

## 審査の結果の要旨

氏名 宮寺 浩子

本研究は寄生性蠕虫類のエネルギー代謝系であるNADH-フマル酸還元系について重要な構成要素である複合体 II の酵素的性質について、そして電子伝達体ロドキノンの生合成系について解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

### 1. ロドキノール-フマル酸還元酵素の精製と一次構造の決定

NADH-フマル酸還元系における末端酸化酵素であるロドキノール-フマル酸還元酵素における電子伝達の機構や、コハク酸脱水素酵素との構造的相違点についての知見を得る目的で、紅色非硫黄光合成細菌 *Rhodospirillum rubrum* のロドキノール-フマル酸還元酵素を精製し、その酵素的性質を解析し、クローニングによる一次構造の解析を行った。その結果、*R. rubrum* ロドキノール-フマル酸還元酵素はそのサブユニット構成、基質親和性などの酵素的性質が回虫ロドキノール-フマル酸還元酵素と非常に類似していること、しかし進化的には独立の経路で獲得された酵素であることを示した。

### 2. 回虫ロドキノン生合成系の解明

ロドキノン NADH-フマル酸還元系において電子伝達体として機能し、回虫など蠕虫類のエネルギー代謝における必須の構成要素であるため、その生合成系はこれらの蠕虫類に対する化学療法剤開発において有効な標的となることに着目し、回虫ロドキノン生合成酵素の同定を目的として解析を行った。先行研究より、ロドキノンのキノン骨格はユビキノン生合成系によって生合成されていることが示唆されているが、その生合成前駆体が DMQ および hydroxyUQ、UQ のいずれであるのかは不明であった。そこで、本研究ではロドキノンの生合成前駆体を推定することを目的に、回虫と同様線虫であり既にその全ゲノム配列が同定されている線虫 *Caenorhabditis elegans* においてユビキノン生合成系に変異があると考えられた *clk-1* 変異株のキノン組成の解析を行った。その結果、*clk-1* 変異株ではユビキノン生合成中間体である DMQ が蓄積しており、ユビキノンが検出されないことを示した。得られた結果よりロドキノンの生合成前駆体が恐らく DMQ またはそれより上流の生合成中間体であると推測された。

### 3. NADH-フマル酸還元系を標的とした化学療法剤の探索と阻害機構の解析

NADH-フマル酸還元系を標的とした化学療法剤の開発を目的として、その候補分子の

探索、およびその阻害機構の解析を行った。3種の構造の異なるグループの化合物及びその構造類縁体について阻害活性を検討し、その中で最も阻害効果の高いナフレジンについて、その阻害機構を解析した。その結果、ナフレジンは回虫呼吸鎖複合体Iを特異的に阻害すること、そしてナフレジンは回虫複合体Iのキノン結合部位を特異的に阻害していることを示した。この結果は、複合体Iのキノン結合部位が寄生性蠕虫と哺乳動物の間で異なること、したがって、複合体Iが選択的阻害剤の標的として極めて有効であることを示唆するものである。

以上、本論文はNADH-フマル酸還元系を構成する酵素の構造及び酵素的性質についての基礎的研究であり、より詳細な構造活性相関を明らかにする上で不可欠な解析である。また、ロドキノン生合成系を解明する過程で、これまでその生化学的な変動が全く捉えられていなかった線虫長寿命変異株においてキノン組成が著しく変化していることを示している。さらに、薬剤の探索と阻害機構の解析により、実際にNADH-フマル酸還元系が抗寄生虫薬の標的として有効であることを示している。このように、本研究はロドキノンを基質とする酵素群の解明とこれを標的とした阻害剤の探索に重要な貢献をしていると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。