

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2024年5月16日

採択番号	2023-共同-6		
研究部門	診断治療研究部門	原虫病研究センター内共同研究担当教員	福本 晋也
研究課題名	マラリア原虫オーシスト形成・分化に関する分子機構の解明:壁構成蛋白質の探索から		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	いかだい ひろみ 筏井 宏実	北里大学獣医学部・教授 研究総括	
研究分担者			
	ふくもと しんや 福本晋也	帯広畜産大学原虫病研究センター・准教授	
研究期間	2023年4月1日 ~ 2024年3月31日		
目的・趣旨	<p>マラリア原虫はオーシスト形成時に媒介蚊と相互作用する事により、オーシスト壁という特殊な構造物を形成する。</p> <p>本研究は、マラリア原虫のオーシスト形成・分化に関する分子機構の解明を目的とし、オーシスト形成期における、①オーシスト壁構成蛋白質の探索、②それらオーシスト壁構成蛋白質の発現動態および機能解析、③原虫オーシスト形成期のトランスクリプトーム解析、④オーシスト形成抑制ワクチン抗原への応用検討を行なう事によって、媒介蚊体内における原虫オーシスト形成期に関する生物学的特徴を明らかにすることとした。</p>		
研究経過の概要	<p>本研究はネズミマラリア原虫(<i>Plasmodium berghei</i> GFP 発現組換え原虫)とハマダラカ(<i>Anopheles stephensi</i>)を用いて、研究を実施した。</p> <p>ハマダラカに、<i>in vitro</i> 培養したネズミマラリア原虫のオーキネートを血体腔にインジェクションを行い感染させた。インジェクションしたハマダラカの血体腔から浮遊したオーシストを合計2,077個回収した。回収したオーシストは、膜タンパク質の粗精製として凍結融解を実施し、ショットガンプロテオミクス解析を行った。その結果、<i>P. berghei</i> タンパク質197個が同定され、これらの中には、PbCap380など既知のオーシスト壁構成タンパク質が含まれていた。これら同定されたタンパク質から、オーシスト壁を構成し、且つ物質輸送に関連すると推測される候補タンパク質を8種類選出した。</p>		

研究成果の概要	<p>選出した候補タンパク質 8 種類について、それぞれペプチド抗体の作製を試み、7 種類の候補タンパク質についてそれぞれペプチド抗体が得られ、1 種類の候補タンパク質については現在作製中である。</p> <p>作製された 7 種類のペプチド抗体は、感染血の吸血により中腸に形成されたオーシストを用いて免疫蛍光染色法を実施し、その局在を調べた。7 種類のペプチド抗体すべて、オーシストでの発現が確認された。これら 7 種類のうち 4 種類について、共焦点レーザー顕微鏡観察により局在の詳細を調べたところ、1 種類はオーシスト壁に、2 種類はオーシスト壁およびその内膜に、1 種類はオーシスト壁内膜には局在していることが明らかとなつた。他の抗体に関しても、引き続き局在解析は実施していく予定である。</p> <p>さらに、インジェクションした雌雄ハマダラカを用いて次世代シークエンスを行い、その遺伝子発現変動からハマダラカにおける原虫保有数を規定する分子候補を選別した。これら候補遺伝子に関しては、siRNA 等を用いた解析を引き続き実施していく予定である。</p>
研究成果の発表	<p>原口麻子, 平田るりこ, 中山和彦, 箱崎純, 中村咲蓮, 草木迫浩大, 筥井宏実, 第 93 回日本寄生虫学会大会(順天堂大学), <i>Plasmodium berghei</i> の新規オーシスト壁構成タンパク質の探索, 2024 年 3 月 9 日</p> <p>原口麻子, 高野真, 箱崎純, 中山和彦, 中村咲蓮, 吉川泰永, 福本晋也, 草木迫 浩大, 筥井宏実, 第 46 回日本分子生物学会年会(神戸ポートアイランド), ハマダラカのマラリア原虫感染に対する新たな応答分子の探索, 2023 年 12 月 6 日</p> <p>Kodai Kusakisako, Asako Haraguchi, Kazuhiko Nakayama, Jun Hakozaki, Sakure Nakamura, Hiromi Ikadai, The 21st Protein Island Matsuyama International Symposium (PIM2023) (愛媛大学), Investigation of novel <i>Anopheles</i> mosquitoes-derived responsive factors against <i>Plasmodium</i> infection, 2023 年 9 月 13 日</p>