

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	石川 ^{いしかわ} (村田 ^{むらた}) 優穂 ^{ゆうほ}
審 査 委 員	主 査 西村 有平 副 査 後藤 英仁 副 査 竹本 研		

(学位論文審査結果の要旨)

Coordinated regulation of gene expression in *Plasmodium* female gametocytes by two transcription factors

【主論文審査結果の要旨】

著者らは論文において下記の内容を述べている。

【背景】

マラリア原虫の有性生殖に不可欠なステージである生殖母体は、マラリア原虫の蚊への感染においても、中心的な役割を果たしている。このステージでの遺伝子制御を解明することは、マラリア原虫のライフサイクルを断つ新たな戦略を開発するために極めて重要である。我々はこれまでの研究で雌生殖母体特異的転写因子AP2-FGを同定している。AP2-FGは10塩基の雌特異的シス作用配列に結合し、数百の遺伝子の転写を直接制御している。AP2-FGの発現は雌生殖母体形成初期から始まり、雌生殖母体成熟後まで継続する。しかしながらAP2-FGをノックアウトした原虫においても未成熟ながら雌生殖母体は形成され、雌特異的転写も観察される。従って、AP2-FG以外にも雌特異的転写を誘導する転写因子が存在する可能性が考えられた。

【目的】

今回我々は新たに発見した雌特異的転写因子 PFG の雌生殖母体形成における役割、雌特異的転写における AP2-FG との関係を解明することを目的として本研究を実施した。

【方法】

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 *Plasmodium berghei*を用いた。実験では、ノックアウト原虫を用いた表現型解析、ChIP-seq 解析

などの NGS を応用した転写機構の解析を実施した。

【結果】

GFP 融合 PFG 発現原虫を用いた蛍光顕微鏡観察から、PFG の発現は AP2-FG の発現より数時間遅れ、雌生殖母体形成後期に始まることが明らかになった。PFG 遺伝子を破壊すると、大部分の雌特異的遺伝子の転写が著しく低下し、原虫は蚊への感染能を完全に失った。ChIP-seq 解析の結果、PFG のピークの位置は AP2-FG のピークと一致しており、10 塩基の雌特異的シス作用配列がピークの中心に存在していた。このことから、これらの転写因子は複合体を形成して 10 塩基配列に結合していることが示唆された。AP2-FG を破壊した原虫で PFG の ChIP-seq 解析を実施したところ、ピークの位置は変化しなかった。一方、PFG を破壊した原虫で AP2-FG の ChIP-seq 解析を実施したところ、10 塩基のピークは消失し、（それらの背後に隠れていた）GCTCA の 5 塩基を含むピークが出現した。これらの結果は AP2-FG が単独では 5 塩基モチーフと結合すること、PFG が AP2-FG の 10 塩基モチーフへの結合を仲介していることを示していた。プロモーターアッセイでは、この 5 塩基のモチーフも雌特異的シス作用エレメントであることが証明された。ChIP-seq のデータに基づく標的遺伝子の解析では、AP2-FG 単独の標的および PFG との複合体の標的は一部重複しているものの、それぞれのユニークな標的遺伝子には機能的な違いがあることが明らかになった。以上の結果より、AP2-FG が単独および PFG との複合体として連続的に転写を活性化することにより、マラリア原虫の雌生殖母体形成が進行することが示唆された。

この論文は、新規転写因子 PFG の機能を明らかにするとともに、マラリア伝搬に重要な雌生殖母体における遺伝子発現制御機構の全体像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。

eLife

Received: December 30, 2023

Accepted: January 10, 2024

Yuho Murata, Tsubasa Nishi, Izumi Kaneko, Shiroh Iwanaga, Masao Yuda