

課題番号	LS057
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成23年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	マラリア原虫人工染色体を用いた革新的耐性遺伝子同定法の確立と応用
研究機関・ 部局・職名	国立大学法人三重大学・医学系研究科・准教授
氏名	岩永 史朗

1. 当該年度の研究目的

本プロジェクトでは熱帯熱マラリア人工染色体を用い、耐性原虫由来遺伝子ライブラリーを直接、原虫内に構築し、これをスクリーニングすることによって迅速かつ正確に薬剤耐性遺伝子を同定することを目指している。H23年度は遺伝子ライブラリーの完成度の検討を目的とし、実際に人工染色体を用い薬剤耐性原虫から遺伝子ライブラリーを構築することを試みた。また原虫の薬剤耐性能の精査を目的とし、蛍光プローブを用いた高感度な評価システムの確立を試みた。更にタイに設置したフィールドサイトにおいて患者由来感染血液から薬剤耐性熱帯熱マラリア原虫株を分離した。

2. 研究の実施状況

昨年度に開発した直接遺伝子導入法と人工染色体を用い、薬剤耐性原虫ゲノムから遺伝子ライブラリーを直接原虫内に構築した。即ち、クロロキン耐性原虫株より約10~50kbのゲノムDNA断片を調製し、これらを熱帯熱マラリア人工染色体へ組み込んで原虫内へ導入した。その結果、人工染色体が導入された組換え原虫が得られ、実際に原虫内に遺伝子ライブラリーが作製されたことが示唆された。続いてライブラリーから原虫をクローン化し、導入されたインサートDNAについてCHEF電気泳動及びゲノムウォーク法により解析したところ、これらが10~20kbのインサートDNAを持つ独立したクローンであることが明らかとなった。またライブラリー中に存在するクローン数をFlow cytometer並びに限界希釈法によって検討した結果、約1000クローンであることが判明した。以上の結果と原虫ゲノムが約25Mbであることを根拠にライブラリーのゲノム被覆度を算出したところ1回の実験で原虫ゲノム全体を0.4~0.8カバーしたライブラリーを構築できることが明らかとなった。

また原虫の薬剤耐性能の精査を目的とし、高感度な評価システムの確立を試みた。具体的には蛍光プローブとスペクトロメーターによって原虫ゲノムDNAのみを検出し、これを指標として薬剤の原虫に与える影響を検討した。その結果、寄生率0.1%以下でも薬剤の影響を検出でき、放射性同位元素を用いた従来法と同程度の感度であることが判明した。

更にタイ-ミャンマー国境地域に設置したフィールドサイトにおいてマラリア患者より血液を採取し、約100株の安定培養株を得た。これらの中からクロロキン耐性及びピリメサミン耐性株を合計19株、単離することにも成功した。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 2 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 1 件 Iwanaga S, Kato T, Kaneko I, Yuda M. Centromere Plasmid: A New Genetic Tool for the Study of Plasmodium falciparum.: PLoS One. 2012;7(3):e33326 (<a href="http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0033326">http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0033326</a>) (掲載済み一査読無し) 計 0 件 無し (未掲載) 計 1 件 Iwanaga S, Kaneko I, Yuda M. A high-coverage artificial chromosome library for the genome-wide screening of drug-resistance genes in malaria parasites. Genome Res. 2012 May;22(5):985-92. (ISSN:1088-9051)</p>
<p>会議発表 計 6 件</p>	<p>専門家向け 計 5 件 (1) International Union Microbiological Societies 2011 Congress, Shiroh Iwanaga (invited speaker), Functional characterization of the Plasmodium centromere and generation of the Plasmodium Artificial Chromosome.: Sapporo, 6-10 September, 2011 Federation of Microbiological Societies of Japan. (2) 分子寄生虫ワークショップ 2011, 岩永史朗 (世話人), マラリア原虫肝臓ステージでの遺伝子発現を制御する転写因子に関する研究, 神戸市, 2011年10月21日-23日, 分子寄生虫ワークショップ委員会 (3) 第 81 回日本寄生虫学会大会, 今井孝, 石田英和, 鈴江一友, 平井誠, 谷口委代, 岡田紘子, 鈴木智久, 岩永史朗, 久枝一, マラリア原虫は赤芽球に感染し CD8T 細胞を活性化する, 西宮市, 2012 年 3 月 23 日-24 日, 日本寄生虫学会 (4) 第 81 回日本寄生虫学会大会, 岩永史朗, 金子伊澄, 油田正夫, マラリア原虫人工染色体を用いた薬剤耐性遺伝子同定法の開発, 西宮市, 2012 年 3 月 23 日-24 日, 日本寄生虫学会 (5) 第 81 回日本寄生虫学会大会, 金子伊澄, 岩永史朗, 加藤知美, 油田正夫, マラリア原虫肝臓ステージの遺伝子発現を制御する転写因子の研究, 西宮市, 2012 年 3 月 23 日-24 日, 日本寄生虫学会 一般向け 計 1 件 (1) 平成 23 年度科学技術戦略推進費シンポジウム「国際共同研究から科学技術外交推進へ -国際戦略展開をいかに推進するか-」: 岩永史朗, マラリア原虫薬剤耐性遺伝子を同定する革新的技術の開発, 東京都, 2012 年 2 月 21 日, 文部科学省</p>
<p>図書 計 0 件</p>	<p>無し</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件 無し (出願中) 計 0 件 無し</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p><a href="http://www.medic.mie-u.ac.jp/idoubutsu/">http://www.medic.mie-u.ac.jp/idoubutsu/</a></p>

様式19 別紙1

<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>(1)三重大学—高田高等学校・高大連携事業:2011年12月22日,三重大学医学部,私立高田高等学校1年生,参加者約30名,「内閣府 最先端・次世代開発研究支援プログラム」の寄生虫系3課題採択者(岩永史朗・嘉糠洋陸・西川義文)によってそれぞれの専門領域に関する講義と寄生虫学実習を実施し,採択者らの研究への理解を深めるとともに将来、大学における講義を模擬体験させた。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載計1件</p>	<p>(1)雑誌:最新医学・第67巻・第2号において採択者(岩永史朗)の研究内容に関するインタビュー記事掲載 トップランナーに聞く(14):マラリア原虫の薬剤耐性蔓延問題の解決を目指して</p>
<p>その他</p>	<p>(1)三重大学2012年度概要において採択者(岩永史朗)の研究を紹介する記事</p>

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

## 1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	126,000,000	65,840,000	0	60,160,000	0
間接経費	37,800,000	19,752,000	0	18,048,000	0
合計	163,800,000	85,592,000	0	78,208,000	0

## 2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	61,840,000	0	0	61,840,000	41,865,794	19,974,206	0
間接経費	18,552,000	0	0	18,552,000	12,559,738	5,992,262	0
合計	80,392,000	0	0	80,392,000	54,425,532	25,966,468	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	36,752,326	遺伝子導入システム、フローサイトメーター、マウス等
旅費	321,400	研究打合せ、学会出席等
謝金・人件費等	4,416,502	博士研究員・技術補佐員人件費
その他	375,566	ジェネティックアナライザ修理、論文投稿手数料等
直接経費計	41,865,794	
間接経費計	12,559,738	
合計	54,425,532	

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
遺伝子導入シス テム	LONZA NUCLEOFECTO R-II 514-22171	1	997,500	997,500	2011/4/27	三重大学
フローサイトメ ーター	米国ベクトン・テイ ン社製・BD LSRFORTESSAセ ルアナライザ-1	1	28,113,750	28,113,750	2011/6/21	三重大学
				0		