

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2016.3) 16:28-29.

平成25・26年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題 16) 多包虫
がもつ宿主補体活性からの逃避機構の解明

佐々木 瑞希

16) 多包虫がもつ宿主補体活性からの逃避機構の解明

研究代表者 佐々木 瑞希

【目 的】

多包虫は中間宿主の体内において、補体系による傷害機構を回避して増殖する。宿主の補体経路においては、

セリンプロテアーゼが重要な働きを担うことが知られている。古典経路を開始するC1rとC1s、代替経路におけるB因子およびD因子、レクチン経路におけるMASP 1および2は全てセリンプロテアーゼとして機能する。多包虫のセリンプロテアーゼインヒビター (serpin) ファミリー分子がこれらのプロテアーゼを阻害することで宿主の補体活性を抑制している可能性を検討した。

【方法】

多包虫ゲノムならびにトランスクリプトームデータから、serpin ファミリー分子と相同な配列を探索したところ、既知の SerpinEmu (Merckelbach and Ruppel, 2007) に加えて2つの配列を見出し、Serpin2Emu および Serpin3Emu と名付けた。多包虫cDNAからそれぞれの分子のコード領域をクローニングし、His タグ付加タンパク質として大腸菌発現系を用いて発現させた。これらの組み換えタンパク質に対するウサギ抗体を作成し、ウエスタンブロットにより多包虫での発現を確認した。さらに、これらのタンパク質が虫体外に分泌されているか調べた。また、作成した組み換えタンパク質のうち、rSerpinEmu のみが可溶性となったため、これについてトリプシン、キモトリプシン阻害活性を調べた。また、補体活性測定キットを用いて、各経路における活性阻害能を評価した。

【結果】

それぞれの組み換えタンパク質に対するウサギ抗体を用いたウエスタンブロットの結果、SerpinEmu は細胞内に、Serpin2Emu および Serpin3Emu は細胞内および虫体外分泌フラクション中に発現が認められた。また、得られた組み換えタンパク質のうち、rSerpinEmu は大腸菌において可溶性タンパク質として発現した。これを精製し、トリプシン活性阻害能を有することを確認した。しかしながら、いずれの経路においても補体活性阻害能は確認されなかった。rSerpin2 および 3Emu については大腸菌が封入体を形成し、不溶性となった。酵母による発現も試みたが、いずれの分子も可溶性の組み換えタンパク質は得られなかった。

【考察】

既知の SerpinEmu については、トリプシン阻害活性を有しているが補体活性阻害能を持たないことが分か

った。この分子は虫体細胞内に局在し、自身のプロテアーゼ活性を調節する役割を果たすと考えた。これに対して、新たに見出した多包虫 Serpin2 Emu および Serpin3Emu については虫体外への分泌が確認されたことから、宿主との相互作用に関与している可能性が示唆された。しかしながら、組み換えタンパク質が不溶性となり、機能解析には至らなかった。今後、可溶性タグ付加タンパク質を作成することで、各種セリンプロテアーゼ阻害能および補体活性阻害能を調べたい。

【文献】

Merckelbach and Ruppel. 2007. Biochemical properties of an intracellular serpin from *Echinococcus multilocularis*. Mol. Biochem. Parasitol. 156. 84-88.