

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2026 年 5 月 25 日

採択番号	2025 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	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	早稲田大学大学院先進理工学研究科・修士 1 年 活性化化合物の細胞内局在確認	
	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	2025 年 4 月 1 日 ～ 2026 年 3 月 31 日		
目的・趣旨	トリパノソーマ原虫によって引き起こされるアフリカトリパノソーマ症は、主にアフリカ中南部において深刻な社会問題となっており、新規治療薬の開発が急務である。そこで本研究では、抗トリパノソーマ活性化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および活性の保持の確認を行ったのち、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。また、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	本研究室では、薬用植物として知られる春ウコン (<i>Curcuma aromatica</i>) の多様な機能性に着目し、抗トリパノソーマ活性を指標とした活性成分の探索を行ってきた。その結果、既知化合物 coronarin D に強い抗トリパノソーマ活性が認められている。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アルキンプローブの合成を行った。 その後、得られたプローブを原虫細胞 (<i>T.brucei.brucei</i>) に投与しそこに蛍光色素を加え、色素のアジド基との間で細胞内 click 反応を実施したのちに、蛍光顕微鏡下で原虫細胞内におけるプローブの局在観察を行った。 また、磁気ビーズを結合させたプローブを用いて、<i>T.bb</i> 由来抽出タンパク質に対するプルダウン実験を行った。現在、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	まず合成した抗トリパノソーマ活性化合物 coronarin D のアルキンプローブについて、5 種のトリパノソーマ原虫に対する発育阻害活性試験を行ったところ、いずれも化合物と同程度の抗原虫活性を保持していることを確認した。 次に、プローブと色素のアジド基との間で <i>T.bb</i> 細胞内 click 反応を行い、蛍光顕微鏡下で活性化合物の局在観察を行ったところ、核とキネトプラストの間の領域に蛍光シグナルが集積する傾向が観察された。 また、アジド基をもつ磁気ビーズとプローブを反応させ、リガンド結合磁気ビーズを得た。そこに <i>T.bb</i> 抽出タンパク質を加え、タンパク質のプルダウン実験を行い、塩溶出画分および加熱溶出画分を得た。これらの画分について SDS-PAGE および銀染色を行ったところ、加熱溶出画分に、特異的なバンドが確認された。 現在、得られたバンドを切り出してトリプシン消化を行ったのち、LC-MS/MS を用いたプロテオーム解析を進めており、標的タンパク質の同定および作用メカニズムの解明を目指して研究を進めている。
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合物 coronarin D の分子プローブを用いた細胞内局在の観察』, 第 95 回日本寄生虫学会大会, 神奈川, 2026 年 3 月