

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2025 年 5 月 30 日

採択番号	2024 共同-15		
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 <i>Brca2</i> のスポロゾイト形成における機能の解明		
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・研究総括	
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 (役割分担) マラリア原虫の遺伝子発現操作	
研究期間	2024 年 4 月 1 日 ～ 2025 年 3 月 31 日		
目的・趣旨	我々はネズミマラリア原虫(<i>Plasmodium berghei</i>)において相同組換えに貢献する <i>Brca2</i> のノックアウト原虫を作製した。<i>Brca2</i> のノックアウト原虫では、赤内型原虫の増殖率とガメートサイト形成率が減少した。さらにノックアウト原虫において雌ガメートサイトへの分化が抑制され、オーカイネート形成数とオーシスト形成数が減少した。特にスポロゾイトが無形成であり、<i>Brca2</i> はネズミマラリア原虫の生活環の維持、特にスポロゾイト形成に必須であることを示した。本研究では、マラリア原虫のスポロゾイト形成に <i>Brca2</i> がどのように貢献しているのか解明することを一つの目的とした。さらにマラリア原虫 <i>Brca2</i> の <i>in vitro</i> の機能解析は全く報告されていない。マラリア原虫 <i>Brca2</i> の分子メカニズムの解明を目指して、<i>in vitro</i> の実験系により DNA との相互作用を解析することも試みる。		
研究経過の概要	貴研究センターの福本先生から分与いただいた EGFP を発現するネズミマラリア原虫(<i>Plasmodium berghei</i>)に <i>Brca2</i> 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。また、<i>in vitro</i> の実験を行うために <i>Brca2</i> のアミノ酸配列の一部を組換えタンパク質として大腸菌を用いて精製することを試みた。 9 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。		
研究成果の概要	<i>Brca2</i> の一部のドメインを強制発現させることでドミナントネガティブ効果を調べるために EGFP 発現ネズミマラリア原虫における強制発現実験を行った。共同研究者の福本先生のアドバイスを得つつ、実験を行っているが、残念ながら現在までに組換えマラリア原虫の作出には至っていない。 <i>Brca2</i> の機能ドメインのリコンビナントタンパク質を解析する実験系において、大腸菌における発現ベクターに <i>Brca2</i> の DNA 結合ドメインをコードする領域をクローニングした。		

	このベクターを用いて、<i>Brca2</i> の DNA 結合領域を His タグ融合タンパク質として発現させることを試みた。大腸菌において <i>Brca2</i> の DNA 結合ドメインを強制発現し、His タグ融合タンパク質を精製できることを確認した。しかしながら、タンパク質の収量が非常に少なく、<i>in vitro</i> の実験に用いるだけのタンパク質量を得ることが出来ていない。これは、大腸菌破碎後に不溶性画分に多くの組換えタンパク質が存在しているためであることが予想されている。そこで、現在、可溶性画分における組換えタンパク質量を増加させるために大腸菌にシャペロン遺伝子を導入して、精製を試みている。今後、組換えタンパク質を精製し、様々なタイプの DNA との相互作用を解析する予定である。
研究成果の 発 表	本研究課題に関わる成果発表は未だ行っておりません。