

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2022年6月9日

採択番号	2021-共同-14		
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	ネズミマラリア原虫における Brca2 による雌ガメートサイトへの分化		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	よしかわ やすなが 吉川 泰永	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	2021年4月1日 ~ 2022年3月31日		
目的・趣旨	<p>マラリア原虫における雌雄ガメートサイトへの分化は、マラリア原虫の生活環において必須のステージである。我々は相同組換え修復に関する Brca2 の研究を行ってきた。ネズミマラリア原虫においても Brca2 の特徴をもつタンパク質がデータベース上に存在したので、ノックアウト原虫を作製した。予想外なことに、ノックアウト原虫において雌雄ガメートサイト比率が変化し、雌ガメートサイトへの分化が抑制される結果が得られた。そこで本研究では、ネズミマラリア原虫において Brca2 がどのように雌ガメートサイトへの分化に貢献しているのかを解明することを目的とした。</p>		
研究経過の概要	<p>貴研究センターの福本先生に Brca2 のノックアウト原虫を作製していただき、吉川がこのノックアウト原虫の解析を行ってきた。2021年度はコロナウイルス感染症流行のため、貴研究センターを訪問する事が難しかったので、適宜、メールによるディスカッションを行い、共同研究を遂行した。その結果、以下の研究成果の概要に示すようにマラリア原虫における Brca2 の重要性が徐々に明らかになり始めました。これまでに得られた成果を現在論文にまとめ投稿中である。</p> <p>貴研究センターへの旅費を計上していたが、前述のように訪問することが出来なかったため、その分の予算は共同研究の遂行に必要な消耗品の購入に充てた。</p>		

<p>研究成果の 概 要</p>	<p>(1) 病原性に対する影響 前年度までに Brca2 ノックアウト原虫において赤血球感染率の低下とマウスに対する病原性が低下することを示した。さらに今年度、Brca2 ノックアウト原虫において赤内型のステージ比率を調べたところ、リング期が増加し、トロフォゾイト期が減少した。この結果は Brca2 がリング期からトロフォゾイト期への発育に貢献していることが予想され、このことが赤血球感染率の低下につながると考えられた。</p> <p>(2) スポロゾイトに対する影響 前年度までに Brca2 ノックアウト原虫においてガメートサイトの形成数、接合した後のオーカイネート形成数およびオーシスト形成数が低下することを示した。今年度はオーシスト内で発育し、蚊の唾液腺に移行するスポロゾイトに着目して解析した。まず、蚊に感染後 28 日目の唾液腺を採材し、唾液腺にスポロゾイトが存在するか観察した。Brca2 ノックアウト原虫においては全くスポロゾイトが観察されなかった。次に感染後、7,14, 21 日目の中腸を採在し、オーシストにおけるスポロゾイトの発育を電子顕微鏡により観察した。Brca2 ノックアウト原虫は 7 日目までは野生型と同程度の発育を示したが、それ以降スポロゾイトの形成は観察できなくなり、21 日目では、オーシストが退縮していく様子が観察された。また、14 日目からオーシストが脱落していく様子も観察された。</p> <p>これらの結果は、Brca2 がスポロゾイトの分化に必須であり、Brca2 をノックアウトしたことでマalaria原虫の生活環がスポロゾイトに分化出来ないことで回転しなくなる事が示唆された。</p> <p>(3) Brca2 の各ドメインの機能解析 マalaria原虫 Brca2 のクローニングを現在行っており、今後ノックアウト原虫や野生型原虫に導入することで、Brca2 タンパク質のどの領域が雌雄分化等に重要であるのか解析する予定である。</p>
<p>研究成果の 発 表</p>	<p>なし</p>