

扁形動物のミトコンドリアゲノム
(テニア科条虫の系統分類と分子疫学への展開)

(課題番号 12670228)

平成 12 年度～平成 13 年度科学研究費補助金・基盤研究 (C) (2)

研究成果報告書

平成 14 年 3 月

研究代表者 中尾 稔
(旭川医科大学・医学部・助手)

目次

ページ

はしがき	1
研究組織	2
研究経費	2
研究成果の概要	3 ~ 4

【研究発表】

学会誌等	4
論文等の掲載	5 ~ 62

はしがき

真核生物の細胞小器官であるミトコンドリアは独自のゲノムを保有している。多細胞動物ではこのゲノムは全長 14~18 kb の環状 DNA で、酸化リン酸化に関わる 12~13 種類の蛋白質サブユニット遺伝子、2 種類の rRNA 遺伝子、22 種類の tRNA 遺伝子がコードされている。1981 年にヒトのミトコンドリアゲノム (mtDNA) の全塩基配列が決定されて以来、多数の生物において mtDNA の塩基配列と遺伝子構成が解明され、mtDNA は分子進化の研究上、重要な標的分子となった。ショウジョウバエや線虫で決定された mtDNA 全塩基配列の情報は、寄生虫学領域において、病原体媒介性節足動物や寄生性線虫類の系統分類や分子疫学に応用されている。一方、扁形動物では、つい最近まで mtDNA 全塩基配列は不明であり、肝蛭で部分配列 (3,466 bp) が報告されているのみであった。この配列に基づき、PCR プライマーが設計され、様々な吸虫類や条虫類で cytochrome c oxidase subunit 1 (Cox1) や NADH dehydrogenase subunit 1 (ND1) 遺伝子の部分配列が解読され、系統進化の研究に利用された。しかし、比較された遺伝子領域は数百ベースと短く、系統進化を論ずるにはきわめて不十分であった。調査の精度を上げるためには、適当な扁形動物で mtDNA の全塩基配列を決定し、各遺伝子領域の全長が解読できるように PCR プライマーを設計する必要がある。そこで、医学的に重要なテニア科条虫類である多包条虫 (*Echinococcus multilocularis*) と有鉤条虫 (*Taenia solium*) をモデルとして、扁形動物のミトコンドリアゲノムを解読する計画が立案された。本研究では、扁形動物ミトコンドリアゲノムについて、変則遺伝暗号や遺伝子の種類と配置を解明することを主要な目的とし、有鉤条虫の世界的分布に関して分子疫学的な解釈を試みた。

【研究組織】

研究代表者： 中尾 稔 （旭川医科大学・医学部・助手）

研究分担者： 伊藤 亮 （旭川医科大学・医学部・教授）

【研究経費】

（金額単位：千円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 12 年度	2,200	0	2,200
平成 13 年度	1,200	0	1,200
総 計	3,400	0	3,400

扁形動物のミトコンドリアゲノム (テニア科条虫の系統分類と分子疫学への展開)

【研究成果の概要】

① 条虫類ミトコンドリアの変則遺伝暗号

Echinococcus, *Taenia*, *Hymenolepis*, *Mesocestoides* 属の 8 種条虫類のゲノム DNA を用いて、PCR 法により Cox1 遺伝子の内部領域と ND4 ~ND2 遺伝子間領域を増幅し、条虫類ミトコンドリアの変則遺伝暗号を推定した。従来、扁形動物では UAA コドンはチロシンをコードすると思われていたが、今回の検討により、UAA は他の動物群と同様に終止コドンであることが判明した。また、GUG コドンは開始コドンであることも明らかとなった。

② 多包条虫のミトコンドリアゲノム

多包条虫のミトコンドリアゲノムは全長 13,738 bp の環状 DNA で、片方の鎖のみに遺伝情報があった。通常が多細胞動物と同様に 12 種の蛋白遺伝子、2 種の rRNA 遺伝子、22 種の tRNA 遺伝子をコードしていたが、ATPase 8 遺伝子のみ欠損していた。遺伝子配置は他の動物群と異なり特徴的であったが、ND1 から CO1 にいたる一部の配置が環形動物のものと類似しており、扁形動物が Eutrochozoa に起源することを示唆した。この見解は 18S rRNA や Hox 遺伝子のデータからも支持された。

③ 有鉤条虫のミトコンドリアゲノム

有鉤条虫ミトコンドリアゲノムは全長 13,709 bp の環状 DNA で、遺伝子配置は多包条虫のものと全く同一であった。ND1 遺伝子の終止コドンは省略形の U で、転写後に隣接する tRNA-Asn が切り出された後、ポリ A の付加により、UAA コドンとなることが、cDNA の解析から確認された。この省略形終止コドンの発見は扁形動物では最初のものである。

④ 有鉤条虫の分子疫学

世界各地（中国、タイ、イリアンジャヤ、インド、メキシコ、ペルー、エクアドル、ボリビア、ブラジル、タンザニア、モザンビーク、カメルーン）で採集された有鉤条虫を材料として、Cox1（1,620 bp）と Cytb（1,068 bp）の両遺伝子につき、全長の塩基配列を比較した。近接結合法で解析すると、両遺伝子ともに、中国、タイ、イリアンジャヤ、インドは一つのクラスターを形成し、他はもう一つのクラスターを形成した。この結果と有鉤条虫の中間宿主であるブタの家畜化の歴史を総合すると、南米・アフリカの有鉤条虫はヨーロッパからもたらされたものであり、アジアの有鉤条虫はそれとは独自のものであることが示唆された。

以上の結果の詳細は5ページ以降の英文論文に記載した。

【研究発表】

学会誌等

- 1) Nakao M, Sako Y, Yokoyama N, Fukunaga M, Ito A (2000). Mitochondrial genetic code in cestodes. *Mol. Biochem. Parasitol.* 111: 415-424.
- 2) Nakao M, Yokoyama N, Sako Y, Fukunaga M, Ito A (2002). The complete mitochondrial DNA sequence of the cestode *Echinococcus multilocularis* (Cyclophyllidea: Taeniidae). *Mitochondrion* (submitted).
- 3) Nakao M, Sako Y, Ito A (2002). The mitochondrial genome of the tapeworm *Taenia solium*: a finding of the abbreviated stop codon U. *Parasitol. Res.* (submitted).
- 4) Nakao M, Okamoto M, Sako Y, Yamasaki H, Nakaya K, Ito A (2002). A phylogenetic hypothesis for the distribution of two groups of the pork tapeworm *Taenia solium* worldwide. *Parasitol.* (in press).