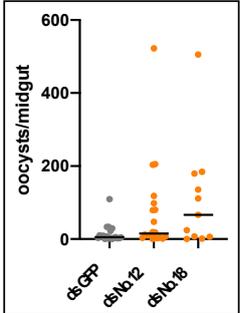


帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

令和3年5月20日

採択番号	2020-共同-11		
研究部門	感染免疫研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	福本 晋也
研究課題名	雄ハマダラカ・マラリア原虫易感染モデルによるベクターコンピテンシー制御機構の解明		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	いかだい ひろみ 筏井 宏実	北里大学獣医学部・准教授	
研究分担者			
	ふくもと しんや 福本晋也	帯広畜産大学原虫病研究センター・准教授	
研究期間	2020年4月1日～2021年3月31日		
目的・趣旨	<p>ハマダラカがマラリア原虫の感染を受けるオーカイネートからオーシスト形成期は原虫数が最も減少し、原虫感染に対して最も重要な防御免疫応答を起こす時期である。</p> <p>様々な節足動物において、病原微生物に対する感受性雌雄差が報告されている。申請者はハマダラカにもマラリア原虫感受性の雌雄差があるとの仮説を立て、その立証を試みた。オーカイネートのマイクロインジェクションにより、本来吸血をしない雄に対しマラリア原虫を感染させることに成功した。次にオーシスト数を指標として雌雄ハマダラカのマラリア原虫感染表現型を解析した。その結果、雄ハマダラカが雌と比較し、高いマラリア原虫感受性を持つことを明らかにした。</p> <p>以上の結果を踏まえ、本研究では原虫感染時の雌雄ハマダラカ遺伝子シグナル応答を比較解析し、マラリア原虫の感受性を規定する因子を同定、そのメカニズムを解明することを目的とする。</p>		

<p>研究経過の概要</p>	<p>マイクロインジェクション感染モデルにより、雄ハマダラカが雌と比較し高い感受性を示すこと、オーシストの形成部位に組織特異性が無いことが明らかになった。次に、オーカイネートインジェクション後、24・72 時間後の遺伝子発現を次世代シーケンサーによる RNA-Seq 法を用いて比較解析した。その結果、雌雄双方においてインジェクション後 24 時間で最も有意な遺伝子転写変動が認められた。</p> <p>以上の結果を基盤として、ハマダラカのマalaria原虫ベクターコンピテンシー制御因子の同定を目指す。発現量増加遺伝子については RNAi による遺伝子機能阻害、減少したものはバキュロウイルスによる過剰発現を行い、マalaria原虫を吸血もしくはインジェクション法により感染、表現型の解析を行う。オーシスト形成数の変動を指標として、マalaria原虫感受性因子の同定を目指す。さらにはその分子メカニズムの解明を試みる。</p> <p>以下の主な計画に沿って実施されている。</p> <ol style="list-style-type: none"> ① dsRNA の作製(福本)および RNAi ハマダラカ作製(筏井) ② RNAi ハマダラカを用いたマalaria原虫感染試験(筏井) ③ 遺伝子過剰発現(OE)ハマダラカ作製(福本) およびマalaria原虫感染試験(筏井) ④ 原虫排除機構の解析(筏井・福本)
<p>研究成果の概要</p>	<p>マalaria原虫オーカイネートのインジェクション感染モデルにより、雄ハマダラカが雌より高い感受性を持つことを明らかにした。また、次世代シーケンサー解析においてインジェクション後 24 時間で最も有意な遺伝子転写変動が認められた。これらの結果より本年度は、オーカイネートインジェクション 24 時間後に雌ハマダラカが原虫抵抗性因子を発現していると仮説を立て、雌蚊の発現増加がみられた上位 20 遺伝子について、① dsRNA の作製および RNAi ハマダラカ作製、② RNAi ハマダラカを用いたマalaria原虫感染試験を行い、原虫感受性因子のスクリーニングを実施した。</p> <div style="display: flex; align-items: flex-start;"> <div style="flex: 1;">  <p>#18-RNAi 雌蚊は陰性コントロールの GFP-RNAi 雌蚊と比べて明らかにオーシスト形成数が多くなり感受性を示す結果となった(図)。</p> </div> <div style="flex: 2;"> <p>2020 年度は、20 遺伝子中 15 遺伝子について dsRNA の作製が行なわれた。その内 8 遺伝子について、RNAi 雌ハマダラカ作製を試み、マalaria原虫感染(オーシスト形成)試験を実施した。</p> <p>スクリーニング途中ではあるが、左に結果の一部を示す。</p> <p>雌蚊(抵抗性)において発現量が増加した No.18 遺伝子を RNAi することにより抵抗性が減弱し、オーシスト形成数が多くなったと推察される結果が得られた。</p> <p>今後は、残りの遺伝子および雄蚊の発現量増加遺伝子など様々な仮説に基づいた候補遺伝子についても順次スクリーニングを実施し、マalaria原虫感受性因子の同定をおよびその分子メカニズムの解明を試みる予定である。</p> <p>本年度は来所できながったが、Web およびメールでのディスカッションを実施し、旅費に関する経費を研究課題遂行に必要な、試薬および研究用消耗品の購入に変更した。</p> </div> </div>
<p>研究成果の発表</p>	