

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 31 日

採択番号	2025 共同-7		
研究部門	国際連携協力部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	麻田 正仁
研究課題名	バベシアにおけるオートファジー関連因子 ATG8 の局在オルガネラの解明		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	さかもと ひろかず 坂本 寛和	千葉大学大学院医学研究院 助教	
研究分担者	やん じゃふえい Yang Jiahui	千葉大学大学院医学研究院 修士1年	
	あさだ まさひと 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	2025 年 4 月 1 日 ～ 2026 年 3 月 31 日		
目的・趣旨	マラリア原虫などのアピコンプレクサ門原虫は、細胞内に葉緑体由来オルガネラであるアピコプラストをもつ。アピコプラストの表面膜には、オートファジー関連因子 ATG8 が恒常的に局在しており、その局在は厳密に制御されている。ATG8 の局在は、ATG12-5-16 複合体によって制御されるモデルが確立されているが、我々はピロプラズマ(バベシア・タイレリア)ではその複合体因子が欠損していることを発見した(Lin et al, Cells, 2025)。ピロプラズマでは ATG8 局在の既存モデルが適用できないため、もし彼らの ATG8 が機能的であれば、その局在制御の新規機構の解明が期待される。 そこで本研究では、<i>Babesia bovis</i>(Bb)を研究対象として、以下の項目の解明に取り組んでいる。 課題 1. BbATG8 は細胞内でユビキチン様共有結合反応をするか？ 課題 2. BbATG8 は特定のオルガネラに局在するか？ 課題 3. BbATG8 の局在はどのように制御されるのか？		
研究経過の概要	バベシアを含むピロプラズマでは、ATG8 の局在を制御する ATG12-ATG5-ATG16 が喪失している。そこで本研究では、<i>Babesia bovis</i> (Bb)を研究対象として、BbATG8 のユビキチン様(UBL) 共有結合反応がバベシア細胞内で機能しているかを、BbATG8 変異体を用いて検証した(課題1)。その結果、BbATG8 が細胞内で UBL 反応に依存的な局在パターンを示すことが分かった。 次に、BbATG8 が局在するオルガネラの検証を実施した(課題2)。アピコプラス移行シグナル配列を mCherry に融合させてバベシアで発現させた「アピコプラスト標識バベシア細胞」の作出を試みたが、mCherry のシグナルは検出されず、当該細胞の作出には至っていない。ドット状に観察される BbATG8 がどのオルガネラに局在するかの確定が目下の解決課題である。		

研究成果の 概要	これまでに、バベシアを含むピロプラズマにおけるATG8の細胞内局在を解析した報告はない。ATG8は、E1-like 酵素(ATG7)およびE2-like 酵素(ATG3)を介したユビキチン様(UBL)共通結合反応によって、そのC末端グリシンが脂質膜上のリン脂質(ホスファチジルエタノールアミン)と共有結合を形成することで細胞膜に局在する。 我々はすでに <i>Babesia bovis</i> (Bb)を対象として、BbATG8とBbATG3の二次構造およびAlphaFold 予測による三次元立体構造を解析して、それぞれの機能ドメインが保存されていること、さらにBbATG8がBbATG3と結合することを実証した(Lin et al, Cells, 2025)。これは、ATG8の局在を制御するATG12-ATG5-ATG16が喪失しているバベシアにおいてもBbATG8が機能的であることを強く示唆している。 本研究では、BbAG8がバベシア細胞内で実際にUBL反応を受けているか検証した。我々は複数種の蛍光タンパク質を融合させたBbATG8(Venus-BbATG8 およびmCherry-BbATG8)が細胞内でドット状に観察されることを確認した。このドット状シグナルが、UBL反応に依存的かを検証するために、野生型BbATG8とC末端グリシン欠損変異体(BbATG8ΔG)をクローニングし、そのN末端へモノマーGFP(mGFP)を融合させてバベシア細胞で発現させた。その結果、野生型BbATG8はドット状に観察されたのに対して、BbATG8ΔGは細胞質に拡散したパターンで観察された。これは、他の生物でも普遍的に観察されるATG8とATG8ΔGの典型的な局在パターンであり、バベシアにおいてもBbATG8がUBL共有結合反応によって膜局在していることが強く示された。 現在は、BbATG8が局在するオルガネラの検証とともに、遺伝子発現抑制によるBbATG8の機能解析を進めている。
研究成果の 発表	招待講演 2件 1. 〇坂本寛和.「モデル生物の常識が通じない!? 原生生物のオートファジー」 第73回 原生生物・寄生虫・進化セミナー、2025年10月東京 2. 〇坂本寛和.「アカデミアの使命としての寄生虫感染症創薬」 第48回 日本分子生物学会年会、2025年12月、横浜