

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2025 年 5 月 21 日

採択番号	2024 共同-19		
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	菅沼 啓輔
研究課題名	抗トリパノソーマ活性を持つ海洋生物由来リード化合物の探索と作用機序解析		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	なかお よういち 中尾 洋一	早稲田大学理工学術院・教授 研究統括、作用機序解析	
研究分担者	なかむら ふみあき 中村 文彬	早稲田大学大学院先進理工学研究科・招聘研究員 活性化合物の精製・構造決定	
	あきづき こうた 秋月 孝太	早稲田大学大学院先進理工学研究科・修士 2 年 活性化合物の精製・構造決定	
	さかもと ともひろ 坂本 知優	早稲田大学先進理工学部・4 年 活性化合物のプローブ化	
	すがぬま けいすけ 菅沼 啓輔	帯広畜産大学原虫病研究センター・准教授	
研究期間	2024 年 4 月 1 日 ～ 2025 年 3 月 31 日		
目的・趣旨	トリパノソーマ症に対する現行の治療薬は薬剤耐性株の出現や副作用などの問題が指摘されており、依然として新たな治療薬の開発が求められている。そこで本研究では抗トリパノソーマ活性化合物の分子プローブ化による作用メカニズムの解明を行うことを目的とする。 具体的には、抗トリパノソーマ活性を有することが知られている化合物の分子プローブ化を行う。得られたプローブを蛍光標識化して細胞内における化合物の局在を確認するとともに、プローブをビーズと結合させることで原虫抽出物からタンパク質のプルダウンを行い、解析することで標的タンパク質の推定を行う。 研究代表者は研究分担者と協力して化合物の精製・分子プローブ化・作用メカニズム解明を担当し、貴センター菅沼啓輔准教授が活性試験を担当する。代表者の研究については一部を本共同研究経費により実施する。		
研究経過の概要	大島新曽根産 <i>Theonella</i> 属海綿(S07140)から <i>T. evansi</i> および <i>T. congolense</i> に対し強い活性(IC₅₀ = 0.60, 0.61 μg/mL)を示す新規アルカロイドが得られている。この化合物の作用メカニズム解明のために標的タンパク質の探索に用いるプローブ分子の合成を行った。合成したプローブを用いて、原虫抽出物からタンパク質のプルダウンを行い、LC-MS/MS 解析を行った結果、標的タンパク質の候補として 6 種類のタンパク質が推定された。 一方、薬用植物として知られる春ウコン <i>Curcuma aromatica</i> 内に含まれる抗トリパノソーマ活性化合物 coronarin D についても、作用メカニズム解明のために標的タンパク質		

	の探索に用いるプローブ分子の合成を行った。合成したプローブを用いて、標的タンパク質の同定を目指し研究を進めている。
研究成果の概要	大島新曾根産 <i>Theonella</i> 属海綿(S07140)から単離した新規アルカロイドについて、分子プローブを合成した。得られたプローブを蛍光標識化して化合物の細胞内局在を確認したのち、ビーズに結合させてトリパノソーマ原虫抽出物からのタンパク質のプルダウン実験を実施し、SDS-PAGE を行った。その後バンドを切り出し、LC-MS/MS 解析を行った結果、標的タンパク質の候補として 6 種類のタンパク質が同定された。今後はマウスを用いた <i>in vivo</i> 活性試験での評価を行うとともに、化学プローブを用いて再度タンパク質のプルダウン実験を行って再現性を確認する。また、並行してパスウェイ解析を行うことで化合物の作用メカニズムを検討する。 また、埼玉産春ウコン <i>Curcuma aromatica</i> 抽出物に含まれる抗トリパノソーマ活性化化合物 coronarin D (IC₅₀=1.5 μM) について、分子プローブを合成した。得られたプローブをビーズに結合させ、トリパノソーマ原虫抽出物からのタンパク質のプルダウン実験を実施し、SDS-PAGE を行った。今後は MS/MS 解析によって標的タンパク質の同定を行ったのち、パスウェイ解析を行うことで化合物の作用メカニズム解明を目指す。
研究成果の発表	1. 坂本知優, 菅沼啓輔, 大枝一喜, 中村文彬, 中尾洋一, 『抗トリパノソーマ活性化化合物 coronarin D の分子プローブ化の検討』, 第 94 回日本寄生虫学会大会, 東京, 2025 年 3 月