

博士論文(要約)

Genome analysis of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba marina*

(*Entamoeba histolytica* と *Entamoeba marina* のゲノム解析)

Kawano Tetsuro

川 野 哲 郎

本論文は大きく分けて前半と後半に分かれる。前半では *Entamoeba histolytica* のゲノム解析を行い、後半では *Entamoeba marina* のゲノム解析を行った。

*E. histolytica* はヒト腸管に寄生し赤痢アメーバ症の原因となる原虫である。世界人口の約 1% が感染していると考えられており、発展途上国にとどまらず、先進国においても一定数の感染が確認されている。特にわが国においては赤痢アメーバは最も報告の多い原虫感染症であり、その原因のひとつには感染者の 10% 程度しか赤痢アメーバ症を発症せず、残りは無症候であることが挙げられる。無症候性キャリアによる感染拡大を防ぎ、更に発症者に対する効果的かつ低負担な治療方法の開発を行うため、*E. histolytica* の病原性マーカーの探索と病原メカニズムの解明が必要である。そのためには、無症候性の株と病原性の株のゲノム比較解析が有効と考えられる。

*E. histolytica* ゲノムはおよそ 20 Mb とそれほど大きいサイズのゲノムではないにも関わらず、現在データベースに公開されているアセンブリは約 1500 ものコンティグに分断されている。これは主にゲノム中に多数存在する繰り返し配列（タンデムリピート、LINE, SINE）が原因となっている。したがって Open reading frame に関しては一定程度復元できているものの、Intergenic region の品質に大きな課題を抱えている。*E. histolytica* の病原性マーカーの探索・病原機構の解明を目指す上で、これらの

リピートエレメントは無視できない存在であることから、リピートを解決した高品質なアセンブリが必要と考えられた。

そこで本研究では *E. histolytica* 標準株 HM-1:IMSS Clone 6 2001 株のゲノムを PacBio によってシーケンスし、Hi-C 法によりスキファールディングすることを検討した。さらに患者より 11 の臨床株を単離し、そのゲノムを比較・検討した。その結果、疑似染色体レベルのアセンブリの構築に成功し、さらこれを用いて *E. histolytica* の倍数性がすべての株において異なることや、わずか 21 週間の培養で変動することを明らかにした。

*Entamoeba* の殆どは腸管寄生性であるが、*E. marina* は例外的に海中の沈殿物から単離された点で特徴的な *Entamoeba* である。本種の培養にあたっては他の *Entamoeba* とは異なり海水で希釈した培地が必須であることから、塩分濃度をはじめとした最適な環境条件が一般の *Entamoeba* とは異なるように進化を重ねてきたと考えられる。また本種は培養可能な *Entamoeba* のなかで最も初期に分岐した種であることから、そのゲノムを解析することで、*Entamoeba* の進化の過程で起きた出来事を推測できると考えられる。以上の動機から後半においては *E. marina* のゲノム解析と他の *Entamoeba* との比較解析を行った。

Genome analyzer IIx によって解読し CLC Genomics workbench によってアセンブルした *E. marina* ゲノムはサイズ・GC 含量・遺伝子数など多くの点で他の *Entamoeba* に類似していた。また代謝パスウェイマッピングの結果も *E. histolytica* とおおむね同一であることから、*E. marina* のゲノムは他 *Entamoeba* に比べ大幅に変化しているわけではないようだった。一方でヒトへの病原性にかかわるシステインプロテアーゼやその輸送を担う Rab GTPase が半減していることもわかり、病原性に関しては縮退しているように見受けられた。また遺伝子水平伝搬によって獲得された 12 種類の遺伝子を網羅的な BLAST 検索によって同定し、なかでも 3 種類の遺伝子が栄養体において全長にわたり発現していることを見出した。この 3 種類の遺伝子はいずれも NaCl 耐性や酸化ストレス応答に関与する他、一部は Water channel を有していた。以上のことから、遺伝子推定伝搬によって得られた遺伝子群が浸透圧調節と海中環境適応に寄与していることが示唆された。