界的規模で分布するリーシュマニア症はリーシュマニア原虫によって起こり、その病型は皮膚型、粘膜皮膚型、内臓型に大別されている。原因原虫の種と臨床病型、予後が相関することが本症の特徴である。従来原虫種の同定はアイソエンザイムやモノクローナル抗体などで行われていた。我々はリーシュマニア原虫の全 *cyt b* 遺伝子の塩基配列を決定し、同遺伝子の系統樹からリーシュマニア原虫種の同定、分類を行うことを目的に本研究を行った。

方法

- 1) 解析に用いた原虫種は、培養・継代したWHO標準株13種(14株)である。
- 2) リーシュマニア原虫からDNAを抽出し、

cyt b 遺伝子の上流遺伝子 (cytochrome oxidase III) と下流遺伝子 (maxicircle unidentified reading frame4) 上に PCR primer を設定し、*cyt b* 遺伝子を増幅した。増幅された DNA 断片を pT7 blue T vector に挿入して大腸菌を形質転換し、DNA 断片の塩基配列を決定した。

3) 決定した各々の原虫の *cyt b* 遺伝子の塩基配列を用いて、近隣結合法および最節約法により分子系統樹を作成した。

結果

1) 原虫の *cyt b* 遺伝子の塩基配列は約 1080 塩基対で、アデニン/チミンに富み、5'末端編集領域も含め高度に保存されていた。一方、各々の原虫の種の違いによる塩基配列の多型は 245 カ所に認められ、190 カ所が原虫の同定に使用可能であった。

2) *cyt b* 遺伝子の分子系統樹では、*Leishmania Leishmania tropica* (L. (L.) *tropica*) complex に L. (L.) *major* が含ま

れること以外は Lainson & Shaw (1987) が提唱した分類法、すなわち *L.tropica* complex (*L.aethiopica*, *L.tropica*, *L.major*, *L.major-like*)、*L.donovani* complex (*L.chagasi*, *L.donovani*, *L.infantum*)、*L.mexicana* complex (*L.mexicana*, *L.amazonensis*, *L.garnhami*)、*L.braziliensis* complex (*L.panamensis*, *L.guyanensis*, *L.braziliensis*) の 4 つの complex への分類と一致した。




結論

リーシュマニア原虫の *cyt b* 遺伝子の塩基配列を決定し、塩基配列により原虫種の同定が可能であることを示した。この結果は、将来的には培養原虫や皮膚病変からの原虫の検出・同定に応用可能と考えられる。

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

(1)

報告番号	* 課程博 論文博	第 号	氏名	Luyo Acero Gloria Esther
論文審査委員		平成 16 年 03 月 01 日		
		主査教授	佐藤 良也	
		副査教授	岩永 正明	
		副査教授	田中 龍夫	
(論文題目) Sequence variation of the Cytochrome <i>b</i> gene of various human infecting members of the genus <i>Leishmania</i> and their phylogeny				
(論文審査結果の要旨) 上記の論文に関して、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義、学術的水準等につき慎重かつ公正に検討し、以下のような審査結果を得た。				
1. 研究の背景と目的 Cytochrome <i>b</i> (cyt <i>b</i>) 遺伝子は生物のミトコンドリア内膜に存在する電子伝達系の成分である。同遺伝子は動物や植物などの系統関係の解析ツールとして広く使用されている。一方、世界的規模で分布するリーシュマニア症はリーシュマニア原虫によって起こり、その病型は皮膚型、粘膜皮膚型、内臓型に大別されている。原因原虫の種と臨床病型、予後が相関することが本症の特徴である。従来原虫種の同定はアイソエンザイムやモノクローナル抗体などで行われていた。本研究はリーシュマニア原虫の全 cyt <i>b</i> 遺伝子の塩基配列を決定し、同遺伝子の系統樹からリーシュマニア原虫種の同定、分類を行うことを目的とした。				
2. 研究内容 方法はリーシュマニア原虫（解析に用いた原虫種は、培養・継代したWHO標準株13種、14株）からDNAを抽出し、cyt <i>b</i> 遺伝子の上流遺伝子(cytochrome oxidase III)				

- 備考
1. 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書とすること。
 2. 要旨は、800字～1200字以内にまとめること。
 3. *印は記入しないこと。

論文審査結果の要旨

(2)

と下流遺伝子(maxicircle unidentified reading frame4)上にPCR primerを設定し、*cyt b*遺伝子を増幅した。増幅されたDNA断片をpT7 blue T vectorに挿入して大腸菌を形質転換し、DNA断片の塩基配列を決定した。また、決定した各々の原虫の*cyt b*遺伝子の塩基配列を用いて、近隣結合法および最節約法により分子系統樹を作成した。

結果は原虫の*cyt b*遺伝子の塩基配列は約1080塩基対で、アデニン/チミンに富み、5'末端編集領域も含め高度に保存されていた。一方、各々の原虫の種の違いによる塩基配列の多型は245カ所に認められ、190カ所が原虫の同定に使用可能であった。*cyt b*遺伝子の分子系統樹では、*Leishmania Leishmania tropica* (*L. (L.) tropica*) complexに*L. (L.) major*が含まれること以外はLainson & Shaw (1987) が提唱した分類法、すなわち*L. tropica* complex (*L. aethiopica*, *L. tropica*, *L. major*, *L. major-like*)、*L. donovani* complex (*L. chagasi*, *L. donovani*, *L. infantum*)、*L. mexicana* complex (*L. mexicana*, *L. amazonensis*, *L. garnhami*)、*L. braziliensis* complex (*L. panamensis*, *L. guyanensis*, *L. braziliensis*)の4つのcomplexへの分類と一致した。

3. 研究成果の意義と学術的水準

リーシュマニア原虫の*cyt b*遺伝子の塩基配列を決定し、塩基配列により原虫種の同定が可能であることを示した。この結果は、将来的には培養原虫や皮膚病変からの原虫の検出・同定に応用され、臨床的にも診断、治療に役立つことが期待される。よって国際的にも高く評価されるものであると判断される。

以上により、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。