

戦略的国際科学技術協力推進事業（日本－南アフリカ 研究交流）

1. 研究課題名：「熱帯マラリア原虫 (*Plasmodium falciparum*) の小胞体に局在する Hsp40 シャペロン Pfj2 の機能解析」

2. 研究期間：平成21年6月～平成24年3月

3. 支援額： 総額 18,900 千円

4. 主な参加研究者名：

日本側（研究代表者を含め6名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	永田 和宏	京都大学 京都産業大学	教授
研究者	宝関 淳	京都大学 京都産業大学	助教
研究者	潮田 亮	京都大学 京都産業大学	研究員 助教
研究者	平山 尚志郎	京都大学 京都産業大学	研究員
参加研究者 のべ 4名			

中国側（研究代表者を含め6名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	Gregory Blatch	Rhodes Univ Victoria Univ	教授
研究者	Eva Pesce	Rhodes Univ Victoria Univ	研究員
研究者	OmololaAfolayan	Rhodes Univ	修士課程院生
参加研究者 のべ 3名			

5. 研究・交流の目的

本研究交流は、マラリア原虫のタンパク質の品質管理に関わる分子(分子シャペロン)および酸化還元酵素 Pfj2 に注目し、マラリア原虫の分子シャペロンと酸化還元酵素 Pfj2 の相互作用解析等を解析することにより、最終的にマラリアタンパク質の品質管理機構と、分子シャペロンおよび酸化還元酵素のマラリア原虫の感染サイクルへの関わりを明らかにすることを目的とした。さらにはこの共同研究を通して、日本および南ア両国の大学院生や研究員が、新たな知識を得て、高い技術を習得すること、他国の研究者と共同研究するスキルを習熟することを目的とした。

6. 研究・交流の成果

6-1 研究の成果

日本側の研究室である永田研究室は、近年、小胞体とよばれる細胞内オルガネラにおけるタンパク質の酸化還元酵素と、タンパク質分解の関わりについて世界の研究をリー

ドする成果を発表している。南アフリカ側の研究室である Blatch 博士の研究室はこれまで、マラリア原虫におけるタンパク質の品質管理に関わる酵素と、マラリア原虫の感染サイクルについて独自性のある研究を行ってきた。

まず、Pfj2 を含む酸化還元酵素はシステインを多く含み、通常の大腸菌株での発現は難しい。これまで、Blatch 研究室では Pfj2 タンパク質の大腸菌を用いた精製系の構築に成功していなかった。永田研究室では酸化還元酵素の精製について多くの経験があり、過去の経験から、チオレドキシン変異体を有した大腸菌株を用い、低温でのタンパク質発現条件によって Pfj2 の精製に成功した。

次に、マラリアのタンパク質は、ヒト細胞に移行して機能するものと、マラリア細胞内で機能するものが存在する。また、Pfj2 タンパク質は、酸化還元酵素であるだけでなく Hsp40 モチーフも有する。その構造から Hsp70 ファミリータンパク質の機能を制御することが予想される。そこで、Pfj2 タンパク質がヒト細胞内で機能するのか、ヒトの Hsp70 タンパク質との結合と Hsp70 タンパク質の活性に対する影響を in vitro 実験によって解析を行った。結果から、マラリア Pfj2 タンパク質はヒト Hsp70 と結合せず、活性にも影響を与えなかった。以上から、Pfj2 タンパク質はヒトの細胞内で機能するタンパク質ではないことが強く示唆された。

これまで、マラリア原虫に対する効果的な薬剤のターゲットタンパク質は同定されていない。しかし、今回 Pfj2 タンパク質がマラリア原虫の小胞体に存在する、Hsp40 ドメインと酸化還元酵素活性をもつ唯一のタンパク質であることが明らかになってきた。そのようなシャペロン活性と酸化還元酵素活性を持つタンパク質として、永田研究室が発見した ERdj5 と類似の性質を有している。ERdj5 との比較などを通じて、今後、Pfj2 の機能を阻害することで、マラリアにおける酸化還元酵素とタンパク質の品質管理機構および感染サイクルについてこれまでにない観点から研究を行い、全く新しいマラリア治療のターゲットを探索する研究を開拓することができると期待される。

6-2 人的交流の成果

従来希薄であった、日本、南アフリカの人的交流を実際にスタートさせ、日本側の研究室の研究員が南アフリカの研究室に滞在し、また南アフリカの研究室から派遣された大学院生と交流することで、外国の科学技術のレベルを知り、欧米諸国以外と共同研究が可能であることを学んだ。

本プロジェクト終了後も、論文作成の為、引き続き共同研究は継続される。今後の Pfj2 研究の発展次第では、さらに持続的に共同研究が続く可能性が期待される。

7. 主な論文発表・特許等（5件以内）

相手国側との共著論文については、その旨を備考欄にご記載ください。

論文 or 特許	・論文の場合： 著者名、タイトル、掲載誌名、巻、号、ページ、発行年 ・特許の場合： 知的財産権の種類、発明等の名称、出願国、出願日、 出願番号、出願人、発明者等	備考
論文	M. Hagiwara, K. Maegawa, M. Suzuki, R. Ushioda, K. Araki, Y. Matsumoto, J. Hoseki, K. Nagata and K. Inaba Structural basis of an ERAD pathway mediated by the ER-resident protein disulfide reductase ERdj5. <i>Mol. Cell</i> 41(4):432-444 (2011)	
論文	K. Araki and K. Nagata : Functional in vitro analysis of ER01 and protein-disulfide isomerase (PDI) pathway. <i>J. Biol. Chem.</i> 286(37):32705-32712(2011)	