

20102805KA

厚生労働科学研究費補助金

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

動物由来クラミジアの自然界における存在様式の解明

—比較ゲノム解析及び種特異的診断法の開発と実態調査

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大屋 賢司

平成 23 (2011) 年 5 月

目次

I. 総括研究報告	1
動物由来クラミジアの自然界における存在様式の解明-比較ゲノム解析及び種特異的診断法の開発と実態調査 —研究総括と実験担当	
大屋 賢司	
II. 分担研究報告	14
動物由来クラミジアの自然界における存在様式の解明-比較ゲノム解析及び種特異的診断法の開発と実態調査 —PCを用いたゲノム情報の解析	
福士 秀人	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	22
IV. 研究成果の刊行物・別刷り	24

厚生労働省科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）総括
研究報告書

動物由来クラミジアの自然界における存在様式の解明-比較ゲノム解析及び種特異的診
断法の開発と実態調査
—研究総括と実験担当

研究代表者：大屋 賢司 岐阜大学応用生物科学部 准教授

研究要旨：オウム病クラミジア *Chlamydophila psittaci* は、人獣共通感染症であるオ
ウム病の原因となり、全数把握の 4 類感染症に指定されている。また、オウム病を始め
とした動物由来クラミジアに関しては、動物における保有状況の把握が公衆衛生学上重
要となるが、不明の点が多いのが現状である。本課題では、異なる動物種由来クラミジ
アの比較ゲノム解析および種特異的な診断法開発と実態調査を行い、自然界における存
在様式を解明することを目的としている。今年度は、*C. psittaci* 国内集団発生事例分離
株 Mat116 株の全ゲノム配列を再解読し、完全決定することができた。また、由来や病
原性の異なる *C. psittaci* 他菌種株の配列決定にも着手した。診断法開発に関しては、
診断用抗原候補として着目している多型膜蛋白質 Pmp に関して、患者血清を用いて有
用性を評価することができた。動物由来クラミジアの実態調査に関しては、昨年度に引
き続き、動物病院等からの依頼検体を含む鳥計 152 検体を検査した。陽性率は 3.9%で
あり、昨年度（4.0%；202 検体）と同値であった。解読した配列情報を基に *C. psittaci*
アレイを作製し、感染細胞内におけるトランスクリプトーム解析を行った。結果、昨年
度に引き続き、動物由来クラミジアの自然界における存在様式に迫るための技術基盤を
構築することができた。

研究分担者：福士 秀人 岐阜大学応用
生物科学部 教授

研究協力者：

安藤 秀二 国立感染症研究所 ウイル
ス第一部 室長

黒田 誠 国立感染症研究所
病原体ゲノム解析センター 室長

関塚 剛史 国立感染症研究所
病原体ゲノム解析センター 研究員

A.研究目的

クラミジアは、多様な宿主域・病態を
呈する。なかでも *Chlamydophila*
psittaci は人獣共通感染症であるオウム
病の原因となり、病原性は一般的に他種

クラミジアより強く、全数把握の4類感染症に指定されている。しかしながら、*C. psittaci*に関しては、検査室レベルで実施可能な検査法が確立されておらず、5類感染症に指定されている性器クラミジアおよび肺炎クラミジアとの鑑別が困難なことが行政上の支障となっている。また、オウム病を始めとした動物由来クラミジアに関しては、動物における保有状況の把握が公衆衛生学上重要となるが、不明の点が多いのが現状である。申請課題では、異なる動物種由来クラミジアの比較ゲノム解析および種特異的な診断法開発と実態調査を行い、自然界における存在様式を解明することを目的とする。

B.研究方法

1. *C. psittaci* 多型膜蛋白質 Pmp の診断用抗原としての有用性評価

昨年度までに樹立した、大腸菌発現 GST 融合組換え多型膜蛋白質(GST-Pmp)を抗原(1 µg/ml 濃度で使用)として用いた ELISA により、有用性を評価した。評価に用いたのは、国立感染症研究所にて保管されていた、連結不可能匿名化されたオウム病およびクラミジア肺炎患者血清を、PBS にて 100 倍希釈して用いた。ELISA の値と微量蛍光抗体 (MIF) 法により得られた抗体価の相関は、Spearman rank correlation test により評価した。

2. 自然界における動物由来クラミジアの実態調査

昨年度に引き続き、鳥類の保有する *C. psittaci* 実態調査として、全国の動物病院・動物園からの依頼検体、及び岐阜大学内で採取した野生ハトの糞便 152 検体を検査した。これまで研究室で行ってきた方法に準じ、糞便から抽出した DNA を鋳型として nested PCR (Chahota ら 2006) もしくはリアルタイム PCR (Okuda ら 2011) により *C. psittaci* 遺伝子検出を試みた。

3. *C. psittaci* 遺伝子発現プロファイル解析

解読した *C. psittaci* Mat116 株配列を基に、推定遺伝子コード領域およびフレームシフト領域 1420 配列を標的に作製された DNA アレイを用いた。アレイに供する RNA は、HeLa 細胞に *C. psittaci* Mat116 株を感染させ、経時的に抽出した全 RNA を用いた。全 RNA 中の宿主細胞由来 RNA は、真核細胞のリボソーム RNA および oligo dT をコートしたマグネチックビーズ (Microbenrich; Ambion) を用いて選択的に除去し、クラミジア由来 RNA を濃縮して用いた。調製した RNA より cRNA を合成し、Cy3 標識してアレイにハイブリダイズさせ解析した。

(倫理面への配慮)

クラミジアの取扱は、「クラミジア感染症の診断法開発および病態解析」として岐阜大学より組み換え DNA 実験として承認を得ている。実際の実験は、認可を得た P2 レベルの実験室・施設にて行ってお

り、安全キャビネット内での作業等、安全対策には充分配慮している。開発した診断法の評価に用いた患者血清は、国立感染症研究所にてすでに保管済みの連結不可能匿名化されたものを用いたため、研究実施場所である岐阜大学において個人情報とは特定できない。取扱に関しては、国立感染症研究所および岐阜大学双方の医学研究倫理委員会に諮り承認を得て、実験を行った。

C. 研究結果

1. *C. psittaci* 多型膜蛋白質 Pmp の診断用抗原としての有用性評価

C. psittaci ライブラリーの免疫学的スクリーニングにより得られた Pmp (Pmp G11) について、オウム病患者血清を用いて診断用抗原としての有用性を評価した。ELISA における組換え Pmp の患者血清との反応は、*C. psittaci* 精製菌体を抗原とした MIF 法にて測定した抗 *C. psittaci* IgG 価と正の相関を示し (図 1)、組換え Pmp の診断用抗原としての有用性が示唆された。

2. 自然界における動物由来クラミジアの実態調査

これまでに開発した遺伝子検出法を用いて、今年度は全国の動物病院からの依頼検体を初めとした 152 検体について調査した。陽性率は 4%であった。

3. *C. psittaci* 遺伝子発現プロファイル

解析

C. psittaci Mat116 株感染 HeLa 細胞より経時的 (6, 12, 24, 36, 48, 60 時間後) に全 RNA を抽出した。全 RNA よりクラミジア由来 RNA を選択的に濃縮した。調製した RNA の純度を解析したところ、クラミジア由来 RNA が濃縮されていることが示された。このように調製した RNA をアレイ解析に供した。クラミジアの細胞内増殖に重要と思われる遺伝子群について感染ステージ毎に変動が認められた。代表的なものとして外膜蛋白質群の発現プロファイルのヒートマップを示す (図 3)。クラミジアの外膜蛋白質のうち、最も発現量の多い主要膜蛋白質 (MOMP) は、感染時期を通じて顕著な変動は認められなかった。しかしながら、Pmp 関連蛋白質群に関しては、感染ステージにより発現量の増大するものと、感染初期にピークを迎えるものとに分けられた。

D. 考察

1. *C. psittaci* 多型膜蛋白質 Pmp の診断用抗原としての有用性評価

組換え Pmp は、感度の点で問題があるものの ELISA において患者血清と反応することが示された。Mat116 株ゲノム解析の結果、抗体を用いたスクリーニングで得られた本抗原は、その遺伝子の並びから PmpG ファミリーに属する PmpG11 であることが明らかとなった。PmpG11 は、その近傍に存在する PmpG12 と非常に相同性が高い (データ示さず)。組換え

PmpG11 に対する抗体を作製し、精製菌体および感染細胞を抗原としたウエスタンブロットを行ったところ、PmpG11 の予想分子量約 40 kDa のところにバンドは認められず、約 90 kDa のところにバンドが認められた（データ示さず）。

PmpG12 の予想分子量は約 90 kDa であることから、スクリーニングで得られた分子は PmpG11 であるものの、実際の感染動物・患者体内で認識されているのは PmpG12 である可能性がある。そこで現在は、検出感度向上を目的として、エピトープと推定される部位の合成ペプチドや PmpG12 を抗原として用いて検討している。

2. 自然界における動物由来クラミジアの実態調査

我々の研究室にて実施した、鳥類における *C. psittaci* 保有状況について 2006 年度からのデータを表 1 にまとめた。本課題がスタートしてからの 2 年間における陽性率は約 4% であった。2003 年におこなった調査時には 14.8% であったことを考えると、クラミジアの清浄化が進んでいると示唆される。更にこのデータを鳥種別に表 2 にまとめた。検体数が大きく異なるものの、オカメインコ、セキセイインコ、コザクラインコといった主に国内で繁殖・生産される小型鳥は、ヨウム等主に海外から輸入される大型鳥に比べ陽性率は約 2% と低値であった。これらのデータは、販売業者等の認知度向上に

よる清浄化（検疫の徹底等）が進んだためであると思われる。我々のグループでは販売業者からの検査依頼や衛生指導を積極的に受け付けており、他にも講演等により本病原体の認知度向上・清浄化に多少なりとも貢献できているのではないかと考えている。

3. *C. psittaci* 遺伝子発現プロファイル解析

本研究で取り扱うクラミジアが他の病原細菌と決定的に異なる点は、代謝活性をもたない基本小体（EB）が宿主細胞に侵入後、膜構造（封入体）中で網様体（RB）へと変換し分裂増殖するという、形態・性状的にも全く異なる 2 種類の生活環を有することである。EB、RB 各世代における遺伝子発現プロファイルは異なると予想され、それを解析することにより本菌の細胞内動態を解明することが可能となると考えられる。解読した *C. psittaci* Mat116 配列を基に、クラミジアアレイを作製し、感染細胞より経時的に調製した RNA を用いた遺伝子発現動態解析を行った。予想された通り、クラミジアの感染ステージに応じて遺伝子発現パターンは異なっていた。一例として挙げた外膜蛋白質群は、MOMP に関しては感染時期を通じて一定の発現動態を示していた。しかしながら、20 以上のファミリーを形成している Pmp に関しては、感染ステージにより発現するセットが異なることが示唆された。図に示した以外にも、DNA

複製に関わる分子、III型分泌関連蛋白質群に関しても同様の傾向が確認された。次年度以降の、詳細なクラミジア遺伝子発現動態解析にむけた貴重な情報を得ることができた。

E. 結論

今年度得られた成果の概要は以下の通りである。

- ・*C.psittaci*血清診断用抗原としてのPmpの有用性を評価した。
- ・開発した診断法を用いた実態調査を継続中である。
- ・*C.psittaci*感染細胞内における遺伝子発現プロファイルについての基礎的な情報を得ることができた。

F. 研究危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

原著論文

Okuda H, **Ohya K**, Shiota Y, Kato H, **Fukushi H**

Detection of *Chlamydomphila psittaci* by Using SYBR Green Real-Time PCR.

J. Vet. Med. Sci. 73:249-254, 2011.

Ohya K, Okuda H, Maeda S,

Yamaguchi T, **Fukushi H**

Using CF0218-ELISA to distinguish

Chlamydomphila felis-infected cats from vaccinated and uninfected domestic cats.

Vet. Microbiol. 146:366-370, 2010.

総説

Katoh H, Ogawa H, **Ohya K**, **Fukushi H**

A Review of DNA Virus Infections in Psittacine Birds.

J. Vet. Med. Sci. 72: 1099-1106, 2010.

※クラミジア以外の人獣共通感染症および鳥類の感染症に関する発表論文は研究分担報告書に記載した。

著書

なし

2. 学会発表

Ohya K, Okuda H, Kuroda M, Sekizuka T, Meyers G, Kishimoto T, Andoh S, **Fukushi H**: Complete genome sequence of *Chlamydomphila psittaci* Mat116 strain isolated in Japan. 2011

Chlamydia basic research meeting, Mar. 18-21, 2011 CA

大屋賢司、福士秀人：オウム病クラミジアのゲノム解析:鑑別診断法開発と病態解明を目指して、平成22年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会（招待講演）、H23.2.11（岐阜）

大屋賢司、黒田誠、関塚剛史、Meyers
Garry、岸本寿男、安藤秀二、福士秀人：
オウム病クラミジア集団発生事例分離株
の全ゲノム配列決定、第 10 回人と動物の
感染症研究会、H22.10.30（東京）

奥田秀子、大屋賢司、福士秀人：日本国
内における鳥類のオウム病クラミジアの
保菌調査、第 150 回日本獣医学会学術集
会、H22.9.16-18（帯広）

H.知的財産権の出願・登録状況

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

表 1 : 鳥類における *C. psittaci* 保有状況

	検査数 (羽)	陽性数 (羽)	陽性率 (%)
2006 年	988	13	1.3
2007 年	328	7	2.1
2008 年	353	2	0.6
2009 年	202	8	4.0
2010 年	152	6	3.9
合計	2023	36	1.8

表2：鳥種別 *C. psittaci* 保有状況

鳥種	検査数 (羽)	陽性数 (羽)	陽性率 (%)
オカメインコ	209	3	1.4
セキセイインコ	61	2	3.3
コザクラインコ	25	1	4
ヨウム	18	1	5.6
キガシラアオハシインコ	12	1	8.3
ショウジョウインコ	5	2	40.0
テンジクバタン	3	1	33.3
ギニアエボシドリ	3	1	33.3
ハツハナインコ	2	1	50.0
ソデシロインコ	2	1	50.0
コガネメキシコインコ	2	1	50.0
パナマボウシインコ	2	1	50.0
アヒル	35	1	2.9
上記以外の鳥種	1421	10	0.7
鳥種不明	71	3	4.2

※赤字:主に国内繁殖・生産されている小型鳥。青字:主に海外から輸入される大型鳥。

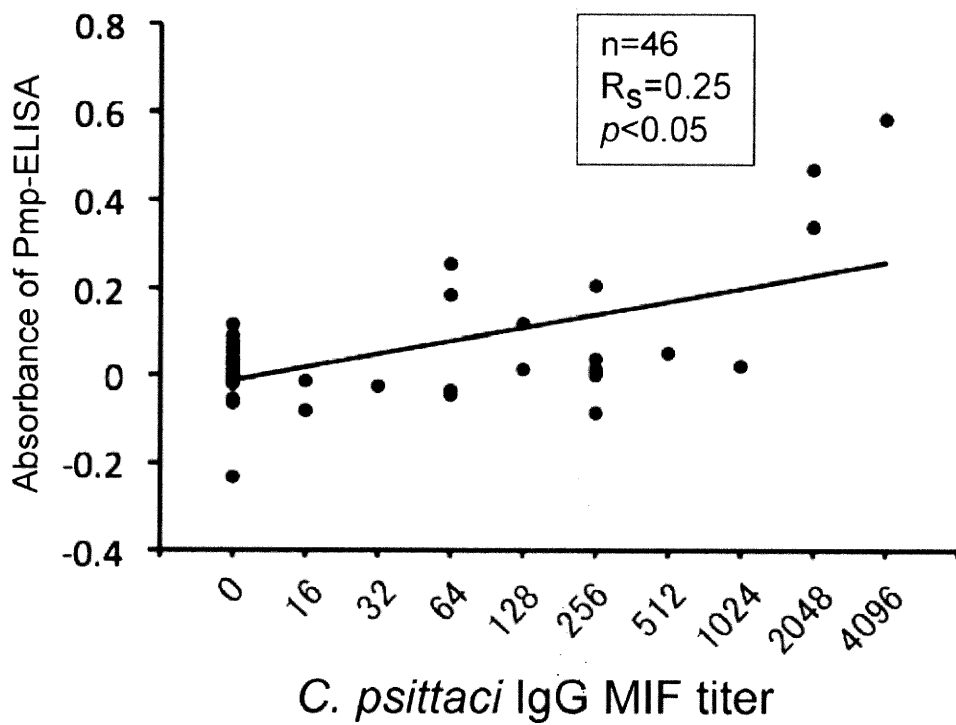


図1：オウム病患者血清を用いた Pmp-ELISA と *C. psittaci* MIF 法の相関。
 GST-Pmp を抗原とした ELISA におけるオウム病患者血清 (n=46) の反応は、*C. psittaci*
 MIF 法により測定した抗 *C. psittaci* IgG 抗体価と正の相関 ($R_s=0.25$) を示した。

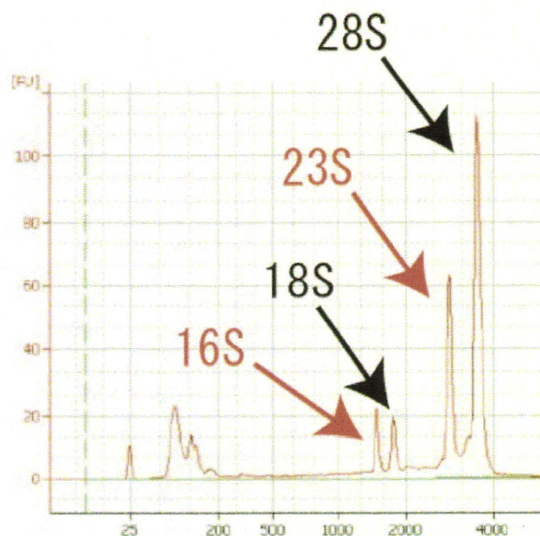


図2：クラミジアアレイに供した RNA の検定例

Mat116 感染 HeLa 細胞から調製した全 RNA よりクラミジア由来 RNA を濃縮し、アジレントアナライザを用いて検討した。矢印（黒）は宿主細胞の 18S、28S rRNA を、矢印（赤）はクラミジア由来の rRNA（16S、23S）を示す。

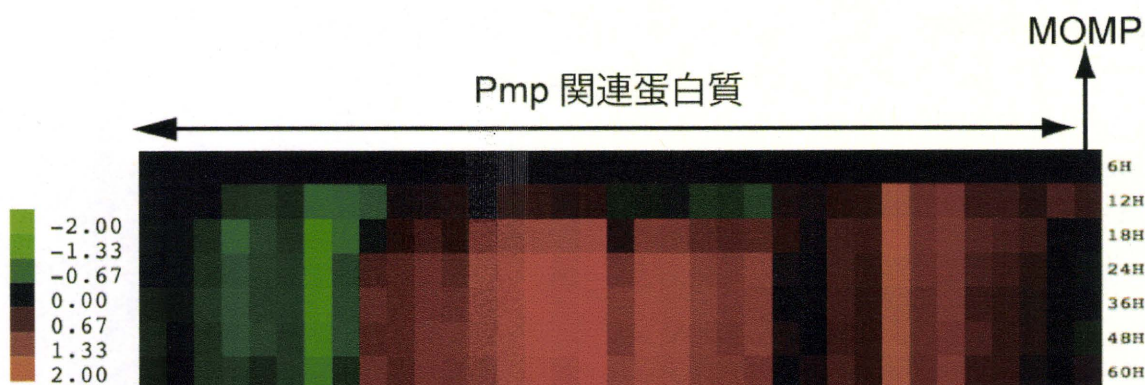


図3：感染細胞内におけるクラミジア遺伝子発現プロファイル

アレイ解析のデータのうち、外膜蛋白質群を抜粋し経時的な発現プロファイルをヒートマップで示した。感染 6 時間後 (6H) の発現量を基準とし、発現量が少ないものは緑、多いものは赤色で示した。Pmp：多型膜蛋白質。MOMP：主要外膜蛋白質。

厚生労働省科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）分担
研究報告書

動物由来クラミジアの自然界における存在様式の解明-比較ゲノム解析及び種特異的診
断法の開発と実態調査

—PC を用いたゲノム情報の解析

研究分担者 福士 秀人 岐阜大学応用生物科学部 教授

研究協力者

安藤 秀二	国立感染症研究所	ウイルス第一部	室長
黒田 誠	国立感染症研究所	病原体ゲノム解析センター	室長
関塚 剛史	同		研究員

研究要旨：*Chlamydophila psittaci*によるオウム病は四類感染症に指定され、国内でも集団発生を含む年間 40 例前後の発生が見られる人獣共通感染症である。クラミジアのゲノムに関しては、性器クラミジア *Chlamydia trachomatis* や肺炎クラミジア *C. pneumoniae* 等において公開されているが、研究開始時点で、人獣共通感染症の起因菌として重要な *C. psittaci* ゲノムに関して公開されているものはなかった。そこで、*C. psittaci* の病原性解析及び種鑑別診断系開発を、比較ゲノム解析の視点から行うために、*C. psittaci* 日本分離株 Mat116 株の全ゲノム配列決定を試みた。今年度は、これまでに Roche454 GS20 とサンガー法により決定した Mat116 株配列の精度向上を目的に、Illumina GAII を用いて再解読を行った。再解読の結果、ギャップやフレームシフトと推定される領域を修正することができ、Mat116 株ゲノム配列を完全決定した。*C. psittaci* 近縁他種株の配列解析を開始した。対象としたのは、強毒株として *C. psittaci* Borg 株、羊流産クラミジア *C. abortus* との中間型である *C. psittaci* Daruma 株、*C. psittaci* から独立した種となった *C. pecorum* Maeda 株の 3 菌種株である。調製した各菌種株のゲノム DNA を Illumina GAII 解析に供し、Mat116 株配列をレファレンスにコンティグの並びを推定した。

A.研究目的

C. psittaci 感染により生じるオウム病は、年間 40 例程の発生が認められ、感染症法にて 4 類感染症に指定されている全

数把握疾患であり、その臨床上的重要性は明らかであるが、ゲノム配列に関して公開されているものはなかった。そこで本分担課題では、オウム病クラミジアを

始めとした動物由来クラミジアの自然界における存在様式の解明を、比較ゲノム解析の視点から行うために、*C. psittaci* ゲノム配列の解読と比較解析を行う。これらから得られる知見から、我が国において発生したオウム病クラミジアの宿主特異性や病態発現機序の実像解明を目的とする。また、得られたゲノム情報を元に、属・種特異的抗原の探索による簡易・迅速診断法の開発のための基礎的情報とすることを目的とする。

B.研究方法

ゲノム解析には、Illumina Genome Analyser (GA) II を用いた。今年度解析に供したのは、*C. psittaci* Mat116 株、Daruma 株、Borg 株、*C. pecorum* Maeda 株の4菌種株である。解析に供したゲノム DNA は、いずれも以下の通り調製した。クラミジアの培養には浮遊型マウス L 細胞 (SL 細胞) を用いた。十分に封入体を形成しているクラミジア感染 SL 細胞 (11 程度) を回収し、超音波により細胞を破壊し菌体を溶出させた。培養上清中の菌体は、10,000g で 1 時間遠心し沈殿させた。両者を合わせ、DNAase 処理により宿主細胞由来 DNA を破壊したのち、シヨ糖密度勾配遠心法に供し、菌体を精製した。菌体の精製度は、ギメネツ染色により顕微鏡下で確認した。精製菌体からのゲノム DNA は QIAGEN 社の Blood & Cell Culture DNA kit を用いた。得られたリードのアセンブルのためのレファレ

ンスには、これまでに決定した *C. psittaci* Mat116 株の配列を用いた。菌体の調製等は研究代表者である大屋が行い、国立感染症研究所の安藤秀二室長、黒田誠室長、関塚剛史研究員の協力を得た。

(倫理面への配慮)

クラミジアの取扱は、「クラミジア感染症の診断法開発および病態解析」として岐阜大学より組み換え DNA 実験として承認を得ている。個人情報の取扱等、人権の保護に関しては、今年度の実施項目では該当しない。申請者、研究分担者、いずれも岐阜大学大学院医学研究科が主催した「医学研究等倫理講習会」を修了しており、人患者血清の使用等必要が生じた際は岐阜大学の倫理委員会に諮ることのできる体制を整えている。

C.研究結果

1. *C. psittaci* Mat116 株ゲノムの再解読

昨年度までに、Roche 454 GS20 シーケンサーとサンガー法により決定した Mat116 株ゲノムについて、Illumina GAII を用いて再解読を行った。Roche454 で決定した配列をレファレンスに、Illumina で得られたリードをマッピングし、図 1 に示すような精度の劣る箇所を確認し、フレームシフトやギャップの想定される領域 90 箇所程度を修正した。修正した配列は再度 NCBI の annotation pipeline システムを用いてアノテーションを行った (アクセッション

番号 CP002274)。現在はマニュアルによるアノテーションの確認と修正を行っている。

2. *C. psittaci* 近縁他種株の配列解析

C. psittaci ゲノム配列の比較解析を行うために、*C. psittaci* 近縁他種株の配列解析を開始した。対象としたのは表 1 に示す 3 菌種株、強毒株としての Borg 株、他種クラミジア (*C. abortus*) との中間型としての Daruma 株、*C. psittaci* より独立した *C. pecorum* Maeda 株である。各精製菌体より抽出したゲノム DNA を Illumina GAII 解析に供し、Mat116 株配列をレファレンスにコンティグをマッピングした (図 2)。現在は、ギャップクローズ作業中である。

D. 考察

今年度は、これまでに Roche454 GS20 とサンガー法により決定した Mat116 株配列の精度向上を目指して、Illumina GAII による再解読を行った。Roche454 シーケンサーを用いた解析では、Illumina シーケンサーによる解析より得られるリード長は長いものの、ホモポリマー領域の精度が劣る点がある。Illumina による再解読を行うことにより、フレームシフトやギャップの想定される領域を 90 箇所程度修正することができ、この時点で Mat116 株配列の完全決定とした。NCBI の pipeline システムによりアノテーションを行い、マニュアルによ

る確認を行っているところである。この Mat116 株配列を基に、*C. psittaci* 近縁他種株の配列解析に着手することができた。コンティグの並びを推定したところ、予想された通り、Mat116 株と同種である *C. psittaci* Borg 株と Daruma 株では、*C. pecorum* Maeda 株に比べ Mat116 株との相同性が高く、次年度中の配列決定を目指している。由来、病原性の異なる近縁他種株の比較解析により *C. psittaci* の病原性や宿主域に関する知見が得られることを期待している。

E. 結論

今年度得られた成果の概要は以下の通りである。

- ・*C. psittaci* Mat116 株ゲノムの再解読を行った。

- ・由来や病原性の異なる *C. psittaci* 近縁他種株 3 菌種株の配列解読に着手した。

F. 研究危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

原著論文

Murao W, Wada K, Matsumoto A, Fujiwara M, **Fukushi H**, Kishimoto T, Monden K, Kariyama R, Kumon H
Epidemiology of *Chlamydomphila caviae*-like *Chlamydia* isolated from urethra and uterine cervix.

Acta Med. Okayama 64:1-9, 2010.

Okuda H, **Ohya K**, Shiota Y, Kato H, **Fukushi H**

Detection of *Chlamydomphila psittaci* by Using SYBR Green Real-Time PCR. J. Vet. Med. Sci. 73:249-254, 2011.

Ohya K, Okuda H, Maeda S,

Yamaguchi T, **Fukushi H**

Using CF0218-ELISA to distinguish *Chlamydomphila felis*-infected cats from vaccinated and uninfected domestic cats.

Vet. Microbiol. 146:366-370, 2010.

Katoh H, **Ohya K**, Ise K, **Fusushi H**

Genetic Analysis of Beak and Feather Disease Virus Derived from a Cockatiel (*Nymphicus hollandicus*) in Japan.

J. Vet. Med. Sci. 72:631-634, 2010.

Kasem S, Yu MH, Yamada S, Kodaira A, Matsumura T, Tsujimura K,

Madbouly H, Yamaguchi T, **Ohya K**, **Fukushi H**

The ORF37 (UL24) is a neuropathogenicity determinant of equine herpesvirus 1 (EHV-1) in the mouse encephalitis model.

Virology 400:259-270, 2010.

Ogawa H, Katoh H, Sanada N, Sanada

Y, **Ohya K**, Yamaguchi T, **Fukushi H**

Virus Genes 41:231-235, 2010.

Fujiwara M, **Fukushi H**, Kishimoto T,

Monden K, Kariyama R, Kumon H:

Epidemiology of *Chlamydomphila caviae*-like *Chlamydia* Isolated from

Urethra and Uterine Cervix.

Acta Med Okayama 64:1-9, 2010.

総説

Katoh H, Ogawa H, **Ohya K**, **Fukushi H**

A Review of DNA Virus Infections in Psittacine Birds.

J. Vet. Med. Sci. 72: 1099-1106, 2010.

福士秀人：鳥類のクラミジア感染症。

INK+ 8: 8-9, 2010.

小川恵子, **福士秀人**：野生動物が保有する耐性菌について。感染 炎症 免疫 40: 66-68, 2010.

著書

なし

2.学会発表

Ohya K, Okuda H, Kuroda M, Sekizuka T, Meyers G, Kishimoto T, Andoh S,

Fukushi H: Complete genome sequence of *Chlamydomphila psittaci* Mat116

strain isolated in Japan. 2011

Chlamydia basic research meeting, Mar.
18-21, 2011 CA

大屋賢司、福士秀人：オウム病クラミジアのゲノム解析・鑑別診断法開発と病態解明を目指して、平成 22 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会（招待講演）、H23.2.11（岐阜）

大屋賢司、黒田誠、関塚剛史、Meyers Garry、岸本寿男、安藤秀二、福士秀人：オウム病クラミジア集団発生事例分離株の全ゲノム配列決定、第 10 回人と動物の感染症研究会、H22.10.30（東京）

奥田秀子、大屋賢司、福士秀人：日本国内における鳥類のオウム病クラミジアの

保菌調査、第 150 回日本獣医学会学術集会、H22.9.16-18（帯広）

3.講演会

福士秀人：宮崎での流行、緊急・岐阜シンポジウム～口蹄疫を理解する、H22.6.20（岐阜）

福士秀人：口蹄疫について、獣医界を取り巻く最近の課題・話題、H22.7.7（関）

H.知的財産権の出願・登録状況

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

表 1 : 本課題で配列解析の対象とした *Chlamydophila* spp.

種名	<i>C. psittaci</i>			<i>C. pecorum</i>
株名	Mat116	Borg	Daruma	Maeda
由来	アカハラヒメコ ンゴウインコ	ヒト	ダルマインコ	ウシ
疾患	オウム病	オウム病	オウム病	肺炎
参考文献	Matsui ら、 Epidemiol. Infect., 2007	Olsen ら、Pub. Health Rep., 1944	Fukushi ら、J. Bacteriol., 1989	Fukushi ら、Int. J. Syst. Bacteriol., 1992
備考	鳥展示施設にお ける集団発生事 例時に分離。	ヒトでの死亡 例・二次感染あ り。	DNA fingerprint 解析により <i>C.</i> <i>psittaci</i> と <i>C.</i> <i>abortus</i> の中間型 とされる。	遺伝学・血清学的 解析により、 <i>C.</i> <i>psittaci</i> から独立 した種となった。



図 1 : Illumina GAI II による *C. psittaci* Mat116 株ゲノムの再解読
 Roche454 GS20 およびサンガー法により決定した Ma116 株配列について、Illumina
 GAI II による再解読を行った。これまでに決定した配列をレファレンス(最上段の配列)
 に Illumina リードをマッピングしたデータを示す。これまでに決定した配列はホモポ
 リマーの領域で精度が劣ることが確認できる。

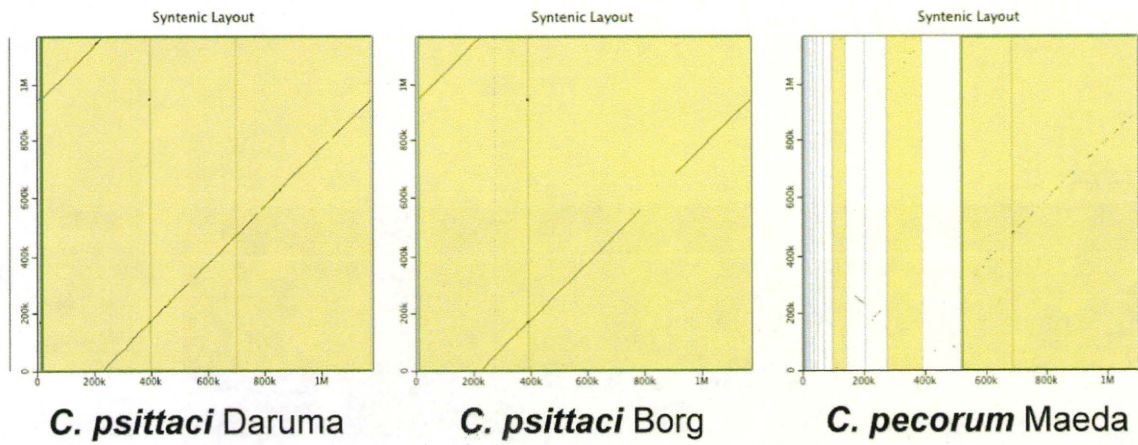


図 2 : Illumina 解析に供した *C. psittaci* 近縁他種株ゲノムコンティグの並び
 得られた各菌種株のコンティグを Mat116 株配列をレファレンスにマッピングし
 OSLay (<http://ab.inf.uni-tuebingen.de/software/oslay/>) により視覚化した。Mat116
 株と同種の Daruma 株、Borg 株では *C. pecorum* と比べ Mat116 株ゲノムと相同性が
 高いことが分かる。