

受理年月日	受理番号

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

平成 28 年 6 月 30 日

採択番号	27 共同-9		
研究部門	国際連携研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	加藤健太郎
研究課題名	クリプトスポリジウムタンパク質の立体構造解析		
研究代表者	(ふりがな) 氏名	所属部局等・職名	
	ふるかわ あつし 古川 敦	北海道大学大学院 薬学研究院 助教	
研究分担者			
	かとう けんたろう 加藤 健太郎	帯広畜産大学原虫病研究センター・特任准教授	
研究期間	平成 27 年 4 月 1 日 ~ 平成 28 年 3 月 31 日		
目的・趣旨	<p>タンパク質の立体構造解析は効果的な薬剤の探索や基礎生物学的な現象の理解のために極めて重要である。クリプトスポリジウム原虫は人工培地で培養できないなどの問題もあり、接着メカニズムの解明などが進めるのが困難であった。しかし、近年 EF-1α のように表面に局在し、さらに接着に関わる分子が明らかになってきた。本申請では、これら表面局在分子に着目し、構造解析を行う。さらに、構造情報を元にして、ワクチン抗原の探索や <i>in silico</i> スクリーニングを行い、表面タンパク質特異的に強く結合する分子を探索し、その化合物のクリプトスポリジウムの細胞接着阻害効果の確認を行う。</p>		
研究経過の概要	<p>クリプトスポリジウム原虫の細胞表面に発現するタンパク質の発現プラスミドを原虫研共同研究担当教員の加藤健太郎博士から供与頂きタンパク質の発現を行った。その結果、結晶化や生化学実験に十分な量のタンパク質を得た。現在は発現コンストラクトの検討や精製条件の検討を行っている。</p> <p>また、当初の計画を加えて、マラリア原虫に Cytotoxicity を示すような宿主免疫細胞から分泌されるタンパク質についても共同研究を行った。</p>		

受理年月日	受理番号

<p>研究成果の 概要</p>	<p>クリプトスポリジウム原虫に細胞表面に発現するタンパク質の発現プラスミドを原虫研共同研究担当教員の加藤健太郎博士から供与頂きタンパク質の発現を大腸菌にて行った。その結果、GST 融合組み換えタンパク質を結晶化や生化学実験に十分な量のタンパク質を得た。しかし、結晶化のために GST の切断を試みたところ、切断後の目的タンパク質が不安定化により不要化していることがわかった。現在、GST タグ切断後も安定なタンパク質を得るための発現条件の検討、さらには、発現コンストラクトや精製条件の検討を行っている。</p> <p>また、マラリア原虫に Cytotoxicity を示すような宿主免疫細胞から分泌されるタンパク質についても共同研究を行った。このタンパク質について、CD スペクトルを測定し、立体構造を保持していることを示した。さらに、タンパク質のホモロジーモデリングを行い、このタンパク質の特異性について、タンパク質立体構造の面からも考察を進めた。</p>
<p>研究成果の 発表</p>	<p>特になし。</p>