

審査の結果の要旨

氏名 田中 健

本研究は熱帯熱マラリア原虫 *Plasmodium falciparum* の赤内期の生存におけるミトコンドリア複合体Ⅱの役割を明らかにすることを目的として、複合体Ⅱの機能低下による原虫への影響を観察したものである。そのため、アンハイドロテトラサイクリン (ATc) 依存性遺伝子発現調節システムを用いて、複合体Ⅱの触媒部位を構成するサブユニットの一つであるフラボプロテインサブユニット (Fp) をコードする *pfsdha* 遺伝子のコンディショナルノックアウト株の樹立を試み、下記の結果を得ている。

1. 得られた *pfsdha* 遺伝子破壊株は ATc による遺伝子発現調節機能を失っており、恒常的に *pfsdha* の発現が低下していた。この ATc による遺伝子発現調節能の消失は、GFP を発現するコントロールの形質転換株でも確認された。また、このシステムを作成した Brendan S. Crabb 博士によれば「長期間の培養によって、トランスアクチベーターの発現量の低下または ATc 反応性の低下によるものと考えられる ATc 依存性遺伝子発現調節能の低下が起こること」が記されている。詳しい機序は不明ながら、本研究においても長期間の培養が遺伝子発現調節能の消失を引き起こしたと考えられる。これは、pTGPI-GFP ベクターでは *P. falciparum* においてコンディショナルノックアウト株を樹立できないことを示唆している。
2. 得られた *pfsdha* 遺伝子破壊株は ATc による遺伝子発現調節能を失っていたものの、恒常的な *pfsdha* 遺伝子発現抑制と複合体Ⅱの機能低下が起こっており、本研究の目的には合致していた。そこで、解析を行ったところ、複合体Ⅱの機能低下によるミトコンドリア膜電位の変化は観察されなかったが、増殖を阻害することが明らかとなった。
3. *pfsdha* 遺伝子破壊株における増殖阻害が、コハク酸では回復されるがフマル酸は効果を示さないことが明らかとなった。この結果は、赤内型原虫生体内において複合体Ⅱが SQR の逆の反応を行うキノール-フマル酸還元酵素 (QFR) として機能しており、複合体Ⅱによって産生されたコハク酸が原虫の生存に寄与していることを示唆している。
4. コハク酸はスクシニル CoA 合成酵素によりスクシニル CoA に変換されることで、赤内型原虫の生存に必須であるヘムの生合成に用いることが可能である。多くの生物においてスクシニル CoA の主な供給源である TCA 回路や  $\beta$  酸化が *P. falciparum* の赤内型原虫には存在していないことから、「複合体Ⅱによって産生されたコハク酸がスクシニル CoA 合成酵素によりスクシニル CoA に変換され、ヘム生合成系に用いられている」という仮説を提唱した。

以上、本論文はヒトにマラリアの症状を引き起こすステージである赤内型 *P.*

*falciparum* ミトコンドリアにおいて、発現解析に留まっていた TCA 回路構成酵素のひとつである複合体Ⅱの機能を明らかにし、その代謝系における役割としてヘム生合成系への寄与を提唱した。さらに、今回得られた *pfsdha* 遺伝子破壊株は、生活環における他のステージの複合体Ⅱやミトコンドリアの役割の解明に大いに貢献すると考えられ、学位の授与に値すると思われる。