
ステージ変換能欠失トキソプラズマ株の作出と 新規生ワクチンとしての有用性の検証

鹿児島大学共同獣医学部・准教授 正谷 達膳

■ 目的

トキソプラズマ(*Toxoplasma gondii*)とは、ネコ科動物を終宿主とし、ヒトや他の動物へ感染する原虫である。感染した動物は流産を起こし、特に羊産業では経済的に大きな損失をもたらすことがある。*T.gondii*は、タキゾイトと呼ばれる急速増殖虫体として感染するが、宿主体内でブラディゾイトと呼ばれる緩慢に増殖する虫体にステージ変換し、シストに包まれることで免疫を回避する。我々は、タキゾイトからブラディゾイトへのステージ変換に重要な遺伝子を同定し、当該遺伝子を欠損させることによってブラディゾイトに変換できない虫体を作成すれば、新規家畜用弱毒生ワクチンとして利用可能ではないかと考え、Yeast one hybrid(Y1H)法によりステージ変換関連因子の同定を試みた。

■ 方法

これまでに我々がバイオインフォマティクス技術により特定したブラディゾイト特異的シスエレメント(Bz-cis)と予想される塩基配列に相互作用するトキソプラズマ遺伝子を同定するため、Bz-cis配列をゲノム中にもつ酵母株を作成した。アラビアゴム溶液を用いてブラディゾイトのみを精製し、RNAを抽出した。精製ブラディゾイトRNAより作成したcDNAライブラリを形質転換した酵母株より、ステージ変換関連シスエレメント配列に結合する遺伝子をもつ酵母をAureobasidin Aによる薬剤スクリーニングにより選抜した。得られた酵母株より、組み込まれたcDNA配列をPCRで増幅し、遺伝子配列を決定した。

■ 結果および考察

112個のAureobasidin A耐性酵母(陽性クローン)を得ることができた。これらクローンに組み込まれたcDNA配列をPCRで増幅し、遺伝子配列を決定した結果、大多数がヒト由来の遺伝子配列またはコンタミと考えられる未知配列(由来生物不明)であった。一方、トキソプラズマ配列由来の遺伝子も5種類見出された。うち4種類は機能未知の遺伝子であり、アノテーションはなされていない。一方、1種類はX遺伝子として登録されている遺伝子と高い相同性を示した。

■ 結語

本研究期間に生ワクチンのプロトタイプの開発までは至らなかったものの、トキソプラズマのブラディゾイト精製ならびにY1H法による候補遺伝子探索のプラットフォームを形成した。現在、得られた原虫遺伝子の機能解析ならびにノックアウト原虫の創出を実施している。