

学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・(論)	第 323 号	氏 名	大 塚 靖
審 査 委 員 会 委 員	主査氏名	長谷川英男	(印)
	副査氏名	藤島 誠	(印)
	副査氏名	青田 哲子	(印)
<p>論文題目</p> <p>Variation in number and formation of repeat sequences in the rDNA ITS2 region of five sibling species in the <i>Anopheles barbirostris</i> complex in Thailand. (タイの <i>Anopheles barbirostris</i> complex の5つの近縁種の rDNA ITS2 領域に見られた反復配列の数と構造の変異)</p> <p>論文掲載雑誌名 Journal of Insect Science</p> <p>論文要旨</p> <p>マラリアやフィラリア症の媒介者であるハマダラカ <i>Anopheles barbirostris</i> subgroup には形態が類似し、同定が困難な <i>An. barbirostris</i> と <i>An. compestris</i> がある。近年の交配実験や塩基配列の比較により、タイでは <i>An. barbirostris</i> complex として <i>An. barbirostris</i> A1, A2, A3, A4, <i>An. compestris</i>-like の5種に分類されている。これら5種は rDNA の ITS2 が他の <i>Anopheles</i> 種に比べて著しく長い。本論文はその原因が反復配列の挿入であることを示し、その反復配列の5種間での違いを検討した。</p> <p>5種 95 isolines の ITS2 から各種で最も頻度の高い配列をその種の代表として、反復配列を取り出し、MARNA program によって整列させた。その結果 A1, A2, A3, A4, <i>An. compestris</i>-like の ITS2 には、約 100 塩基の反復配列がそれぞれ 10, 8, 3, 8, 8 個含まれることが示された。反復配列は invert 構造を有し、塩基の違いおよび推定される2次構造に基づいて9グループに分けられた。同じ8個の反復配列をもつ A2, A4, <i>An. compestris</i>-like でも A2 は他の2種に比べて構成する反復配列のグループが大きく異なり、A4 と <i>An. compestris</i>-like は構成も似ていたが 28S rRNA 側の反復配列のグループが異なっていた。近隣接合法で反復配列間の系統関係を調べると、9グループに対応するクレードを形成した。</p> <p>これら5種間の類縁関係を調べるために、95 isolines について反復配列を除いた ITS2 および COI と COII で近隣接合法、最尤法、最大節約法で系統樹を作成した。その結果 ITS2 の系統樹では A3 が他の種と大きく離れたが、COI と COII による系統樹ではそれほど他の種と離れていなかった。A3 は ITS2 の塩基配列から別グループとも言われていたが、他の4種と同様な反復配列を同じ場所に持つことや、COI や COII の系統樹から、近縁関係にあると考えられた。</p> <p>データベースにある他のハマダラカ類の ITS2 について BioEdit program を使って Dot Plot を行い、反復配列を検索した。その結果、これまで報告がある <i>An. fluminensis</i> 以外でも、<i>An. funestus</i>, <i>An. beklemishevi</i>, <i>An. crucians</i> に 40~200 塩基の反復配列が 2~4 個含まれていることが示され、ハマダラカ属においては ITS2 領域への反復配列の挿入はそれほど稀な現象でないことが示唆された。ハマダラカには反復配列は見られないが ITS2 の長い種もあり、これらではかつて反復配列であったものが変異の蓄積により、現在では反復配列が確認できなくなっている可能性もあると考えられた。</p> <p>本研究は、ハマダラカ属の種分化に関して新しい知見を加えており、これら5種間でマラリア症伝播能に差があることから、マラリアの効果的な調査・対策にも寄与可能であり、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

学 位 論 文 要 旨

氏名 大塚 靖

論 文 題 目

Variation in number and formation of repeat sequences in the rDNA ITS2 region of five sibling species in the *Anopheles barbirostris* complex in Thailand

(タイの *Anopheles barbirostris* complex の5つの近縁種の rDNA ITS2 領域に見られた反復配列の数と構造の変異)

要 旨

【緒言】 *Anopheles barbirostris* subgroup に属する *An. barbirostris* と *An. compestris* はマレーシアやインドネシアではマラリアやフィラリア症の媒介種として知られており、タイにおいても媒介している可能性が考えられていた。近年タイの Sa Kaeo 県で流行したマラリアは、これらの種が媒介したと考えられている。*An. barbirostris* と *An. compestris* は形態が似ており、同定が難しい種である。近年行われた交配実験や塩基配列の比較により、タイでは *An. barbirostris* complex として *An. barbirostris* A1, A2, A3, A4, *An. compestris* like の5種に分類された。その塩基配列の比較の中で、*An. barbirostris* complex の5種は rDNA の ITS2 が、他の *Anopheles* 種に比べて著しく長かった。この論文ではその原因が反復配列の挿入であることを示し、その反復配列が5種の間でどのような違いがあるのかを検討した。また、このような反復配列の挿入が他の *Anopheles* 種の ITS2 でも見られるのかを調べた。

【研究対象及び方法】 データベースにある *An. barbirostris* A1, A2, A3, A4, *An. compestris* like の95の isolate の ITS2 を利用した。それら ITS2 から各種で最も頻度の高い配列をその種の代表として、反

復配列を取り出した。MARNA program を使い反復配列を並べ、近隣接合法で反復配列間の系統関係を調べた。*An. barbirostris* A1, A2, A3, A4, *An. compestris* like の種間の系統関係を調べるために、repeat 配列を除いた ITS2 と COI と COII で近隣接合法、最尤法、最大節約法で系統樹を作成した。データベースにある他の *Anopheles* 種の ITS2 内にある反復配列を調べるため、BioEdit program を使って Dot Plot を行い、反復配列を検索した。

【結果】*An. barbirostris* A1, A2, A3, A4, *An. compestris* like の ITS2 には、約 100base の反復配列が 10、8、3、8、8 個それぞれ含まれていた。その反復配列は invert 構造を持っていたので、塩基の違いと推定される 2 次構造に基づいて 9 つのグループに分けた。その結果、同じ 8 個の反復配列をもつ A2, A4, *An. compestris* like でも A2 は他の 2 種に比べて、構成する反復配列のグループが大きく異なっていた。A4, *An. compestris* like は同じ 8 個で構成も似ていたが 28S rRNA 側の反復配列のグループが異なっていた。反復配列を取り除くと ITS2 においても容易に整列が出来るので、5 種 95 isolate について系統関係を調べるため系統樹を作成した。比較のため COI と COII による系統樹も作成した。ITS2 では A3 が他の種と大きく離れたが、COI と COII ではそれほどは他の種と離れなかった。他の *Anopheles* 種の ITS2 領域の反復配列を調べると、これまで報告がある *An. fluminensis* 以外では、*An. funestus*, *An. beklemishevi*, *An. crucians* でも 40~200 base の反復配列が 2~4 個含まれていた。それらの反復配列は *An. barbirostris* complex のものとは異なり、お互いにも配列の相同性は無かった。

【考察・結語】*An. barbirostris* A1, A2, A3, A4, *An. compestris* like の ITS2 が長いのは反復配列が含まれていたためであり、その反復配列は種により数や構成が異なっていた。他の *Anopheles* 種にも反復配列の ITS2 領域での挿入が見られることから、それほど稀な現象ではないようである。*An. barbirostris* A3 の反復配列は変異が大きく、他種と比較がなければ反復配列の存在が見逃されていた可能性がある。*Anopheles* 種には反復配列が見られないが長い ITS2 もある。それらはかつて反復配列であったものが変異の蓄積により、現在では反復配列が確認できなくなっているのかもしれない。*An. barbirostris* A3 の系統関係については ITS2 の配列で他の 4 種と大きく異なっていることから、別グループではないかとも言われていた。しかし他の 4 種と同様な反復配列を同じ場所に持っていることや、COI や COII の比較ではそれほど他の 4 種とも離れていないことから、一定の近縁関係が考えられる。