

6.人畜共通感染症における薬剤ターゲットとなりうる細胞質型 及びミトコンドリア型ホスファージェンキナーゼに関する解析

徳弘慎治¹⁾、宇田幸司²⁾、牧純³⁾、朴炫宣⁴⁾、長瀧充¹⁾、金澤保⁵⁾、桐木雅史⁶⁾、
鈴木知彦²⁾、吾妻健¹⁾

¹⁾高知大・医・環境保健、²⁾高知大・理・生化学、³⁾松山大・薬・医療薬学・感染症、
⁴⁾高知県立牧野植物園、⁵⁾産業医大・医・寄生虫学熱帯医学、⁶⁾独協医大・医・熱帯病寄生虫病

1. 研究の背景と目的

ホスファージェンキナーゼ(PK)は、細胞における ATP のバッファリングにおいて必要不可欠な 8 種類の酵素群である。ヒトなどの脊椎動物はクレアチンキナーゼ(CK)のみを有するが、寄生虫等の無脊椎動物には CK 以外にもアルギニンキナーゼ(AK)をはじめ多くの PK が分布する。寄生虫及びその中間宿主から CK が発見された報告はこれまでに無いことから、これら PK に対する特異的阻害物質の発見はヒト CK に対し阻害を示さない新薬の開発を期待させる。我々はこれまでに寄生虫 PK の塩基配列を決定し、その組換蛋白の酵素特性について解析を行ってきた。本研究ではこれら寄生虫及びその中間宿主が有するミトコンドリア型 PK のクローニングを試みた。

2. 方法

寄生虫及びその中間宿主 mRNA より合成した cDNA を鋳型として、これまで報告された PK のアラインメントに基づき設計した縮重プライマーを用い PCR を行った。得られた PCR 産物を精製しクローニングしたのちその塩基配列を決定した。塩基配列を決定したものは蛋白発現用ベクターへと組み込み、組換蛋白を発現させその酵素特性を決定した。組換蛋白は PK、Pyruvate kinase (PyK)及び Lactate dehydrogenase (LDH) によるカップリングアッセイにより PK 活性を測定した。

3. 結果

本研究にて寄生虫及びその中間宿主が有するミトコンドリア型 PK のクローニングを試みたが、明らかにミトコンドリア型であると推察出来る PK は得られなかった。しかしながら、日本住血吸虫 *Schistosoma japonicum* の中間宿主貝であるミヤイリガイ *Oncomelania hupensis nosophora* (Ohn)から他の軟体動物 PK とは異なる N 末端側に 21 アミノ酸残基伸長した構造を有するユニークな PK が得られた。この PK の基質特異性を測定したところ、AK であることが明らかとなった。OhnAK における N 末端の 21 アミノ酸にはミトコンドリア型 PK が有するシグナルペプチドは検出することが出来なかった。

4. まとめ

本研究において他の軟体動物 AK とは異なるユニークな OhnAK が発見された。この事は、寄生虫及び中間宿主において既存 PK とは異なるユニークな PK の存在を示唆しており、今後 OhnAK の構造を解析することで、ミトコンドリア型 PK の発見へと発展させたい。