

PRESS RELEASE



2024年 10月 10日

報道機関 各位

遺伝子改変レポーターマラリア原虫に関する総説論文を発表 -マラリア基礎研究や創薬に関する新たな展望を提示-

【ポイント】

- マラリアは、世界的な三大感染症のひとつであり、世界保健機構（WHO）の推計によると、2022年には世界85カ国で2億4,900万人の患者が発生し、60万8,000人が死亡したと推定されています。
- マラリアに関する基礎研究や創薬においては、遺伝子改変レポーターマラリア原虫を使った研究が積極的に行われています。「遺伝子改変レポーター」とは、例えば緑色蛍光タンパク質を用いて遺伝子を組み替えることによって、マラリア原虫の検出・可視化を容易にできるようにすることです。マラリア原虫の状態を“レポート”することから、この名で呼ばれています。
- これまでに数多くの遺伝子改変レポーターマラリア原虫が作出されてきたことから、それぞれがどのように応用してきたか最新の知見を知り、今後のマラリア研究に関する新たな道筋を示すことが重要な課題となっていました。
- 本総説論文では寄生虫研究に関心を持つ研究者や学生を対象として、過去5年間に作出された遺伝子改変レポーターマラリア原虫の有用性、特性、性質をまとめました。さらに遺伝子改変レポーター馬ラリア原虫を使ったヒト体内のステージ、ハマダラカのステージに関する最新の研究を取り上げ著者独自の考察を加えて概説しました。
- 本総説論文によりこれまで個別に進められてきた遺伝子改変レポーターマラリア原虫研究を、包括的に議論できるようにし、新たな着想の下に研究展開することを容易にしました。そして、マラリア研究に関する新たな展望が提示され、基礎研究の有用なツールとなる新たな遺伝子改変レポーター馬ラリア原虫の開発が世界中で進むことが期待されます。

【本総説論文の背景】

・マラリア原虫の生活環

マラリアは熱帯地域でハマダラカにより媒介され甚大な数の患者を出す原虫感染症です。ヒトに病気を引き起こすマラリア原虫の中でも、最も致死的な熱帯熱マラリア原虫が非常に問題となっています。この原虫はヒト赤血球の中で増殖し、発熱、悪寒、貧血といったマラリアの症状をもたらします（赤内期）。一方で、赤内期の原虫の一部はガメトサイト期と呼ばれる状態へと分化し、ハマダラカの吸血により再び蚊の体内へと伝播します。ハマダラカの体内に侵入した熱帯熱マラリア原虫はハマダラカの腸管において、増殖しスポロゾイトと呼ばれるステージへと変化し唾液腺へと移行します。その後、スポロゾイトを保有するハマダラカが再びヒトを吸血することにより、熱帯熱マラリア原虫は再びヒトへと感染します。ヒトの血液に入ったスポロゾイトはまず肝臓に感染しそこでの潜伏期を経た後にヒトの赤血球へと感染しマラリア病態を引き起します。このように熱帯熱マラリア原虫はヒトとハマダラカという二種類の宿主に感染するため、非常に複雑な生活環を有しています（図1）。

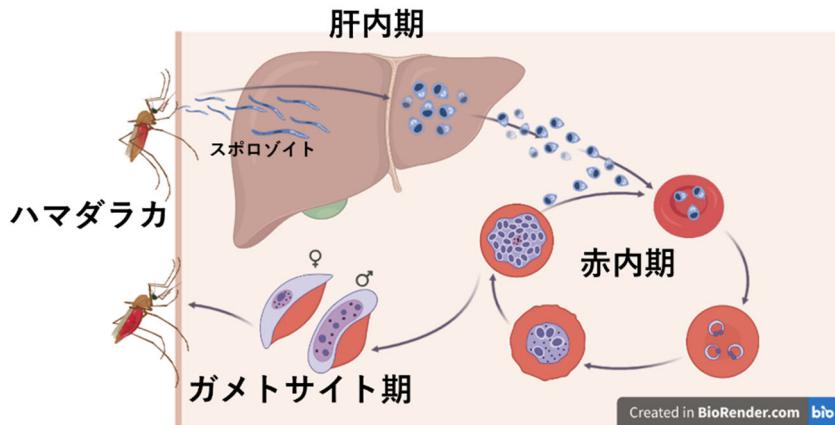


図1 热帯熱マラリア原虫の生活環

・マラリア研究における遺伝子改変レポーターマラリア原虫の応用と発展

複雑な熱帯熱マラリア原虫の生活環を詳細に明らかにするために様々な遺伝子改変レポーターマラリア原虫が多数開発され、基礎研究や創薬研究へと応用されてきました（図2）。これらの遺伝子改変レポーターマラリア原虫は蛍光タンパク質やルシフェラーゼのような様々なレポータータンパク質を発現します。発現するレポータータンパク質によるシグナルを特定の分析機器を用いて解析することで、様々な応用が可能です。具体的には蛍光タンパク質の場合は、蛍光顕微鏡を用いてヒト体内でのステージや蚊の体内でのステージの原虫を検出・可視化することができます。また、ルシフェラーゼを用いた場合はルミノメーターという分析機器で生物発光シグナルを測定することで原虫の数を高感度で正確に定量することができます。このような原虫の定量は多数の抗マラリア活性を持つ化合物の評価を可能にします。

このような遺伝子改変レポーターマラリア原虫は20年以上前に初めて創出されました。その有用性が示された後に、世界中のマラリア研究者たちが独自のアイデアや手法を盛り込み多数の遺伝子改変レポーターマラリア原虫を開発し、基礎研究・創薬研究が推し進められました。遺伝子改変レポーターマラリア原虫は非常に有用なツールなので、寄生虫学に関心を持つ研究者がこの研究分野を把握し、新たな着想の元に研究展開することが非常に重要です。しかしながら、開発が進む遺伝子改変レポーターマラリア原虫の性質は多岐に渡るため、それらの性質を包括的に議論することが必須です。そこで、宮崎幸子助教、宮崎真也助教は主に過去5年間に作出された遺伝子改変レポーターマラリア原虫に関する研究成果をまとめて、本研究分野における新たな道筋を示すことが重要なのではないかと考えました。

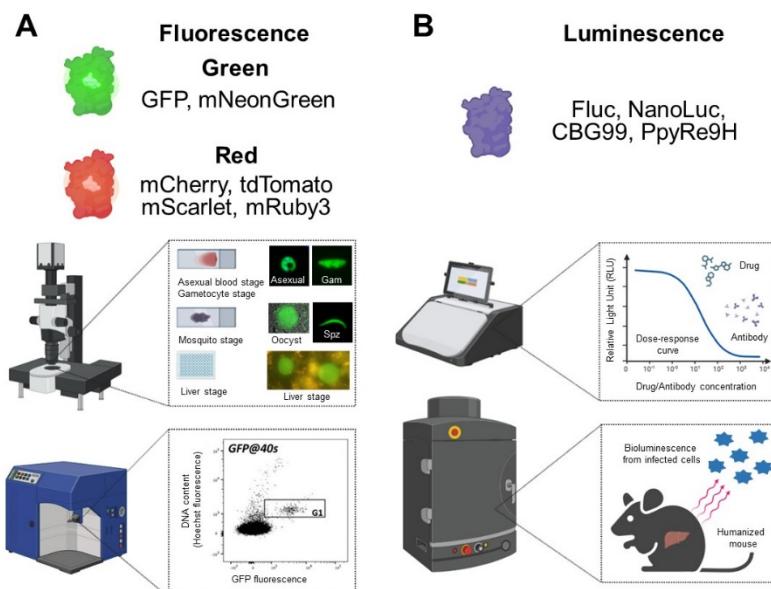


図2 マラリア原虫レポーターラインに関する概念図（本総説論文のFig.1を元に作成）

【本総説の将来展望】

本総説論文では、蛍光タンパク質やルシフェラーゼを発現するマラリア原虫レポーターラインに関する最近の知見を概説し、今後のマラリアに関する基礎研究や創薬に関する新たな展望を示しました。本総説は寄生虫学に興味をもたれた研究者や学生を対象として執筆されました。今後、本総説の内容に基づきマラリア研究に関する基礎研究や創薬研究が進展することが期待されます。

長崎大学熱帯医学研究所ではレポーターマラリア原虫の開発・応用研究を積極的に進めています。本総説で発表したレポーターマラリア原虫（GFP-NanoLuc 発現原虫、Miyazaki Y et al. Commun Biol. 2023）はリクエストに応じてアカデミアや創薬研究者の方への分与や共同研究が可能です。本レポーターマラリア原虫の使用に興味をお持ちになられた研究機関や企業の方がおられましたら、ぜひ本プレスリリース末尾の問い合わせ先にご連絡いただけましたら幸いです。

【論文情報】

掲載誌：**Trends in Parasitology** (Cell Press, 5-year impact factor: 8.1)

論文タイトル：**Reporter parasite lines: valuable tools for the study of *Plasmodium* biology**

著者：Yukiko Miyazaki, Shinya Miyazaki*

所属：長崎大学 热帯医学研究所 原虫学分野

Link: [Reporter parasite lines: valuable tools for the study of Plasmodium biology - ScienceDirect](#)

*Corresponding author, E-mail: smiyazaki@nagasaki-u.ac.jp

【用語解説】

総説論文 (Review article)

ある特定の研究テーマに関する最新の知見を概説する形式の学術論文。著者らが独自に得た研究成果を元に執筆する原著論文 (Original article) とは異なる様式です。今回発表された総説論文は研究者や学生の方を読者として想定して執筆されました。

マラリア

Plasmodium 属の原虫により引き起こされる原虫感染症。ヒトにマラリアを引き起こす *Plasmodium* 属原虫は複数種類が知られていますが、本総説では主にヒトに最も重篤な症状を引き起こす熱帯熱マラリア原虫 (*Plasmodium falciparum*) を対象としました。本原虫は媒介蚊の吸血によりヒトから蚊の体内へと移行し、蚊の体内で増殖した後に蚊の刺咬により再び他のヒトに感染します。そのため、ヒトと蚊というふたつの宿主の中の原虫の両方に効果がある薬が必要とされています。

蛍光タンパク質

緑色蛍光タンパク質 (Green fluorescent protein, GFP) に代表される蛍光を発するタンパク質。ある特定の波長の光を蛍光タンパク質に照射すると別の波長の蛍光が放出されます。特定の分析機器 (e.g. 蛍光顕微鏡、フローサイトメトリー) を使用し蛍光を検出することで蛍光タンパク質の細胞内の場所や量を調べることができます。

ルシフェラーゼ

ホタルルシフェラーゼに代表される酵素反応により発光するタンパク質。ルシフェラーゼが特定の発光物質と反応することで酵素反応が進行し特定の波長の光が放出されます。この放出された光の量を特定の分析機器で検出することでルシフェラーゼの量を測定することができます。

【参考論文】

(Miyazaki Y: 宮崎幸子、Miyazaki S: 宮崎真也)

1. Miyazaki Y[†], Vos MW, Geurten FJA, Bigeard P, Kroeze K, Yoshioka S, Arisawa M, Inaoka DK, Soulard V, Dechering KJ, Franke-Fayard B, Miyazaki S[†]

A versatile *Plasmodium falciparum* reporter line expressing NanoLuc enables highly sensitive multi-stage drug assays.

Communications Biology. 2023 Jul. doi: 10.1038/s42003-023-05078-5 ([†]Corresponding author)

Link: [A versatile Plasmodium falciparum reporter line expressing NanoLuc enables highly sensitive multi-stage drug assays | Communications Biology \(nature.com\)](#)

本学プレスリリース: [マラリア創薬に向けた革新的ツールとなる遺伝子改変原虫を創出—複数のステージを標的とする新たな抗マラリア薬の開発に期待— | 長崎大学 \(nagasaki-u.ac.jp\)](#)

2. Miyazaki S[†], Yang ASP, Geurten FJA, Marin-Mogollon C, Miyazaki Y, Imai T, Kolli SK, Ramesar J, Chevalley-Maurel S, van Gemert GJ, van Waardenburg YM, Franke-Fayard B, Hill AVS, Sauerwein RW, Janse CJ[†], Khan SM

Generation of novel *Plasmodium falciparum* NF135 and NF54 lines expressing fluorescent reporter proteins under the control of strong and constitutive promoters.

Front Cell Infect Microbiol. 2020 Jun 10;10:270. doi: 10.3389/fcimb.2020.00270. ([†]corresponding author)

Link: [Frontiers | Generation of Novel Plasmodium falciparum NF135 and NF54 Lines Expressing Fluorescent Reporter Proteins Under the Control of Strong and Constitutive Promoters \(frontiersin.org\)](#)

3. Marin-Mogollon C, Salman AM, Koolen KMJ, Bolscher JM, van Pul FJA, Miyazaki S, Imai T, Othman AS, Ramesar J, van Gemert GJ, Kroeze H, Chevalley-Maurel S, Franke-Fayard B, Sauerwein RW, Hill AVS, Dechering KJ, Janse CJ, Khan SM

A *P. falciparum* NF54 Reporter Line Expressing mCherry-Luciferase in Gametocytes, Sporozoites, and Liver-Stages.

Front Cell Infect Microbiol. 2019 Apr 16;9:96. doi: 10.3389/fcimb.2019.00096. eCollection 2019.

Link: [Frontiers | A *P. falciparum* NF54 Reporter Line Expressing mCherry-Luciferase in Gametocytes, Sporozoites, and Liver-Stages \(frontiersin.org\)](#)

【謝辞】

この場を借りて、本総説の執筆に関わってくださった全ての方に深く感謝申し上げます。本総説の出版は科学研究費補助金（基盤研究（C）：24K10191、代表者：宮崎真也）によりご支援いただきました。また本総説の英文執筆は Editage (<https://www.editage.jp/>) によりご支援いただきました。

【本リリースに関するお問い合わせ先】

長崎大学 热带医学研究所 原虫学分野 助教

宮崎真也

Email: smiyazaki@nagasaki-u.ac.jp

PRESS RELEASE

10-Oct-2024

Review article on transgenic reporter malaria parasites published. -New perspectives on studying human malaria parasites and drug discovery-

【Summary】

- Malaria is one of the three major global infectious diseases, with the World Health Organisation (WHO) estimating that in 2022 there were 249 million cases and 608 000 deaths in 85 countries worldwide.
- In the study of malaria, the use of genetically engineered reporter malaria parasites has been actively pursued. The term 'genetically modified reporter' refers to the use of recombinant genes, such as green fluorescent protein, to facilitate the detection and visualization of *Plasmodium falciparum*.
- Given the large number of genetically modified *P. falciparum* reporter parasites that have been produced, it is important to have up-to-date knowledge of how each has been applied, and to chart new avenues for future malaria research.
- This review article summarizes the usefulness, characteristics, and properties of the transgenic reporter *P. falciparum* parasites generated over the past five years for researchers and students interested in parasite research. It also outlines the latest research on stages in humans and mosquito vectors using the transgenic reporter, *P. falciparum*, with the author's own insights.
- This review provides new perspectives on malaria research and promotes the development of a new transgenic reporter, *P. falciparum*, which can serve as a useful tool for basic research worldwide.

【Introduction of this review article】

• The life cycle of *P. falciparum*

Malaria is a parasitic disease caused by *Plasmodium falciparum* in the tropic area and causing huge numbers of cases. Of the malaria parasites that cause human disease, the most lethal, *P. falciparum* is of great concern. This parasite multiplies in human erythrocytes and causes malaria symptoms, such as fever, chills, and anemia (asexual blood stage). On the other hand, some *P. falciparum* parasites in human erythrocytes differentiate into a sexual stage known as the gametocyte stage, which is transmitted back into the mosquito by blood sucking. Once inside the body of the mosquito, *P. falciparum* parasites multiply in the midgut of the mosquitoes, where they transform into a stage called sporozoites and migrate to the salivary glands. *P. falciparum* then infects humans again when the sporozoite-bearing mosquito again sucks blood from humans. Once in the human bloodstream, sporozoites first infect the liver, where they undergo an incubation period before infecting human erythrocytes and causing malaria. Thus, *P. falciparum* infects two different hosts, humans and mosquitoes, and has a very complex life cycle (**Fig. 1**).

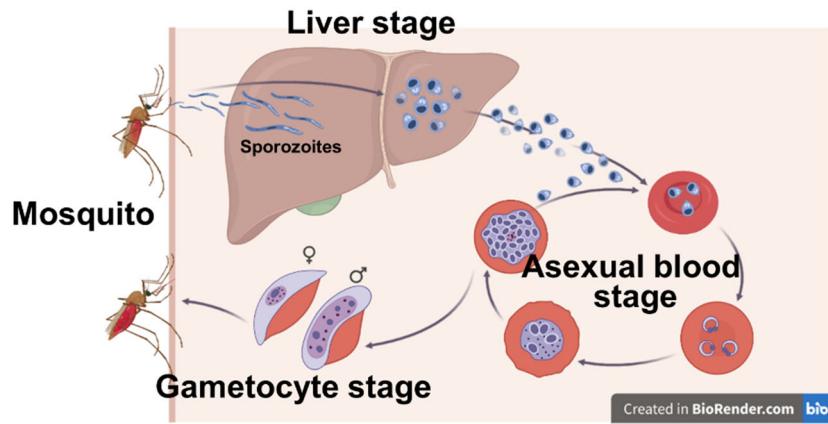


Figure 1. Schematics of the *P. falciparum* life cycle

- Application and development of the transgenic reporter, *P. falciparum*.

A large number of different transgenic reporter *P. falciparum* have been developed to elucidate the complex life cycle in detail and have been applied to basic research and drug discovery (Fig. 2). The transgenic reporter *P. falciparum* expresses various reporter proteins such as fluorescent proteins and luciferases. Signals from expressed reporter proteins can be analyzed using specific analytical instruments for a variety of applications. Specifically, in the case of fluorescent proteins, fluorescence microscopy can be used to detect and visualize the stages in human and mosquito hosts. In the case of luciferases, the number of parasites can be quantified with high sensitivity and accuracy by measuring the bioluminescence signal using a luminometer. Quantification of parasites enables the evaluation of a large number of compounds with antimalarial activity.

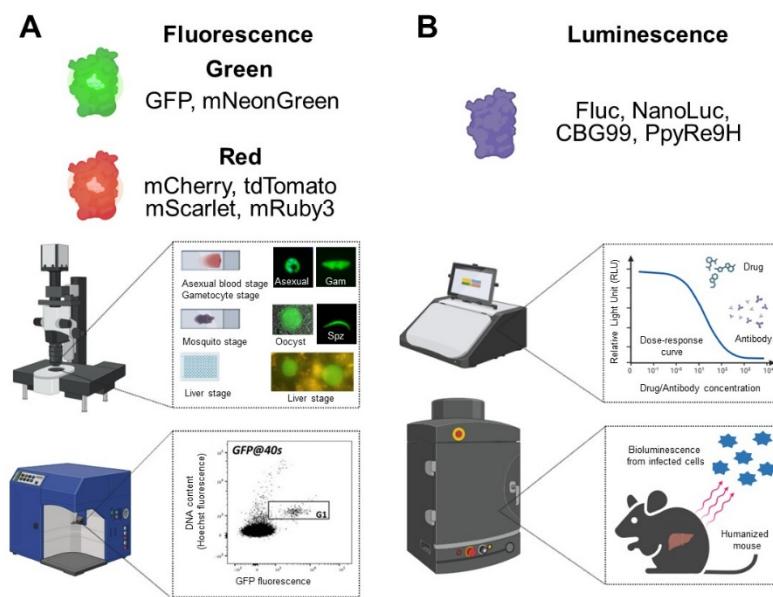


Figure 2. Applications of transgenic reporter *P. falciparum*

The first transgenic reporter line in malaria parasites was generated more than 20 years ago. After their usefulness was demonstrated, malaria researchers worldwide developed numerous transgenic reporters, *P. falciparum*, incorporating their own ideas and methods to drive basic and drug discovery research. The transgenic reporter *P. falciparum* is a very useful tool, so it is crucial that researchers interested in parasitology grasp this research field and develop it with new ideas. However, the wide range of properties of the transgenic reporter *P. falciparum*, which is being developed, has led to a comprehensive

discussion of their essential properties. Therefore, Assistant Professors Yukiko Miyazaki and Shinya Miyazaki came up with that it would be important to summarize the research on transgenic reporter *P. falciparum*, mainly produced in the past five years, to show new avenues in this research field.

[Future perspectives on this review article]

This review article outlines recent findings on the transgenic reporter *P. falciparum* expressing fluorescent proteins and luciferases and provides new perspectives for future basic research and drug discovery in malaria. This review is aimed at researchers and students interested in parasitology. We hope that the content of this review will help advance basic research and drug discovery in malaria research.

[Papers]

Journal : **Trends in Parasitology** (Cell Press, 5-year impact factor: 8.1)

Title : **Reporter parasite lines: Valuable tools for the study of *Plasmodium* biology**

Authors : Yukiko Miyazaki, Shinya Miyazaki*

Affiliation: Department of Protozoology, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University, 852-8523, Nagasaki, Japan.

Link: [Reporter parasite lines: valuable tools for the study of Plasmodium biology - ScienceDirect](#)

*Corresponding author, E-mail: smiyazaki@nagasaki-u.ac.jp

[Glossary]

Review article

An academic article in the form of an overview of the latest findings on a particular research topic. This differs from the original article, which is based on the authors' own research findings. The review article presented here was written with researchers and students as intended readers.

Malaria

Parasitic infectious disease caused by a protozoan of the genus *Plasmodium*. Several *Plasmodium* species are known to cause malaria in humans, and this review focuses mainly on *Plasmodium falciparum*, which causes the most severe symptoms in humans. *P. falciparum* is transmitted from humans to mosquitoes by the blood sucking of vector mosquitoes, multiplies in the mosquito's body and then infects other humans again by the mosquito's bite. Therefore, there is a need for a drug that is effective against parasites in humans and mosquitoes.

Fluorescent protein

A protein emitting fluorescence, such as green fluorescent protein (GFP). When a fluorescent protein is exposed to light of a specific wavelength, it emits fluorescence at different wavelengths. The localization and quantity of fluorescent proteins in the cell can be determined by detecting their fluorescence using specific analytical instruments (e.g., fluorescence microscopy and flow cytometry).

Luciferase

A protein that emits light through an enzymatic reaction such as firefly luciferase. When luciferase reacts with a specific luminescent substance, the enzymatic reaction proceeds and light of a specific

wavelength is emitted. The amount of emitted light can be detected using specific analytical instruments to determine the amount of luciferase.

[References] (Miyazaki Y: Yukiko Miyazaki, Miyazaki S: Shinya Miyazaki)

1. Miyazaki Y[†], Vos MW, Geurten FJA, Bigeard P, Kroeze K, Yoshioka S, Arisawa M, Inaoka DK, Soulard V, Dechering KJ, Franke-Fayard B, Miyazaki S[†]
A versatile *Plasmodium falciparum* reporter line expressing NanoLuc enables highly sensitive multi-stage drug assays.
Communications Biology. 2023 Jul. doi: 10.1038/s42003-023-05078-5 ([†]Corresponding author)
Link: [A versatile Plasmodium falciparum reporter line expressing NanoLuc enables highly sensitive multi-stage drug assays | Communications Biology \(nature.com\)](#)
Press release : [A genetically engineered Plasmodium falciparum expressing NanoLuc as an innovative tool for malaria drug discovery \(nagasaki-u.ac.jp\)](#)
2. Miyazaki S[†], Yang ASP, Geurten FJA, Marin-Mogollon C, Miyazaki Y, Imai T, Kolli SK, Ramesar J, Chevalley-Maurel S, van Gemert GJ, van Waardenburg YM, Franke-Fayard B, Hill AVS, Sauerwein RW, Janse CJ[†], Khan SM
Generation of novel *Plasmodium falciparum* NF135 and NF54 lines expressing fluorescent reporter proteins under the control of strong and constitutive promoters.
Front Cell Infect Microbiol. 2020 Jun 10;10:270. doi: 10.3389/fcimb.2020.00270. ([†]corresponding author)
Link: [Frontiers | Generation of Novel Plasmodium falciparum NF135 and NF54 Lines Expressing Fluorescent Reporter Proteins Under the Control of Strong and Constitutive Promoters \(frontiersin.org\)](#)
3. Marin-Mogollon C, Salman AM, Koolen KMJ, Bolscher JM, van Pul FJA, Miyazaki S, Imai T, Othman AS, Ramesar J, van Gemert GJ, Kroeze H, Chevalley-Maurel S, Franke-Fayard B, Sauerwein RW, Hill AVS, Dechering KJ, Janse CJ, Khan SM
A *P. falciparum* NF54 Reporter Line Expressing mCherry-Luciferase in Gametocytes, Sporozoites, and Liver-Stages.
Front Cell Infect Microbiol. 2019 Apr 16;9:96. doi: 10.3389/fcimb.2019.00096. eCollection 2019.
Link: [Frontiers | A *P. falciparum* NF54 Reporter Line Expressing mCherry-Luciferase in Gametocytes, Sporozoites, and Liver-Stages \(frontiersin.org\)](#)

[Acknowledgement]

We would like to take this opportunity to express our deepest gratitude to all those involved in writing this review. Publication of this review was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research (C): 24K10191, represented by Shinya Miyazaki.

[Contact]

Shinya Miyazaki, Ph.D.

Department of Protozoology, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University

Assistant Professor

Email: smiyazaki@nagasaki-u.ac.jp