

口頭発表

**[3T15m]レドックス・エネルギー変換**

座長：赤池 孝章（東北大学）、斎藤 芳郎（東北大学）

2021年11月5日(金) 09:00 ～ 11:00 チャンネル15

10:50 ～ 11:00

**[3T15m-12(P-370)]寄生原虫トリパノソーマ由来エネルギー代謝因子を用いたミトコンドリア呼吸鎖機能破綻の解析**

○林下 瑞希<sup>1</sup>, 小笠原 絵美<sup>2</sup>, 武田 弘資<sup>3</sup>, 八谷 早紀<sup>3</sup>, 稲岡 健ダニエル<sup>1,4,5</sup>, 北 潔<sup>1,4,6</sup> (1.長崎大学大学院熱帯医学・グローバルヘルス研究科, 2.大阪大学大学院理学研究科生物科学専攻, 3.長崎大学大学院医歯薬学総合研究科生命薬科学専攻細胞制御学分野, 4.東京大学大学院医学系研究科国際保健学専攻生物医化学分野, 5.長崎大学熱帯医学研究所分子感染ダイナミクス解析分野, 6.長崎大学熱帯医学研究所感染生化学分野)

キーテクノロジー：ミトコンドリア機能解析

キーワード：エネルギー代謝、ミトコンドリア病、トリパノソーマ

mizuki-hayashishita@nagasaki-u.ac.jp

ミトコンドリアでは、呼吸鎖（複合体Ⅰ～Ⅳ）とATP合成酵素（複合体Ⅴ）による酸化的リン酸化によりATPが合成される。呼吸鎖はキノンプールを境に、TCA回路やピリミジン生合成などに関与する上流経路と、複合体Ⅲ/Ⅳからなる下流経路に分けられる。ミトコンドリア病は発症機構が未解明であり、症状は神経疾患や心筋症など様々である。患者のミトコンドリア（mt）DNAには点変異や欠損がみられることから、ミトコンドリア機能の低下が発症の一因であると考えられている。mtDNAは呼吸鎖複合体Ⅰ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴの構成因子等をコードするため酸化的リン酸化の破綻が推定されるが、どのステップの破綻が発症に影響を与えるかを解析する事は困難であった。本研究では、ヒト培養細胞に寄生原虫トリパノソーマ由来の代謝関連因子を用いた「代替エネルギー代謝経路」を構築し、ミトコンドリア病発症機構に関わるステップの詳細な解析を目指す。血流型トリパノソーマのミトコンドリアにはプロトンポンプとして働く酵素が存在しない為、シアン耐性キノール酸化酵素；TAO（ヒト複合体Ⅲ/Ⅳに相当）が呼吸鎖下流経路を担い、酢酸：コハク酸 CoA 転移酵素；ASCT 経路により酸化的リン酸化非依存的にATPが合成される。今回は研究の第一段階として、トリパノソーマ由来のTAOとASCTをそれぞれHeLa細胞（ヒト子宮頸がん由来）に強制発現させ、フラックスアナライザーを用いて酸素消費速度（Oxygen Consumption Rate; OCR）を測定することでミトコンドリア機能への寄与を評価した。TAO発現細胞に対しては各種阻害剤として、Oligomycin A（複合体Ⅴ阻害剤）、FCCP（脱共役剤）、Antimycin A（複合体Ⅲ阻害剤）、Ascofuranone（TAO阻害剤）を添加し、ASCT発現細胞に対しては、Oligomycin A、FCCP、Antimycin Aを添加しOCRを測定した。その結果、TAO発現細胞はAntimycin A耐性を、ASCT発現細胞はOligomycin A耐性を示し、トリパノソーマ由来のTAOとASCTがヒト細胞内でも機能しうることが示された。今後は、ミトコンドリア異常症モデル細胞にTAOを発現させて「呼吸鎖下流経路」を補い、ASCTを発現させて「ATP合成」を単独で回復させることでミトコンドリア病発症機構の解明を目指す。