

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 ( 学 術 )	氏名	Alaa Eldin Mohamed Saad Meslhi	
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当			
<p>論 文 題 目</p> <p>Screening, isolation and characterization of large bacteriophages for use in biocontrol of a wide-range of pathogenic bacteria (広範囲の病原菌を対象とした生物防除に有用な大型バクテリオファージのスクリーニング、単離および特徴付け)</p>				
<p>論文審査担当者</p> <p>主 査 准 教 授 藤 江 誠 印</p> <p>審査委員 教 授 加 藤 純 一 印</p> <p>審査委員 教 授 黒 田 章 夫 印</p> <p>審査委員 教 授 田 中 伸 和 印</p> <p>審査委員 名 誉 教 授 山 田 隆 印</p>				
<p>[論文審査の要旨]</p> <p>(内容)</p> <p>細菌による感染症は、21世紀においても世界各国で主要な死因となっている。感染症の完全な制御はいまだに達成されていないだけでなく、相次ぐ抗生物質耐性菌の出現や新規抗生物質の探索が急速に困難になっている状況を考慮すると、感染症は近い将来に人類の生存を脅かす存在にもなりうる。抗生物質の使用に代わって感染症を制御する方法として、細菌に感染するウイルスであるバクテリオファージ（ファージ）の利用があげられる。本研究は、従来研究が進んでいなかった大型のファージを効率的に単離する方法を開発し、感染症抑圧への道を開くものである。</p> <p>第一章では、序論として、20世紀初頭におけるファージの発見と臨床利用への初期の試み、及び、近年の抗生物質耐性菌の台頭に伴い治療技術としてファージが再注目されている状況について述べている。細菌の制御にファージを利用するには、ファージの宿主特異性と感染の持続性が重要である。巨大なゲノムサイズを持つ大型ファージの中には、宿主域が広範で長期間の持続的な感染を示すものが報告されており注目に値する。大型のファージは自然界で一般的に存在する可能性が高いが、報告例は少数に限られている。これは、従来ファージの単離に用いられてきた標準的な方法では、大型ファージの検出が困難なためである。本論文の著者は、このような研究背景を理由として、ジャンボファージ（ゲノムサイズが200kbp以上）に代表される大型のファージを選択的に単離する方法の開発とそのゲノム情報の解析を本論文の主目的とする事を述べている。</p> <p>第二章では、系統的に手際良く大型ファージを単離する方法の開発について述べている。開発した方法の要点は、(1)ファージを含む試料を15,000gで遠心分離処理し、(2)フィルター処</p>				

理は行わずにクロロフォルムを用いて殺菌処理し、(3)通常用いられるよりも低濃度の 0.35% のトップアガーを用いて通常よりも低温 (28 度) でプラークアッセイを行い直径 0.5mm 以下の小型プラークのみを選択する、ことである。大腸菌 BL21 株を宿主としてこの方法でスクリーニングした結果、著者は E1~E11 の 11 種類のファージの単離に成功した。11 種類は、ゲノムサイズが 200kbp 以下のグループと、450kbp 程度のグループに二分された。単離されたファージは広域な宿主域を示し、中でも E9 は、*Shigella sonnei* SH05001, *Shigella bydii* SH00007, *Shigella flexneri* SH00006, *Salmonella enterica* serovar Enteritidis SAL01078, *Escherichia coli* C3000 (K-12 derivative), *E. coli* BL-21 に感染した。上記の結果より、開発した方法が自然界よりの大型ファージの単離において有効であることが実証された。

第三章では、第二章で単離した E9 ファージ (以下 EcS1 とする) のゲノム解析について述べている。解析の結果、EcS1 のゲノムは全長が 175,437 bp であり、その中に 295 個の ORF が存在する事が明らかになった。ゲノム配列の相同性解析の結果では、EcS1 は *Serratia* sp. ATCC 39006 に感染する 3 種類の T4 型ファージ (CBH8, CHI14, and X20) に類似のファージである事が示された。2 系統の *Serratia marcescens* を用いて宿主解析を行ったが、EcS1 は感染性を示さなかった。EcS1 の尾部繊維タンパク質について解析した結果では、*Enterobacteriaceae* に感染するファージに相同性を示した。上記の実験結果より著者は、EcS1 は、複数種類の *Enterobacteriaceae* に感染する新奇ファージであると結論づけている。

第四章では、本論文の総括について述べている。著者が開発した方法は、今まで見逃されていた大型ファージを自然環境中から組織的に単離する事ができる。また、この方法を利用すれば、非病原性細菌を宿主とする実験系でも、病原性細菌を宿主とするファージを単離可能である。病原性細菌に感染するファージの組織的な単離は、抗生物質に代わる感染症抑圧法の開発に道をつけるものである。

本論文の著者は、従来法では単離が困難であった大型バクテリオファージを効率的に単離する方法を開発し、当該方法により複数の大型ファージの単離に成功した。その一つである EcS1 は複数属のバクテリアに感染するファージであり、ゲノム解析の結果、新奇のファージであることを示した。これらの知見は、抗生物質の利用以外に細菌による感染症を抑圧する手段を提供しうる極めて有用な知見であると共に、大型ファージのゲノム進化を考察する上においても極めて有用な知見であり、高く評価されるものである。

以上より、本論文の著者は、博士 (学術) の学位を受けるに十分な資格を有するものと判断する。