

平成22年1月

柏木明子 学位論文審査要旨

主 査 佐 藤 建 三
副主査 福 本 宗 嗣
同 押 村 光 雄

主論文

Effects of *Tritrichomonas muris* on the mouse intestine: a proteomic analysis

(トリトリコモナス・ムリスの宿主マウス腸管に及ぼす影響：プロテオーム解析)

(著者：柏木明子、黒崎創、駱鴻、山本博、押村光雄、柴原壽行)

平成21年 Experimental Animals 58巻 537頁～542頁

学 位 論 文 要 旨

Effects of *Tritrichomonas muris* on the mouse intestine: a proteomic analysis

(トリトリコモナス・ムリスの宿主マウス腸管に及ぼす影響：プロテオーム解析)

トリトリコモナス・ムリスは、マウスを含む実験動物において最も頻繁に検出される原虫の一つであるが、その宿主に与える病原性については未だ不明なままである。近年、プロテオミクスは寄生虫感染の宿主への影響に関する研究および寄生虫感染症の治療法開発などに適用されてきている。しかしながらトリトリコモナス・ムリス感染については、未だプロテオーム解析が報告されていないため、本研究ではトリトリコモナス・ムリス感染群マウスおよび非感染群マウスで腸管のプロテオームを二次元電気泳動法により比較した。その結果、発現量の異なる10のタンパク質が検出された。それらについて質量分析法を用いて同定を行った。

方 法

マウスは6週齢雄のB57BL/6を用いた。トリトリコモナス・ムリス感染マウスと8週間同居させた6匹を感染群とし、非感染群マウス6匹と比較した。各々から盲腸を剖出し、生理食塩水で十分に洗浄し腸管内容物を除去した後、タンパク質を抽出し二次元電気泳動を行った。タンパク質を一次元目はpHグラジエントゲルを用い等電点により分離し、二次元目はSDS-PAGE法で分子量により分離を行った。泳動後のゲルを銀染色し、染色像はBIO-RADのImagerによりスキャンした。それぞれの二次元電気泳動像のスポットのマッチングと染色強度の測定はPDQuestソフトを用いて行った。ターゲットタンパクはゲルからカットし、ゲル内トリプシン消化後抽出した。抽出後、マトリックス支援レーザー脱イオン化飛行時間型質量分析装置を用いて個々のタンパクのペプチドフラグメントを検出した。その後、ターゲットタンパクをMascot質量分析データベースを用いて同定した。

結 果

二次元電気泳動ゲルにおいて1,000個以上のタンパク質スポットが確認できた。トリトリコモナス・ムリス感染群マウスと非感染群のプロテオーム比較解析を行った結果、感染群マウスと非感染群で発現レベルが異なるスポットが全スポットのうち10個検出された。そのうち8個は非感染群に比較し感染群で発現が減少し、2個のタンパクは発現が増加してい

た。得られた10個のスポットについてマトリックス支援レーザー脱イオン化飛行時間型質量分析し、同定を行ったところ、様々な機能をもつタンパク質が同定された。タンパク質の機能を分類すると、主にストレス、免疫反応、代謝、シグナル伝達に關与するものだった。

考 察

以上の結果から、マウスにおいてトリトリコモナス・ムリス感染はストレス、免疫反応、代謝、シグナル伝達の機能に影響を及ぼすことが示唆された。これらの同定されたタンパク群はトリトリコモナス・ムリス感染の宿主—寄生虫相互關係に關与する可能性が考えられる。また、これらのタンパク群はトリトリコモナス・ムリス感染症の診断マーカー候補としての可能性が考えられる。

結 論

本研究ではトリトリコモナス・ムリス感染群マウスおよび非感染群マウスにおける腸管プロテオーム解析を用い、有意に発現量の異なる10のタンパク質の同定に成功した。また、トリトリコモナス・ムリスは宿主のストレス、免疫反応、代謝、シグナル伝達の機能に影響を及ぼすことが、初めて示唆された。今回同定されたタンパク質群はトリトリコモナス・ムリス感染症の宿主—寄生虫相互關係に關与する可能性が考えられるため、トリトリコモナス・ムリス感染症の特徴がさらに明らかになり、今後の実験動物学に貢獻するものと考えられる。