

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2024年5月27日

採択番号	2023-共同-11		
研究部門	診断治療研究部門	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	マラリア原虫のスポロゾイト形成における Brca2 の機能		
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	2023年4月1日 ～ 2024年3月31日		
目的・趣旨	<p>マラリア原虫は蚊が吸血した際に雌雄ガメートサイトが雌雄ガメートとなり接合する。そして減数分裂を行い、中腸の基底膜にオーシストを形成して、次世代のスポロゾイトを形成する。</p> <p>マラリア原虫において相同組換えは減数分裂時の組換え反応や DNA 二本鎖切断時の相同組換え修復に必須な機構なので、マラリア原虫においても重要な機構である。我々は、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に注目し、研究を行ってきた。この研究の過程でマラリア原虫では Brca2 は雌ガメートサイトへの分化に貢献していることが推測された。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、および、ネズミマラリア原虫における DNA 損傷に対する Brca2 の機能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から分与いただいた EGFP を発現するマラリア原虫に Brca2 のアミノ酸配列の一部を強制発現するマラリア原虫の作製を試みている。</p> <p>1月に貴研究センターを訪問した際に福本先生と研究内容についてディスカッションを行った。さらに、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。</p>		

<p>研究成果の 概 要</p>	<p>Brca2 のドメインの機能解析</p> <p>前回の共同研究における成果として 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、ガメトサイトの形成数、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、このオーシストにはスポロゾイトが形成されないことも観察した。</p> <p>今年度は、マalaria原虫 Brca2 のどの領域がスポロゾイト形成に必要であるか解析するために Brca2 のドメインの一部をクローニングし、野生型ネズミマalaria原虫に導入する計画を考えた。現在までにマalaria原虫 Brca2 のドメインとして、相同組換え酵素 Rad51 と相互作用する領域である BRC repeats と呼ばれるドメインと DNA と相互作用する可能性がある OB-Tower ドメインのクローニングに成功した。これらのドメインは、赤色蛍光タンパク質である DsRed-Monomer との融合タンパク質を発現するベクターにクローニングした。現在、ネズミマalaria原虫にトランスフェクトすることを試みているが、成功までには至っていない。</p> <p><i>in vitro</i> での DNA 結合解析</p> <p>ネズミマalaria原虫 Brca2 の OB-Tower ドメインは、AlphaFold2 による立体構造解析により、ヒト BRCA2 の OB-Tower ドメインと類似している領域として推定した。立体構造として DNA と相互作用する可能性が高いと考えられるが、実際に DNA との相互作用は証明されていない。そこで、リコンビナントタンパク質を発現、精製して、実際に DNA と相互作用することを <i>in vitro</i> において確認する計画を立てた。この解析に必要なリコンビナントタンパク質を発現するためのベクターを構築し、現在組換えタンパク質の発現および精製を試みている。</p>
<p>研究成果の 発 表</p>	<p>本研究課題に関わる成果発表は未だ行っておりません。</p>