

学位論文審査結果の要旨

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 分野	氏 名	にし 翔 <small>にし しょう</small>
審 査 委 員	主 査 野阪 哲哉 副 査 西村 有平 副 査 竹本 研		
<p>(学位論文審査結果の要旨)</p> <p>Identification of a novel AP2 transcription factor in zygotes with an essential role in <i>Plasmodium</i> ookinete development</p> <p>【主論文審査結果の要旨】</p> <p>著者らは論文において下記の内容を述べている。</p> <p>【背景】</p> <p>マラリア原虫はヒトとハマダラカの間を行き来する寄生虫である。この原虫は非常に単純な遺伝子制御機構によって複雑な生活環を制御している。このため、原虫の転写因子の標的遺伝子解析を行うことは、細胞ステージ形成機構を調べるうえで、非常に有力な情報を与える。</p> <p>マラリア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。この有性生殖ステージの転写因子の研究過程で、生殖母体形成のマスター転写因子 AP2-G とメス生殖母体マスター転写因子 AP2-FG の標的遺伝子として接合体特異的転写因子遺伝子 <i>ap2-z</i> が同定された。</p> <p>【目的】</p> <p>マラリア原虫の接合体特異的転写因子 AP2-Z の機能を調べることで、接合からオーキネート形成までの遺伝子制御機構の全体像を明らかにすることを目的とした。</p> <p>【方法】</p> <p>本研究では、ヒトマラリア原虫のモデルとしてネズミマラリア原虫 <i>Plasmodium berghei</i>を用いた。実験では、CRISPR/Cas9 システムを応用したゲノム編集技術を用いて、発現解析やノックアウト表現型解析を行った。また、ChIP-seq 解析や RNA-seq 解析などの NGS を応用した実験を行った。これらを通して、AP2-Z の機能や有性生殖ステージにおける転写因子のカスケードについて調べた。</p> <p>【結果】</p> <p>発現解析、ノックアウト表現型解析および RIP-qPCR 解析の結果から、<i>ap2-z</i> はメス生殖母体</p>			

では翻訳抑制の状態で保持され、接合体にて初めて翻訳され機能することが明らかとなった。ChIP-seq 解析を行うと、AP2-Z は特定の DNA 配列に結合し、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、接合体において AP2-Z が標的遺伝子の *de novo* の転写を活性化していることが示された。これらの結果は、マラリア原虫の接合体ではメス由来の mRNA のみならず、AP2-Z によって誘導される *de novo* の転写も重要であることを示した。

ap2-z の上流に存在する AP2-G と AP2-FG の結合配列に変異を加えると、AP2-Z の発現が完全に失われたことから、*ap2-z* の転写は AP2-G と AP2-FG によって誘導されることが明らかとなった。さらに、オーキネートのマスター転写因子遺伝子 *ap2-o* は AP2-Z の標的遺伝子に含まれていたため、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が示された。さらに、AP2-FG、AP2-Z、AP2-O の標的遺伝子比較解析によって、原虫の接合体後の生育では、オーキネート形成に必要な遺伝子群が経時的に制御され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の発見に成功した。

この論文は、マラリア原虫接合体ステージのマスター転写因子 AP2-Z の機能を明らかにするとともに、マラリア伝搬に重要な有性生殖ステージの遺伝子制御機構を解明したものであり、学術上極めて有益かつ学位論文として価値あるものと認めた。

PLoS Pathogens 2022; 18(8): e1010510
Published: August 10, 2022
doi: 10.1371/journal.ppat.1010510

Tsubasa Nishi, Izumi Kaneko, Shiroh Iwanaga, Masao Yuda