

2023 年度年次報告書

細胞操作

2023 年度採択研究代表者

津久井 久美子

東京大学 大学院医学系研究科

客員研究員

寄生虫を操作する

主たる共同研究者:

岩永 史朗 (大阪大学 微生物病研究所 教授)

嘉糠 洋陸 (東京慈恵会医科大学 医学部 教授)

丸山 治彦 (宮崎大学 医学部 教授)

研究成果の概要

本年度、ゲノム編集技術が確立していない赤痢アメーバ、豚鞭虫、芽殖孤虫、糞線虫について、技術開発に向けた基礎研究を実施した。赤痢アメーバでは、Cas9 タンパク質の発現と核移行条件の確立を目指し、death-domain (DD)-Cas9 発現プラスミド導入株を樹立し、RNP 導入条件を最適化した。DD-Cas9 については、NLS 数を最大 4 個としたプラスミド、また赤痢アメーバ NLS を持つ Cas9 タンパク質について合成中である。豚鞭虫については、マイクロニピッグを宿主とする豚鞭虫感染実験系のプロトコルの改良を実施し、産卵直後で発生を停止させた状態で豚鞭虫卵を維持する方法の確立に成功した。芽殖孤虫については、マウスを用いた感染実験系および嫌氣的培養系の改良を行うとともに、芽殖孤虫の虫体片の生死判定手法等の技術開発を実施した。ネズミ糞線虫では体内移行経路を再検討し、*Strongyloides ratti* の感染実験系をマウスからラットへ変更した。日本株の頭部への移行、英国株の効率的な肺への移行が再現された。移行虫体の RNAseq 解析を実施し、236 の移行経路関連遺伝子候補を同定し、特に発現量の差が大きい 20 遺伝子について今後解析を進める予定である。さらに、虫体へのマイクロインジェクション法の手技を確立した。

ゲノム編集技術が確立しているマラリア原虫については、ヘテロクロマチンにアクセス可能な CRISPR-Cas12a_Ultra (Cas12a-UL)を用い、原虫由来感染赤血球表面抗原のゲノム編集による除去を進めた。Cas12a-UL によるテロメア近傍の切断、感染赤血球表面抗原除去後の末端がテロメラーゼにより修復されることを検討し、これを確認した。続いて、21 ヶ所のテロメア近傍領域を同時に除去することを試みた結果、16 ヶ所の除去に成功し、テロメアが修復された。現在、感染赤血球表面抗原遺伝子群の約 50%の除去に成功している。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Kounosu A, Sun S, Maeda Y, Dayi M, Yoshida A, Maruyama H, Hunt V, Sugimoto A, Kikuchi T. Syntenic relationship of chromosomes in *Strongyloides* species and *Rhabditophanes diutinus* based on the chromosome-level genome assemblies. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* (2024) 379:20220446. doi: 10.1098/rstb.2022.0446.
- 2) Murata Y, Nishi T, Kaneko I, Iwanaga S, Yuda M. Coordinated regulation of gene expression in *Plasmodium* female gametocytes by two transcription factors. *Elife.* (2024) 12:RP88317. doi: 10.7554/eLife.88317.
- 3) Nishi T, Kaneko I, Iwanaga S, Yuda M. PbARID-associated chromatin remodeling events are essential for gametocyte development in *Plasmodium*. *Nucleic Acids Res.* (2024) gkae207. doi: 10.1093/nar/gkae207.