

# 学 位 論 文 の 要 旨

三 重 大 学

所 属	三重大学大学院医学系研究科 甲 生命医科学専攻 基礎医学系講座 医動物・感染医学	氏 名	にし つばき 西 翔
主論文の題名			
Identification of a novel AP2 transcription factor in zygotes with an essential role in <i>Plasmodium</i> ookinete development			
主論文の要旨			
<p>マラリア原虫は三大感染症の一つマラリアの病原体であり、蚊の吸血によってヒトとヒトとの間を媒介される。原虫は蚊へと移行する際、有性生殖ステージを経由する。そのため、原虫有性生殖ステージはマラリア伝搬において非常に重要な細胞ステージである。この時期に原虫は受精して、オーキネートへと生育し、蚊の中腸へと侵入することで感染を成立させる。従来、原虫接合体の生育は雌性生殖母体由来の mRNA によって促進され、新たな転写は受精後の初期には起こらないと考えられていた。一方、マラリア原虫は少数の転写因子（約 30 種の AP2 ファミリー転写因子といくつかのその他の転写因子）のみで複雑な生活環を制御する生物であることが知られている。そして、限られた転写因子の数で細胞ステージを複雑に変化させるために、この原虫は非常に単純な遺伝子制御機構によって各ステージの生育を促進している。</p> <p>本研究で我々はネズミマラリア原虫 <i>Plasmodium berghei</i> において、接合体特異的転写因子 AP2-Z を同定し、その機能を調べることで、原虫接合体においては雌性生殖母体由来の mRNA のみならず、<i>de novo</i> の転写が生育に必須であることを明らかにした。<i>ap2-z</i> は生殖母体分化・形成のマスター転写因子 AP2-G の標的遺伝子として同定された。以前の研究では、AP2-Z は雌性生殖母体における発現し、その遺伝子をノックアウトすると接合体からオーキネートの間（レトート形態）で生育が止まってしまうことが確認されていた。本研究では、<i>ap2-z</i> は雌性生殖母体で転写されるが、その mRNA は翻訳抑制状態で保持され、受精後に翻訳されることが明らかとなり、AP2-Z が実際には接合体で機能することが証明された。AP2-Z の ChIP-seq 解析を行うと、AP2-Z は特定の DNA 配列([T/C][A/C]TG[A/T]AC[A/G])に結合し、オーキネート形成に重要な遺伝子の多くを標的遺伝子として含むことが明らかとなった。続いて、RNA-seq 解析により、これらの標的遺伝子は受精後 6 時間で発現が上昇しており、接合体において <i>de novo</i> の転写があることが分かった。さらに、<i>ap2-z</i> ノックアウト原虫の RNA-seq 解析を行うと、AP2-Z 標的遺伝子の発現が低下していたことから、AP2-Z は転写活性化因子として標的遺伝子の活性化に関わっていることが示された。</p>			

これらに加え、本研究では、*ap2-z* の上流に存在する AP2-G と雌性生殖母体マスター転写因子 AP2-FG の結合配列に変異を加えることで、AP2-Z の発現が失われることを示した。このことから、*ap2-z* の転写は AP2-G と AP2-FG によって誘導されること、また雌性生殖母体からオーキネート形成までの生育において、マスター転写因子のカスケードが存在することを証明した。さらに、有性生殖ステージ全体における遺伝子制御機構の全体像を理解するため、AP2-FG やオーキネートマスター転写因子 AP2-O と AP2-Z との標的遺伝子比較解析を行った。この解析結果から、原虫のステージ生育に沿って、各転写因子の標的遺伝子が増加していることが明らかとなった。また、この比較解析結果をもとに、AP2-Z 標的遺伝子の中の機能未知のものから、オーキネート形態形成に関わる新たな遺伝子を発見した。

本研究の成果は、マラリア原虫接合体およびオーキネートの生態を解明するうえで非常に有力な情報を与えるものである。またこれらの情報をもとに、マラリア伝搬阻止ワクチンの新たな標的候補の探索にも貢献することが期待される。また本研究は、マラリア原虫においてマスター転写因子のカスケードを実験証明した初めての報告であり、原虫の遺伝子制御機構がいかに単純であるかについても重要な知見を与えた。これらは今後、マラリア原虫の他の細胞ステージにおいて、同様の研究を展開する際に、非常に良い参考となるだろう。