

戦略的国際科学技術協力推進事業（日本－タイ研究交流）  
「バイオテクノロジー」 課題終了報告書

1. 研究交流課題: 「DigiTag2 法による結核菌の検出と型判別を目的とした DNA チップ<sup>®</sup> の開発」
2. 研究期間: 平成 24 年 10 月～平成 28 年 3 月
3. 支援額: 総額 14,340,000 円
4. 主な参加研究者名:

日本側チーム(研究代表者を含めて 6 名までを記載)

	氏名	所属	役職
研究代表者	徳永勝士	東京大学大学院医学系研究科	教授
研究者	西田奈央	同上	研究員
研究者	大前陽輔	同上	研究員
研究者	豊岡理人	同上	研究員
研究者	前田伸司	公財)結核予防会結核研究所 抗酸菌部	科長
研究者	野内英樹	公財)結核予防会複十字病院 臨床検査部	科長
研究期間中の全参加研究者数		12名	

相手側チーム(研究代表者を含めて 6 名までを記載)

	氏名	所属	役職
研究代表者	Angkana Chaiprasert	Dept. of Microbiology, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahi dol University (MU)	Associated Pr ofessor, Dr.
研究者	Prapaporn Srilohasin	-ditto-	Ph.D. candida te
研究者	Therdsak Prammananan	BIOTEC, Ministry of Sc ience	Researcher
研究者	Nat Smittipat	-ditto-	Researcher
研究者	Surakameth Mahasirimongko l	Dept. of Medical Scien ces, Ministry of Publi c Health	Researcher
研究者	Prasit Palitta pongarnpim	Dept. of Microbiology, Faculty of Science MU	Professor
研究期間中の全参加研究者数		9 名	

#### 4. 研究・交流の目的

本研究交流は、簡便でハイスループットな結核菌の遺伝系統型判定法を開発することを目的とする。具体的には、日本側は、遺伝子多型解析を簡便かつ大量に実施可能な DigiTag2 法を活用した結核菌用 DNA チップ<sup>®</sup> 開発を行い、タイ側は同チップ<sup>®</sup> を大量の臨床分離株に適用し、病原体側の遺伝的背景の差異と宿主要因との相関解析を行う。

#### 5. 研究・交流の成果

##### 5-1 研究の成果

目的通り、簡便でハイスループットな結核菌の遺伝系統判型定法をヒトゲノムの解析に開発した DigiTag2 システムを結核菌ゲノム解析に応用する事で開発し、計画当初の 900 株を上回る 1,414 株の結核菌のゲノム解析をし、タイにおける結核菌遺伝型の分布を同定し

た。病原体の遺伝的背景の差異とヒトの遺伝要因との相関解析を実施し、最初に同定された HLA 領域の相互作用については学会発表し論文を進めている。更に、次世代シーケンサーを活用した結核菌全ゲノム解析は当初計画に沿い小規模にタイ側主導で進め論文発表したが、更に英国サンガー研究所と共同で大規模に進める事ができた。研究論文 7 編を発表し、その内 2 編は本分野で著名な米国微生物学会誌に受諾された。

#### 5-2 人的交流の成果

タイ側の予算で日本に滞在し、徳永や西田の指導を受け DigiTag2 法で作成した DNA チップ法の最適化と実験評価を担ったマヒドン大学博士課程生の Prapaporn Srilohasin 氏は学位取得時に 2014 年度の最優秀博士論文賞を受賞した。今後のタイとの共同研究を担う Surakameth 氏が日本人類遺伝学会 JHG (Journal of Human Genetics) 優秀論文賞を 2015 年 10 月 16 日に受賞し講演した。日本側若手研究者もタイのフィールドに行き、日本では得難いフィールド経験を積んだ。大前陽輔氏や豊岡理人氏を含む 4 名の東大徳永研のポスドクや大学院博士課程生にも発表機会を与えて、若手研究者の育成を図りつつ研究を活性化し、豊岡氏はアジア太平洋組織適合性学会にて最優秀ポスター賞を受賞した。

#### 6. 本研究交流による主な論文発表・主要学会での発表・特許出願

論文 or 特許	・論文の場合：著者名、タイトル、掲載誌名、巻、号、ページ、発行年、DOI ・特許の場合：知的財産権の種類、発明等の名称、出願国、出願日、 出願番号、出願人、発明者等	特記 事項
論文	Srilohasin P, Chaiprasert A, Tokunaga K, Nao N, Prammananan T. Novel DNA Chip Based on a Modified DigiTag2 Assay for High-Throughput Species Identification and Genotyping of Mycobacterium tuberculosis Complex Isolates. J Clin Microbiol. 2014; 52(6):1962-8. doi: 10.1128/JCM.00153-14.	博士論文の一部
論文	Srilohasin P, Chaiprasert A, Tokunaga K, Nishida N, Prammananan T, Smittipat N, Mahasirimongkol S, Chaayasirinroje B, Yanai H, Palittapongarnpim P. Genetic Diversity and Dynamic Distribution of Mycobacterium tuberculosis Isolates Causing Pulmonary and Extrapulmonary Tuberculosis in Thailand. J Clin Microbiol. 2014; 52(12):4267-74. doi: 10.1128/JCM.01467-14.	マヒドン大優秀博士論文賞
論文	Regmi SM, Coker OO, Kulawonganunchai S, Tongsimma S, Prammananan T, Viratyosin W, Thaipisuttikul I, Chaiprasert A Polymorphisms in drug-resistant-related genes shared among drug-resistant and pan-susceptible strains of sequence type 10, Beijing family of Mycobacterium tuberculosis. International J of Mycobacteriology 2015(4):67-72 doi.org/10.1016/j.ijmyco.2014.11.050	
学会発表	Toyo-oka L, Mahasirimongkol S, Yanai H, Mushiroda T, Wattanapokayaki S, Wichukchinda N, Yamada N, Smittipat N, Nedsuwan S, Kantipong P, Takahashi A, Kubo M, Sawanpanyalert P, Tokunaga K: HLA association analysis stratified by specific strains of M. tuberculosis identify susceptible HLA class II alleles to tuberculosis., Asia-Pacific Histocompatibility and Immunogenetics Association Conference, Bangkok, October 10-14, 2015.	学会若手最優秀ポスター賞受賞
論文	Sowajassatakul A, Coker OO, Prammananan T, Chaiprasert A, Phunpruch S. Draft Genome Sequence of Amikacin- and Kanamycin-Resistant Mycobacterium tuberculosis MT433 without rrs and eis Mutations. Genome Announc. 2015; 3(6).pii: e01363-15. doi: 10.1128/genomeA.01363-15.	