

平成 21 年 5 月 11 日現在

研究種目：基盤研究 (B)  
研究期間：2006～2009  
課題番号：18380180  
研究課題名 (和文) プロテオーム解析によるネオスポラ原虫感染機構の解明と新規予防・治療法開発への応用  
研究課題名 (英文) Elucidation of the invading mechanism of *Neospora caninum* into host cells by proteomics and its application for development of novel drugs and vaccines  
研究代表者  
玄 学南 (XUAN XUENAN)  
国立大学法人帯広畜産大学・原虫病研究センター・教授  
研究者番号：10292096

研究分野：原虫病学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・応用獣医学

キーワード：*Neospora caninum*、*Toxoplasma gondii*、プロテオーム、感染機構、治療、予防

## 1. 研究計画の概要

本研究ではプロテオーム解析手法を用いて、ネオスポラ原虫の宿主細胞への吸着・侵入に関わるタンパク質の網羅的同定と新規ワクチン・薬剤標的分子の発掘を目的として実施する。

## 2. 研究の進捗状況

(1) ネオスポラ原虫体を溶解し、2-DE にて展開した後に、銀染色により全タンパク質を可視化したところ、約 620 種類以上のタンパク質スポットが検出された。

(2) 一方、2-DE にて展開したタンパク質を膜に転写した後にネオスポラ感染血清を用いたイムノブロットを行い、抗原タンパク質の同定を行ったところ約 80 種類の抗原タンパク質スポットが検出できた。

(3) 上記で検出された抗原タンパク質について MALDI-TOF-MS 解析を行ったところ、約 50 種類のタンパク質の同定に成功した。その多くが虫体のマイクロネーム、ロプトリー、デンスグラニュー及び膜由来のタンパク質として同定された。

(4) ネオスポラ原虫の全虫体タンパク質を 2-DE にて展開し、膜に転写した後に近縁のトキソプラズマ感染マウス血清を用いたイムノブロットを行ったところ、多くの交差反応抗原が検出された。これらの抗原タンパク質について MALDI-TOF-MS 解析を行ったところ、18 種類の

タンパク質の同定に成功した。

(5) トキソプラズマ原虫の全虫体タンパク質を 2-DE にて展開し、膜に転写した後に近縁のネオスポラ感染マウス血清を用いたイムノブロットを行ったところ、多くの交差反応抗原が検出された。これらの抗原タンパク質について MALDI-TOF-MS 解析を行ったところ、19 種類のタンパク質の同定に成功した。

(6) 上記で同定された交差反応抗原タンパク質の中、NcP0/TgP0、NcAMA1/TgAMA1、NcGRA7/TgGRA7、NcHSP90/TgHSP90、NcLDH/TgLDH などは、今後両原虫感染症に対する共通ワクチン候補として期待される。

## 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

今のところ、ほぼ当初の研究計画通り進展しているため。

## 4. 今後の研究の推進方策

(1) これまでに同定してきた幾つかのワクチン候補遺伝子を用いて、組換えワクチンを作製し、マウスモデルにおける感染防御効果を評価する。

(2) これまでに同定してきた幾つか虫体の代謝関連酵素遺伝子について解析し、有効な治療薬 (酵素抑制剤など) の探索を行う。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 21 件)

1. Nishikawa, Y., Zhang, H., Huang, P., Zhang, G., Xuan, X.: Effects of a transferring antibody against *Neospora caninum* infection in a murine model. *Vet. Parasitol.* (査読有り) 160: 60-65, 2009.
2. Kawase, O., Nishikawa, Y., Zhang, H., Zhang, G., Bannai, H., Jin, S., Lee, E. G., Xuan, X.: Proteomic analysis of calcium-dependent secretion in *Toxoplasma gondii*. *Proteomics* (査読有り) 7: 3718-3725, 2007.
3. Zhang, H., Lee, E.G., Liao, M., Comaore, M., Zhang, G., Kawase, O., Fujisaki, K., Sugimoto, C., Nishikawa, Y., Xuan, X.: Identification of ribosomal phosphoprotein P0 of *Neospora caninum* as a potential common vaccine candidate for the control of both neosporosis and toxoplasmosis. *Mol. Biochem. Parasitol.* (査読有り) 153: 141-148, 2007.
4. Zhang, H., Compaore, M., Lee, E.G., Liao, M., Zhang, G., Sugimoto, C., Nishikawa, Y., Xuan, X.: Apical membrane antigen 1 is a cross-reactive antigen between *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*, and anti-NcAMA1 antibody inhibit host cell invasion by both parasites. *Mol. Biochem. Parasitol.* (査読有り) 151: 205-212, 2007.
5. Khan, A., Bohme, U., Kelly, K. A., Adlem, E., Brooks, K., Simmonds, M., Mungall, K., Quail, M. A., Arrowsmith, C., Chillingworth, T., Churcher, C., Harris, D., Collins, M., Fosker, N., Fraser, A., Hance, Z., Jagels, K., Moule, S., Murphy, L., O'Neil, S., Rajandream, A., Saunders, D., Seeger, K., Whitehead, S., Mayr, T., Xuan, X., Watanabe, J., Suzuki, Y., Wakaguri, H., Sugano, S., Sugimoto, C., Paulsen,

I., Mackey, A. J., Roos, D. S., Hall, N., Berriman, M., Barrell, B., Sibley, L. D., Ajioka, J. W.: Common inheritance of chromosome Ia associated with clonal expansion of *Toxoplasma gondii*. *Genome Res.* (査読有り) 16: 1119-1125, 2006.

[学会発表] (計 10 件)

[図書] (計 1 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]