

| | |
|-------|------|
| 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

令和 元 年 5 月 24 日

| | | | |
|---------|---|----------------------------------|------|
| 採択番号 | | | |
| 研究部門 | 生体防御学 | 原虫病研究センター 内共同研究担当教員 | 玄 学南 |
| 研究課題名 | トキソプラズマ虫体細胞膜の生体膜構成脂質をナノスケールレベルで可視化する | | |
| 研究代表者 | (ふりがな) 氏 名 | 所属部局等・職名 | |
| | まさたに たつのり 正谷 達膳 | 鹿児島大学共同獣医学部附属越境性動物疾病制御研究センター・准教授 | |
| 研究分担者 | ふじた あきかず 藤田 秋一 | 鹿児島大学共同獣医学部分子病態学分野・教授 | |
| | | | |
| | | | |
| | 玄 学南 | 帯広畜産大学原虫病研究センター・教授 | |
| 研究期間 | 平成 30年 4月 1日 ~ 平成 31年 3月 31日 | | |
| 目的・趣旨 | <p>昨年度の本共同研究課題を実施する過程において、トキソプラズマがラフト・カベオラを持たない可能性が示唆された。そこで、本年度はその確認をさらに実施するとともに、ラフト・カベオラマーカにに限らず、膜蛋白質などの原虫表面における局在様態を解析する。昨年度に引き続き、トキソプラズマを対象として凍結切断レプリカ法ならびに脂質成分特異的標識法を組合せ、電子顕微鏡によるナノスケールレベルでの分子観察を行う。トキソプラズマの生体膜を破壊すること無く可視化し、さらに構成する機能性膜蛋白質の局在のマッピングを目指す。</p> | | |
| 研究経過の概要 | <p>1. 急速凍結切断レプリカ法を用いて、膜レプリカを作製した。すなわち、トキソプラズマ RH 株及び PLK 株を精製し、これを金箔へ接着させ、瞬時に液体窒素によって急速凍結した。このようにして原虫細胞膜を金箔へ接着させ、金箔ごと脂質二重膜のうち外側の膜をナイフで削り取った（凍結切断）。むき出しになった内側の膜へカーボンを蒸着することで、脂質レプリカを作成した。</p> <p>2. トキソプラズマの虫体表面に存在する表面蛋白質 SAG1 に対する抗体および金コロイド標識二次抗体を用いて、本膜レプリカを標識したところ、原虫細胞膜表面の広範囲にシグナルを認めた。なお、インナーメンブレンコンプレックス (IMC) や、細胞膜の P 面にはほとんど認められなかった。</p> | | |

| | |
|-------|------|
| 受理年月日 | 受理番号 |
| | |

SAG1 は GPI アンカー蛋白質に分類される。哺乳類では GPI アンカー蛋白質は脂質ラフトに存在するとされる。上述の通りトキソプラズマがラフトを持たないことが示唆されたため、SAG1 の細胞膜上の分布様式も哺乳類細胞とは異なることが示唆される。そのため、金コロイド標識した SAG1 の分布を解析した。その結果、SAG1 は他の生物の GPI アンカー型蛋白質のように膜表面の部分部分に散在するのではなく、その分布は一様であった。

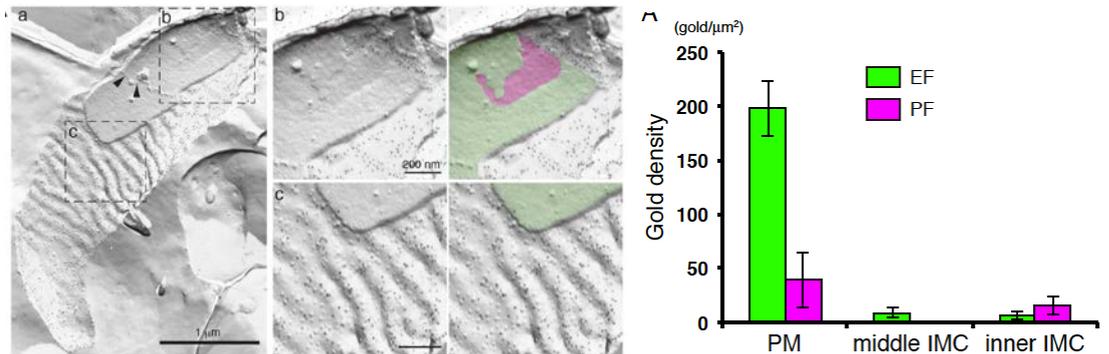


図 1 : (左) トキソプラズマ表面における SAG1 の分布。黒いドットが金コロイド標識された SAG1 を示す。(右) SAG1 の密度。PM:細胞膜 ; EF:E 面 ; PF:P 面。

研究成果の
発表

正谷 達膳、富奥 甘奈、藤田 秋一「急速凍結・凍結切断レプリカ標識法を利用したトキソプラズマ虫体における免疫電顕法の適用」第 161 回日本獣医学会学術集会、つくば国際会議場、2018 年 9 月 11 日

Yuna Kurokawa*, Tatsunori Masatani*, Rikako Konishi, Kanna Tomioku, Xuenan Xuan, Akikazu Fujita. Nanoscale analysis reveals random distribution of GPI-anchored protein SAG1 in the membrane of living *Toxoplasma gondii* (投稿中) *contributed equally