

科学研究費補助金（学術創成研究費）公表用資料  
〔研究進捗評価用〕

平成18年度採択分

平成21年4月30日現在

研究課題名（和文）マラリア原虫類を中心としたオルガネラの多様なエネルギー転換機構

研究課題名（英文） Diversity of energy transducing mechanism by organelle from the parasites such as *Plasmodium*

研究代表者

北 潔 (KITA KIYOSHI)

東京大学大学院医学系研究科・国際保健学専攻・生物医化学教室



推薦の観点：「創造的・革新的・学際的学問領域を創成する研究」

研究の概要：真核生物は細胞内に種々のオルガネラを持ち、それらの働きによって高度な生物機能を支えているが、従来のミトコンドリアや葉緑体の概念を越え、独自のDNAを含む多様なオルガネラが寄生性の生物で発見されつつある。そこで、これまでのモデル生物の研究からは想像もできなかったようなオルガネラの多様なエネルギー転換機構を解明するとともに、この機構を中心としたオルガネラ間のダイナミックな相互作用、さらにはその進化について考察するための確かな基盤を確立する事を目的としている。

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：寄生虫学

キーワード：オルガネラ、寄生虫、感染症、エネルギー代謝、細胞・組織、進化

### 1. 研究開始当初の背景

真核生物は細胞内に種々のオルガネラを持ち、それらの働きによって高度な生物機能を支えている。それらの中で、ミトコンドリアや葉緑体は細胞の生存、増殖に不可欠なエネルギー転換反応を担うオルガネラであり、精力的な研究が進められた結果、その起源、反応機構、相互作用に関して多くの事実が明らかになってきた。さらに低酸素環境に適応し、好気性生物とは大きく異なった寄生性生物の特殊なミトコンドリアの存在が明らかになり、ミトコンドリアを持たない真核生物まで報告されるようになってきた。また興味深い事に、年間数百万人の死者を出すマラリアの病原体であるマラリア原虫が、機能的に未分化の葉緑体（アピコプラスト）を含んでいる事実が明らかとなった。この様に従来のミトコンドリアや葉緑体の概念を越え、独自のDNAを含む多様なオルガネラが寄生性の生物で発見されつつある。しかし、その成立過程、生理機能の詳細、オルガネラ間の相互作用に関する情報はごく僅かであり、エネルギー転換機構の基本原則の解明とともにオルガネラの多様性に関する生物学的意義の解明が求められている。

### 2. 研究の目的

そこで本研究では上記の未知の問題を解決し、これまでのモデル生物の研究からは想像もできなかったようなオルガネラの多様

なエネルギー転換機構を解明するとともに、この機構を中心としたオルガネラ間のダイナミックな相互作用、さらにはその進化について考察するための確かな基盤を確立する事を目的としている。

### 3. 研究の方法

この研究目的を達成するため、(1) オルガネラ間相互作用とオルガネラの進化、(2) オルガネラDNAの複製と転写およびタンパク質合成系、(3) ミトコンドリアと共通祖先を持つオルガネラの3課題に焦点を絞って研究を進めている。本研究では多様な分野の研究者が緊密な関係をとって研究を進め、これまでになかった包括的組織的研究体制を構築する事により、新しいオルガネラ像についての学問領域を創りたいと考えている。

### 4. これまでの成果

#### (1) オルガネラ間相互作用とオルガネラの進化

ミトコンドリアおよびアピコプラストをそれぞれGFPで標識し、パーコールやセルソーターで分離を試みた結果、両者に強い相互作用が見られた。これに対して細胞骨格関連の阻害剤の効果を検討したところ、両者が一部分離する事が判り、それぞれのオルガネラのみを含む画分が得られる方法も得られた。また、マラリア原虫のミトコンドリアゲノムの進化速度とアピコプラストの起源に関しては、赤血球期では呼吸系が十分には機能し

ていないマラリア原虫ミトコンドリアのゲノム進化速度を検討したところ、核ゲノムハウスキーピング遺伝子と同程度であり、ミトコンドリアDNAの進化速度が速いほ乳類と大きく異なることが明らかになった。

この様なマラリア原虫特徴に注目してマラリア原虫と宿主の共進化関係について調べた結果、現生マラリア原虫は2,000~4,000万年前に急速に多様化した事が判った。この多様化は、宿主動物の出現のはるか後の出来事であり、宿主転換によって引き起こされたと考えられ、宿主転換による急速な多様化（マラリアビッグバン）という新たな共進化仮説を提唱するに至った。これは、従来の「マラリア原虫は宿主と共進化してきた」とのマラリア原虫の進化観を覆すものであり、内外で注目されている。

またマラリア原虫類とそれに最も近縁な渦鞭毛藻（渦鞭毛虫）との分岐点近傍に位置づけられているペルキンススに葉緑体関連遺伝子候補群を見出し、色素体様オルガネラへの局在を明確に示した。興味深い事に、ペルキンススのこのオルガネラがDNAを持たない事を強く示唆する結果を得ている。

## (2) オルガネラ DNA の複製と転写およびタンパク質合成系

モデル生物である真正粘菌の情報をを用いてマラリア原虫オルガネラの核様体タンパク質の網羅的解析を進めた。マラリアのデータベース上で同定されたDNA polymeraseについて、GFPによる局在解析をおこなったところ、実際にミトコンドリアに輸送される事が判った。このDNA polymeraseは動物や菌類のミトコンドリアで働くDNA polymeraseよりも、植物で最近報告されたDNA polymerase I 様型に類似していた。また、他のミトコンドリアDNA polymeraseに存在する3' -5' exonuclease ドメインがないという特徴を持っていた。さらにアピコプラストの核様体タンパク質 PfHU が原虫の増殖に必須である事を見出し、抗体を用いて局在の決定し、組換えタンパク質を用いてアピコプラストDNAとの結合様式、また欠損変異株を用いた大腸菌での機能的相補を明らかにした。

## (3) ミトコンドリアと共通祖先を持つオルガネラ

ミトコンドリア機能の多様化と進化を理解する事を目的として、代表的嫌気性原虫赤痢アメーバを用いてミトコンドリア関連オルガネラ（マイトソーム）の構成タンパク質と機能の解析を進めた。精製法を確立し、得られたマイトソームを用いてプロテオーム解析によりマイトソームの構成タンパク質を明らかにした。この解析により90以上の新規タンパク質がマイトソームに存在する事が判った。そのうち20について逆遺伝学的手法と生化学的方法によりマイトソーム

への局在を確認した。ここで得られた最も重要な知見は、赤痢アメーバのマイトソームに硫酸活性化経路の主要酵素が偏在（compartmentalization）していた事であった。さらに硫酸Naの共役輸送体も局在していた。我々は同時に精製したマイトソームに実際に硫酸活性化活性が存在する事、活性化された硫酸は中性リン脂質の合成に利用される事を明らかにした。以上の知見からこの新規ミトコンドリア関連オルガネラを「サルフォソーム」と命名する事を提案した。これまでミトコンドリアに硫酸活性化経路が同定された前例はなく、本研究結果はミトコンドリアの高度に分化した機能と進化に新しい知見を加えたと考えられる。

## 5. 今後の計画

マラリア原虫などアピコプレックスに関してはミトコンドリアとアピコプラストの相互作用、機能の特徴を分子進化の観点から背景に解析して行く。さらにマイトソームに関しては、その特殊な機能と生理的な特徴を明らかにし、これら原虫の寄生適応の戦略とそれに関わるオルガネラの特殊な役割を明らかにする。

## 6. これまでの発表論文等（受賞等も含む）

（研究代表者は太字、研究分担者は二重下線）

① A cryptic algal group unveiled: a plastid biosynthesis pathway in the oyster parasite *Perkinsus marinus*. Matsuzaki M., Kuroiwa H., Kuroiwa T., **Kita K.** and Nozaki H. (2008) **Mol. Biol. Evolution** 25, 1167-1179

② Big bang in the evolution of extant malaria parasites. T. Hayakawa, R. Culleton, H. Otani, T. Horii, and **K. Tanabe** (2008) **Mol. Biol. Evol.** 25, 2233-2239

③ Mitochondrial Dehydrogenases in the Aerobic Respiratory Chain of the Rodent Malaria Parasite *Plasmodium yoelii yoelii*. Kawahara, K., Mogi, T., Tanaka, Q. T., Hata, M., Miyoshi, H. and **Kita K.** (2009) **J. Biochem.** 145, 229-237

④ Novel Mitochondrial Complex II Isolated from *Trypanosoma cruzi* is Composed of Twelve Peptides Including a Heterodimeric Ip Subunit. Morales, J., Mogi, T., Mineki, S., Takashima, E., Mineki, R., Hirawake, H., Sakamoto, K., Ōmura, S. and **Kita, K.** (2009) **J. Biol. Chem.** 284, 7255-7263

⑤ The *Plasmodium* HU homolog, which binds the plastid DNA sequence-independent manner, is essential for the parasite's survival. **Sasaki N.**, Hirai, M., Maeda, K., Yui, R., Itoh, K., Namiki, S., Morita, T., Hata, M., Murakami-Murofushi, K., Matsuoka, H., **Kita, K.**, Sato, S. (2009) **FEBS Lett.** 583, 1446-1450

ホームページ等

[http://www.sih.m.u-tokyo.ac.jp/chem\\_top-J.html](http://www.sih.m.u-tokyo.ac.jp/chem_top-J.html)