

様式3

平成30年度愛媛大学プロテオサイエンスセンター共同研究報告書

平成31年3月6日

国立大学法人愛媛大学
プロテオサイエンスセンター長 殿

研究代表者

所属機関 : 神戸大学大学院 保健学研究科

部局・職名 : パブリックヘルス領域・准教授

氏名 : 入子 英幸

1. 研究課題

熱帯熱マラリア原虫・生殖母体期の寄生胞膜タンパク質のスクリーニング

2. 研究組織

氏名	所属機関・部局	職名	分担内容
研究代表者 入子 英幸	神戸大学大学院 保健学研究科	准教授	
研究分担者 石野 智子	愛媛大学・PROS・ 寄生病原体学部門	准教授	

3. 研究成果

別紙のとおり

熱帯熱マラリア原虫・生殖母体期の寄生胞膜タンパク質のスクリーニング

神戸大学大学院 保健学研究科・准教授・入子英幸

研究目的

熱帯熱マラリア原虫(*Plasmodium falciparum*)は、ヒト血流中において赤血球に寄生し、発育・増殖を繰り返す。このサイクルにおいて、一部の原虫は蚊体内における有性生殖に向けて「生殖母体」と呼ばれるステージに変化する。熱帯熱マラリア原虫の生殖母体は、他のマラリア原虫種と比較して、形態的にも、また発育に極めて時間がかかるという点でも特徴的である。しかしながら、発育ステージ分類などの基盤情報は形態的な記述にとどまり、分子レベルの解析がほとんど行われていないのが現状である。

そこで本研究では、熱帯熱マラリア原虫の生殖母体期において、発育ステージ分類の指標となるタンパク質を見出すことを目的とした。特に、原虫と宿主細胞(赤血球)のインターフェースとなる寄生胞膜に着目し、寄生胞膜に局在するタンパク質の発現及び局在を、無性生殖期と生殖母体間で比較した。

研究内容

マラリアゲノム統合データベースより寄生胞膜関連分子 16 種類 (EXP1, EXP2: EXported Protein 1, 2, Early TRanscribed Membrane Protein (ETRAMP)ファミリーの 14 分子) を選択し、コムギ胚芽無細胞系を用いた組換えタンパク質の合成、特異抗血清の作成を行った。次に、Pfs16 抗体を生殖母体の指標とし間接蛍光抗体法を行い、無性生殖期と生殖母体間の各発育段階における寄生胞膜分子の発現及び局在を調べた。

研究成果

本研究では、コムギ胚芽無細胞系を基盤として作出した寄生胞膜分子の特異抗体セットを活用することにより、熱帯熱マラリア原虫・生殖母体期の寄生胞膜タンパク質のスクリーニング系を確立した。熱帯熱マラリア原虫の寄生胞膜に局在する EXP1, EXP2, ETRAMP4, 5, 10.2, 10.3 の 6 分子について解析を行ったところ、ETRAMP4, ETRAMP10.3 が生殖母体期に特異的に発現することを見出した。さらに、ETRAMP4 は初期、ETRAMP10.3 は中期以降と、ステージ特異的な発現パターンが認められた。また、ETRAMP10.2 は、生殖母体形成の中期までに加えて、無性生殖期トロホゾイト期、シゾント期で発現すること、EXP1 と

EXP2 は、無性生殖期(リング期～シゾント期)、初期の生殖母体期に発現することが明らかになった。一方で、ETRAMP5 は無性生殖期においてのみ検出された。これらの結果から、熱帯熱マラリア原虫の寄生胞膜を構成する分子は、生殖母体期に特有のもの、無性生殖期と生殖母体期に共通のもの、無性生殖期に特有のものに分類できることが明らかになった(論文投稿準備中)。また、免疫電顕法を用いてシゾント期およびメロゾイト期における EXP1 の分子局在を解析したところ、本分子がデンスグラニュールと呼ばれる先端小器官に局在することが明らかになった(1)。

今後の課題

寄生胞膜分子の特異抗体セットは、熱帯熱マラリア原虫・生殖母体期の寄生胞膜タンパク質のスクリーニングに有用である。今後は、生殖母体期の寄生胞膜タンパク質の検索を進めるとともに、生殖母体期特異的分子(ETRAMP4, ETRAMP10.3)について、逆遺伝学的手法を利用し、これらの分子がどのような役割を担うのか、検討していく予定である。

成果発表

(1) Iriko H, Ishino T, Otsuki H, Ito D, Tachibana M, Torii M, Tsuboi T.

Plasmodium falciparum Exported Protein 1 is localized to dense granules in merozoites.

Parasitol Int. 67(5): 637–639. (2018).