

# Xiaotong Zhu 論文内容の要旨

主 論 文

The N-terminal segment of *Plasmodium falciparum* SURFIN<sub>4.1</sub> is required for its trafficking to the red blood cell cytosol through the endoplasmic reticulum

(熱帯熱マラリア原虫 SURFIN<sub>4.1</sub> の N 末端領域は粗面小胞体を経由した赤血球細胞質への輸送に必要とされる)

Xiaotong Zhu, Kazuhide Yahata, Jean Semé Fils Alexandre, Takafumi Tsuboi, Osamu Kaneko

(朱晓彤、矢幡一英、ジーン・セメ・フィルス・アレキサンダー、坪井敬文、金子修)

Parasitology International (in press)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻  
(主任指導教員：金子 修教授)

## 緒 言

マラリアはいまだに熱帯・亜熱帯地域を中心に世界に蔓延し、早急に対策を進めるべき問題である。マラリアの中でも最も危険な悪性マラリアを引き起こす熱帯熱マラリア原虫は、病原性に関わる接着分子等を感染赤血球内に形成するマウレル裂と呼ばれる膜構造物を経て赤血球表面に輸送する。原虫分子の輸送を阻害することで病原性を軽減できるため、この分子輸送機構の解明は重要な研究課題である。マウレル裂と感染赤血球表面に局在する接着分子候補で **surface-associated interspersed gene (surf)** 多重遺伝子族がコードする一回膜貫通型タンパク質 SURFIN は、熱帯熱マラリア原虫以外のマラリア原虫種にも相同体が存在し、かつ感染赤血球に局在する唯一の分子であるため、本研究では、マラリア原虫種を通じて保存された輸送機序を明らかにする事を念頭に、SURFIN<sub>4.1</sub> と呼ばれるメンバーについて、その局在を再評価し、マウレル裂への輸送に必要な領域を明らかにすることとした。

## 対象と方法

SURFIN<sub>4.1</sub> の相補的 DNA の塩基配列を複数の原虫株において決定した。SURFIN<sub>4.1</sub> の全長を Ty タグ配列と緑色蛍光タンパク質(GFP)と融合した組換え全長 SURFIN<sub>4.1</sub> を発現する組換え熱帯熱マラリア原虫、組換え全長 SURFIN<sub>4.1</sub> から種々の領域を除去した組換え部分 SURFIN<sub>4.1</sub> を発現する原虫、さらに、細胞膜領域周辺の配列を SURFIN とは関係のないタンパク質の相当領域と入れ替えた組換え SURFIN<sub>4.1</sub> を発現する原虫を作製した。間接蛍光抗体法により、組換え SURFIN<sub>4.1</sub> と種々の局在マーカーの共局在を検討した。精製した原虫虫体からトリトン X-100 により抽出した膜タンパク質を免疫沈降することによりタンパク質複合体形成を検討した。

## 結 果

①相補的 DNA の塩基配列の再評価を行った結果、以前の報告とは異なり、SURFIN<sub>4.1</sub>は株により、細胞内領域に他の SURFIN 相同体との間で保存しているトリプトファンに富んだ領域を2つ含むものと全く含まないものとの2種類があった。②3D7株の全長 SURFIN<sub>4.1</sub>をタグタンパク質との融合タンパク質として発現させたところ、SURFIN<sub>4.1</sub>は感染赤血球へは輸送されていないとした以前の報告とは異なり、感染赤血球内のマウレル裂に局在した。③ブレフェルディン A 処理により、粗面小胞体マーカーと共局在を示したため、SURFIN<sub>4.1</sub>は粗面小胞体を経て細胞外へ輸送されることが示唆された。④膜貫通領域は粗面小胞体への移行に必須であった。⑤SURFIN<sub>4.1</sub>の細胞外領域のシステインに富んだ領域とそれに続く相同体間で多様性に富んだ領域があると、内在性の SURFIN<sub>4.1</sub>と複合体を形成して、マウレル裂へ輸送されてしまうことが分かった。⑥アミノ末端側にマウレル裂へ輸送されるシグナルが2つ存在する事が分かった。⑦細胞膜貫通領域と直後の細胞内領域を関係のないタンパク質に置換すると、マウレル裂への輸送効率が落ちた。

## 考 察

熱帯熱マラリア原虫が感染赤血球内へ原虫分子を輸送するシグナルとして、輸送される分子のアミノ末端側疎水性領域と5つのアミノ酸からなる *Plasmodium* export element (PEXEL)と呼ばれるモチーフを用いる PEXEL 依存性輸送と、PEXEL モチーフを持たないアミノ末端領域と膜貫通領域を用いる PEXEL 非依存性輸送が知られている。本研究により SURFIN<sub>4.1</sub>は原虫内では粗面小胞体を経由する古典的分泌経路を用い、マウレル裂への輸送は PEXEL モチーフに依存しないものの、アミノ末端領域を必要とし、膜貫通領域が輸送効率に大きく影響することが明らかとなり、SURFIN<sub>4.1</sub>の輸送は既知の PEXEL 非依存性輸送と同じ特徴を持つ事が明らかとなった。このことは、マラリア原虫において PEXEL 非依存性輸送がより古典的である事を意味するのかもしれない。