

氏名 (本籍)	MOHAMMAD MONIR SHAH (バングラデシュ)
学位の種類	博士 (再生医科学)
学位授与番号	甲第 689 号
学位授与日付	平成 18 年 12 月 20 日
学位授与要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Conserved Gene Sequence-Based Identification and Phylogenetic Study of the Genus <i>Staphylococcus</i>
審査委員	(主査) 教授 江崎 孝行 (副査) 教授 出口 隆 教授 渡邊 邦友

### 論文内容の要旨

菌種の分類同定は、分子系統法が主流となりつつある。すなわち、細菌の代謝機能をつかさどるハウスキーピング遺伝子の塩基配列情報に基づいて、分離菌株の系統的な位置を解析する手法である。これまでに、さまざまなハウスキーピング遺伝子の塩基配列データが蓄積されており、菌種を客観的に決定する指標として利用されている。とりわけ、16S rRNA 遺伝子配列による系統解析は広く浸透している。本遺伝子の配列を決定することにより、菌種の同定が行えるのではないかと期待も高まった。しかしながら、16S rRNA の配列は属のなかでよく保存されているため属レベルまでの同定には適しているものの、菌種を識別する情報としては不十分であることがわかってきた。

一方、新しい種の定義を行う際、全染色体の DNA/DNA ハイブリッド法を行うかわりに、5 つ以上のハウスキーピング遺伝子の塩基配列を比較することが 2002 年に国際細菌分類命名委員会から提案された。よって、16S rRNA, *hsp60*, *sodA*, *rpoB* などの遺伝子の塩基配列データの蓄積のみならず、新たなハウスキーピング遺伝子の解析も期待されている。

このような背景から、本研究では臨床上きわめて重要な位置を占めている *Staphylococcus* 属の客観的かつ効果的な分類同定指標の確立をめざして、*dnaJ* の塩基配列を分類学に利用する手法を検討した。そのために本遺伝子の菌株レベルでの遺伝子多型情報を集積し、データベースの構築をおこない、系統分類指標としての有用性を評価した。

### 対象と方法

*Staphylococcus* 属 45 菌種の基準株から DNA を抽出し、*dnaJ* 遺伝子 (約 883bp) の塩基配列を決定した。*dnaJ* 遺伝子配列のデータベースを構築した後、系統的解析を行った。本遺伝子による系統解析の菌種識別能力を評価するために、他のハウスキーピング遺伝子 16S rRNA, *hsp60*, *sodA*, および *rpoB* の各遺伝子の塩基配列を入手して同様に系統解析を実施した。

### 結果

*Staphylococcus* 属内における各遺伝子の平均類似度はそれぞれ、*dnaJ* 77.6%, 16S rRNA 97.4%, *rpoB* 86.0%, *hsp60* 82.0%, *sodA* 81.5%であった。よって、*dnaJ* 遺伝子はこれまで明らかにされているハウスキーピング遺伝子の中で最も菌種間における多様性が高いことが判明した。一方、臨床材料からの分離頻度が高い *S. aureus* と *S. epidermidis* の各 20 菌株について、菌種内における *dnaJ* 遺伝子の類似度を検討した結果、多様性は 1%未満であった。

### 考察および結語

以上の結果から、*dnaJ* 塩基配列は *Staphylococcus* 属の同じ菌種のなかでは1%以内の多型があり、よく保存されていた。一方、菌種間では5%以上の違いが有り、多様性に富んでいることが明らかになった。

これらの結果から、これまで報告されてきた多型遺伝子の中で *dnaJ* 遺伝子に基づいた系統学的解析が *Staphylococcus* 属の菌種の分類同定に極めて有用であることを明らかにした。

### 論文審査の結果の要旨

申請者 MOHAMMAD MONIR SHAH は、*Staphylococcus* 属の全基準株の *dnaJ* 遺伝子の塩基配列を決定し、各菌種の株の遺伝子の多型を解析した。その結果、*Staphylococcus* 属の菌種の分類同定にこれまで報告された多数の多型遺伝子と比較し、*dnaJ* 遺伝子が系統分類および同定に最も有効であることを証明した。申請者のこれらの研究成果は、細菌分類学に重要な貢献を行なったものと認める。

---

#### [主論文公表誌]

*dnaJ* gene sequence-based assay for species identification and phylogenetic grouping in the genus *Staphylococcus*

International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 57(1), 25-30(2007).