

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		トキソプラズマ原虫の寄生成立に必須な宿主側因子群「パラサイトーム」の解析			
研究テーマ (欧文) AZ		"Parasitome" essential host factors for the interaction of <i>Toxoplasma gondii</i> .			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓)ナガムネ	名)キサブロウ	研究期間 B	2008 ~ 2010 年
	漢字 CB	永宗	喜三郎	報告年度 YR	2010 年
	ローマ字 CZ	NAGAMUNE	KISABURO	研究機関名	国立感染症研究所
研究代表者 CD 所属機関・職名		国立感染症研究所・寄生動物部・室長			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>本研究は、哺乳動物細胞に化学変異を導入し、トキソプラズマ原虫感染耐性変異株を分離、確立することが第一の目的であった。そこで既報に基づき CHO 細胞に変異原処理を行った後、原虫のチャレンジ実験を行い、生存してきた細胞を選別し、クローンを確立した。計 2 回の実験から合計 100 クローンを確立し、原虫感染に対する耐性度を確認してみたところ、得られた全ての細胞クローンは野生株に比べ弱い耐性度(1.3-1.5 倍程度)しか示さなかった。現在、更なる解析に必要な、より強度の耐性細胞の確立を目指して、変異導入の際の条件を再検討している。</p> <p>一方で、前述の方法によって既に確立されている変異株を用い、その変異がトキソプラズマ感染にどのように影響するかも同時に解析した。今回代表者らは、宿主側の GPI アンカーがトキソプラズマ感染に及ぼす影響を調べるため、GPI アンカー生合成能欠失変異 CHO 細胞における原虫への感受性を野生株と比較した。その結果、変異株は野生株に対して有意に感受性が上昇していた。トキソプラズマ原虫は宿主細胞内での増殖の際、自身の周囲に宿主のミトコンドリアや ER をリクルートしてくるという現象が知られている。そこでこれらの細胞内における原虫の宿主ミトコンドリア・リクルート能を比較したところ、明らかに変異株内でのリクルートが増加していた。次にミトコンドリアや ER のリクルートメントの原因であると考えられているロプトリー蛋白質に着目した。ロプトリー蛋白質は原虫の宿主侵入に先立ち、独立した小胞(evacuole)として原虫から宿主細胞に注入されることが知られている。原虫による ROP1 及び ROP16 を含む evacuole 形成能を宿主の GPI の有無で比較したところ、GPI 生合成能欠失変異株では明らかに evacuole の形成が過剰になっていた。</p>					
キーワード FA	トキソプラズマ	寄生	GPI		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要 EZ

To investigate the effect of host GPI, we observed the infection of *T. gondii* to the GPI-anchor deficient mutant mammalian cell. Wild or mutant cells were infected with *T. gondii* and compared the infectious rate. Surprisingly, *T. gondii* infected to the mutant cells 2-3 times more than wild-type cells. This result suggests that GPI-anchor (or anchored proteins) plays a role to inhibit the infection by *T. gondii*. To identify the inhibition mechanism, we investigated the invasion, proliferation, and egress by *T. gondii* to the GPI negative mutant cells. We could not find any differences in the invasion and egress step between wild-type and GPI mutant cells. On the other hand, the proliferation inside the GPI-deficient mutants increased significantly. This increase was observed only at the late stage in the infection (from 24h after infection). Further, because it is known that *T. gondii* can bring the host mitochondria to its PV, we compared this activity between the mutant and complemented host cells. *T. gondii* clearly recruited the host mitochondria more in GPI-deficient mutant cell than wild-type cell. We next focused on the rhoptry proteins which might cause the recruitment of mitochondria and ER. These proteins are injected from the parasite into the host cell as a special vesicle, called evacuole. So, our result might cause by the difference for the formation of evacuole. We compared the evacuole formation by the staining with ROP1 or ROP16 as the marker. As a result, GPI-deficient mutant was clearly enhanced the injection of evauoles compared with complemented clone. Now, we are analyzing the mechanism of the inhibition of this mutant cell in detail.