

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27日

採択番号	2020-共同-12		
研究部門	国際連携研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	麻田 正仁
研究課題名	非固有宿主馴化バベシア原虫を用いた宿主域決定因子の同定		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	やまぎしじゅんや 山岸 潤也	北海道大学・人獣共通感染症国際共同研究所・准教授	
研究分担者			
	あさだ まさひと 麻田 正仁	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>一般的にバベシア原虫の宿主特異性は高く、ウシのバベシア原虫 <i>Babesia bovis</i> がヒツジやヒトに感染することはない。しかしながら、げっ歯類のバベシア原虫 <i>B. microti</i> はヒトにも感染することが知られており、薬剤にて変異導入した <i>B. bovis</i> がヒト赤血球に馴化することも知られている。すなわち、バベシア原虫は宿主域の壁を超えるポテンシャルを有している。非固有宿主に馴化した原虫の宿主転換に関わる責任遺伝子は、ゲノム、トランスクリプトームを高精度に解析することで明らかにできる。そこで、1)ヒト赤血球馴化 <i>B. bovis</i> の再創出に加え、2)ヒツジ赤血球馴化 <i>B. bovis</i> の創出、3)ヒト赤血球馴化 <i>B. microti</i> の創出を試み、ゲノム・トランスクリプトームを行うことで、その分子メカニズムの解明を試みることを目的に、研究を行った。</p>		
研究経過の概要	<p>本研究では、バベシア原虫の宿主特異性に関わる分子機構を明らかにし、当該原虫が人獣共通感染症を引き起こしうるかを見積もるために、<i>B. bovis</i>、<i>B. microti</i>、<i>B. ovis</i> をモデルに、化学物質によるゲノム変異の導入、ヒト赤血球への馴化、ゲノム・トランスクリプトーム解析を行う。その第一段階として、本年度は、私信にとどまっていた <i>B. bovis</i> のヒト赤血球への馴化の再現に成功した。さらに、馴化株4クローンと親株のゲノム解析を行い、ほぼ染色体に近いゲノムアセンブルの取得に成功した。そこで、4株の馴化株に共通する変異の特定を行ったが、該当する一塩基多型は見つからなかった。そこで、エピジェネティックな、あるいは、ゲノムの構造変化に伴う遺伝子発現変化がヒト赤血球への馴化に関与すると考え、馴化株4クローンと親株のトランスクリプトームを取得した。その結果、馴化株で発現してる VESA 遺伝子および周辺遺伝子の配列と発現量に多様性が認められた。</p>		

<p>研究成果の概要</p>	<p>ヒト赤血球馴化 <i>B. bovis</i> の再創出と、馴化に関わる分子機構の解明</p> <p>1) <i>B. bovis</i> クローン株の準備 <i>B. bovis</i> Texas 株クローンを利用し、MinION とイルミナを用いた Hybrid-assembly によりゲノムを確定した。最終 contig は長いものから、2.7M bp、2.6M bp、1.9M bp、1.1 Mbp であり、それぞれ4本の染色体数に相当すると考えられる。ただし、上記以外の断片的な contig も認められ、3 年前に樹立したクローンのゲノム構造変化が既に起こっている可能性が考えられた。</p> <p>2) ヒト赤血球への馴化 <i>B. bovis</i> クローン株を独立に N-ニトロソ-N-エチル尿素で処理し、ウシ・ヒト混合赤血球で培養することで、4株のヒト赤血球馴化 <i>B. bovis</i> の取得に成功した。</p> <p>3) ヒト赤血球馴化 <i>B. bovis</i> のゲノム解析 上記4クローンの re-sequencing を行い、想定通りゲノム当たり数百か所の変異が確認された。さらに、4株の馴化株に共通する変異の特定を行ったが、該当する一塩基多型は見つからなかった。そこで、一塩基多型ではなく、ゲノム構造変化に起因する可能性を考え、4株のうち1株について、Hybrid-assembly による <i>de novo</i> ゲノム解析を行った。その結果、アピコプラスト、ミトコンドリアを含む6本のコンティグからなる完全なゲノム配列の再構成に成功した。</p> <p>4) ヒト赤血球馴化 <i>B. bovis</i> のトランスクリプトーム解析 親株および4株の馴化株のトランスクリプトームを取得し、Trynity で転写産物を再構成した結果、VESA 遺伝子および周辺遺伝子の配列と発現量に多様性がある可能性が示唆された。現在、<i>de novo</i> ゲノム解析で得た配列を参照ゲノムとして利用することで、その確認を進めている。</p> <p>ヒト赤血球馴化 <i>B. microti</i> の創出 <i>B. bovis</i> でヒト赤血球への馴化に成功したことをうけ、<i>B. microti</i> のヒト赤血球への馴化にも着手した。この <i>B. microti</i> のヒト赤血球を用いた <i>in vitro</i> 培養は成功していないが、<i>B. microti</i> が人獣共通感染症を引き起こすことは広く知られており、ヒト赤血球に感染する潜在能力は十分に有していると考えられる。そこで最初に、赤血球の一部をヒト赤血球に置換した SCID-Bo-RBC マウスに <i>B. microti</i> を感染させることで、<i>B. bovis</i> と同様に馴化が起こるか確認する実験を予定しており、その準備を進めている。</p>
<p>研究成果の発表</p>	<p>特記事項なし。</p>