

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13日

|         |   |                        |       |
|---------|---|------------------------|-------|
| 採択番号    | 2024 共同-2   |                        |       |
| 研究部門    | 国際連携協力部門  | 原虫病研究センター<br>内共同研究担当教員 | 麻田 正仁 |
| 研究課題名   | ウシバベシア原虫細胞内超微細構造を解明するための<br>反復拡大顕微鏡法(iU-ExM)の確立   |                        |       |
| 研究代表者   | (ふりがな)<br>氏 名   | 所属部局等・職名               |       |
|         | いしざき たかひろ<br>石崎 隆弘  | 酪農学園大学獣医学群医動物学ユニット・講師  |       |
| 研究分担者   |   |                        |       |
|         | あさだ まさひと<br>麻田 正仁   | 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   | <p>近年、分子間の距離を 4 倍にすることができる拡大顕微鏡法(U-ExM)の確立により、広視野顕微鏡や共焦点顕微鏡で 70 nm オーダーの解像度を得ることができるようになった。獣医学領域でその制圧が課題となっているウシバベシア原虫は 1-2.5<math>\mu</math>m のサイズであり、原虫先端部において侵入関連分子分泌制御を司るコノイド構造や、感染赤血球内部を再構造化することで原虫由来タンパク質を赤血球表面へと輸送する分子が存在すると考えられている。しかしながら、従来の共焦点顕微鏡の解像度では細胞内超微細構造構成分子の詳細な解析に限界があった。この問題を克服するために申請者は本共同研究で<u>ウシバベシア原虫における反復膨張顕微鏡法(iU-ExM)の確立を目的</u>とする。本手法は従来の U-ExM 法における膨張と標識の過程を繰り返す手法であり、13-21 倍のサンプル拡大により電子顕微鏡と遜色のない解像度を示すことが期待できる。確立した手法を用いて原虫先端部のオルガネラ構造、原虫間における ER-Goldi ネットワーク、原虫のタンパク質輸送機序といった従来のイメージング技術で微細解析が困難であった分子機序の解明に挑戦する。</p> |                        |       |
| 研究経過の概要 | <p>2024 年度は本共同研究で使用するウシバベシア原虫受入のための環境整備 (BSL2/P2 区分培養環境整備)と原虫の移管手続きを実施した。現在は移管した原虫の培養順化を行っており、順化後に原虫感染赤血球を用いた実験に取り組む予定である。また現在まで原虫感染赤血球を使用できない期間においては所属先附属農場より採血した非感染ウシ赤血球を用いた iU-ExM 法の予備実験を実施している。また 2024 年 9 月と 2025 年 2 月には麻田博士との研究打ち合わせを行い、本研究で使用する原虫細胞小器官並びに輸送タンパク質に特異的な抗体作製の相談を実施した。</p>   |                        |       |

|              |   |
|--------------|---|
| 研究成果の<br>発 表 | 2024 年度は非感染赤血球を用いた iU-ExM 法の最適化実験のみを実施したため関連学会や国際誌での発表は行なっていない。2025 年度も本課題を継続するため、2025 年度の獣医学会あるいは寄生虫学会での口頭発表を予定している。 |
|--------------|---|