

14.DNA マイクロアレイを用いたマウス肝におけるトリパノソーマ抵抗性候補遺伝子の検出

[要約] 多数の遺伝子断片をスライドガラス上に固定した DNA マイクロアレイを用い、トリパノソーマ症マウスにおける発現遺伝子を網羅的に調べることにより、トリパノソーマ抵抗性因子の候補遺伝子を検出することができ、マウス肝では 169 遺伝子が候補遺伝子として発現している。

所属	国際農林水産業研究センター・畜産草地部			連絡先	029(838)6308		
推進会議名	国際農林水産業	専門	家畜衛生	対象	実験動物	分類	研究

[背景・ねらい]

トリパノソーマ症はアフリカ等に蔓延する家畜および人の原虫性疾患で、当該地域の畜産に対する大きな阻害要因となっている。感染や発病に対する抵抗性が動物の品種あるいは系統により異なることが知られており、抵抗性因子の同定が防除法確立にむけての重要な課題となっている。これまでに、症状や生体変化から特定の因子に着目してその抵抗性との関連を探る解析が進められているが、この手法は抵抗性機構の全貌を解明するには効率的ではない。そこで、多数の遺伝子発現プロファイルを一度に調べることのできる DNA マイクロアレイを作製し、トリパノソーマ抵抗性の異なるマウス系統間における抵抗性候補遺伝子の網羅的な検出を行う。

[成果の内容・特徴]

- 7,445 種の遺伝子断片からなる市販マウスオリゴライブラリーをスライドガラス上に固定して、DNA マイクロアレイを作製する。
- C57 マウス (トリパノソーマ抵抗性系統) および AJ マウス (同、感受性系統) にトリパノソーマ原虫を感染させる。組織より RNA を抽出し、赤色あるいは緑色蛍光色素を標識した cDNA を合成する。DNA マイクロアレイと反応させて蛍光強度比を測定することにより、マウス系統間で発現量が異なる遺伝子を検出する (図 1)。
- 原虫感染後 17 日までの、肝における遺伝子発現を解析すると、総計 169 遺伝子の発現量がマウス系統間で異なっている (図 2)。これらの中には、トリパノソーマ抵抗性を決定する因子の有力な遺伝子候補として、急性期蛋白 (感染の初期段階に血中に著名に増加する蛋白質)、サイトカイン、細胞内シグナル伝達因子、補体系、転写調節因子、電子伝達系、代謝関連酵素、イオンチャンネル等の蛋白をコードする遺伝子等が挙げられる (表 1 に遺伝子の一例を示す)。

[成果の活用面・留意点]

DNA マイクロアレイを用いて肝以外の組織についても解析し、感染経過における発現遺伝子のプロファイルを全て把握する必要がある。また、家畜や人のトリパノソーマ症研究への発展的応用が期待される。

[具体的データ]

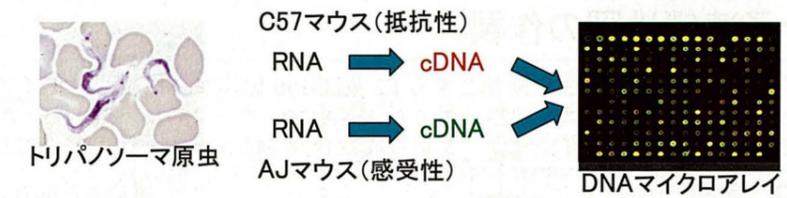


図 1 DNA マイクロアレイを用いた発現遺伝子の比較

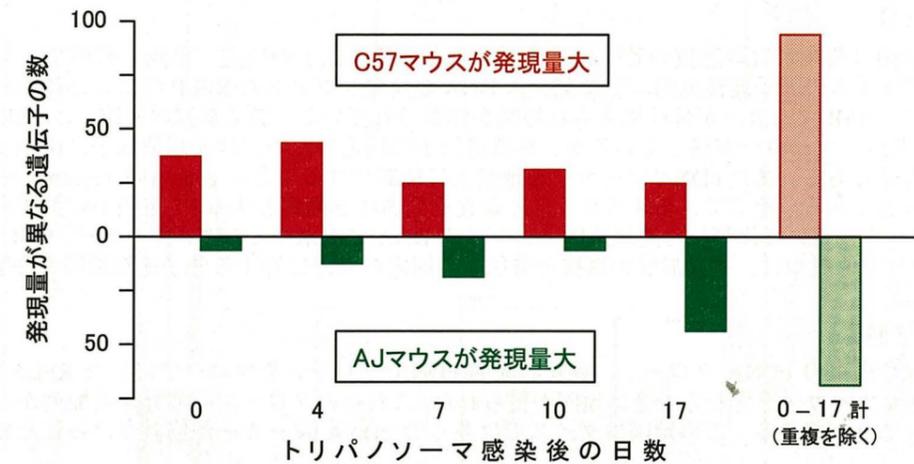


図 2 DNA マイクロアレイを用いて検出された肝における発現量が異なる遺伝子の数

表 1 DNA マイクロアレイを用いて検出された肝における発現量が異なる遺伝子の一例

C57マウスが発現量大

- ・セリンスレオニンキナーゼ25、プレセニン2、インターフェロン活性化因子
- ・インターロイキン2受容体、インターロイキン10関連T細胞由来因子、補体成分5, 9
- ・シトクロムP450 - 2a4, 3a13, 4a12, 7b1、プロスタグランジンD2合成酵素

AJマウスが発現量大

- ・血清アミロイドP、セルロプラスミン、ハプトグロビン、トランスフェリン
- ・ケモカイン CC - 8, 9, 14, 27、ケモカイン CXC - 1, 13、補体分解促進因子
- ・フォスファチジルエタノラミン結合蛋白、アポリポ蛋白A4

[その他]

研究課題：トリパノソーマ症の発症機構及び感染抵抗性機構の解明

予算区分：国際プロ [トリパノソーマ]

研究期間：2002 年度 (2000 ~ 2002 年度)

研究担当者：中村義男、八木行雄 (動物衛生研)、木谷裕 (生物資源研)、土屋佳紀 (動物衛生研)
(国際家畜研究所、リバプール大学、英国医学研究協会との共同研究)