

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19114

研究課題名(和文)低酸素環境下における寄生虫のATP合成マシナリーの分子基盤

研究課題名(英文)Molecular basis of ATP synthesis machinery from parasite living under microenvironment

研究代表者

稲岡 健ダニエル (INAOKA, Ken Daniel)

長崎大学・熱帯医学・グローバルヘルス研究科・助教

研究者番号：10623803

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、アフリカトリパノソーマ症を引き起こす *T. brucei* のミトコンドリアに局在し、ATPと酢酸生産の他にCoAの再利用に直接関わる、Acetate:succinate CoA Transferase / Succinyl-CoA synthase (ASCT/SCS) サイクルの大量調整、*in vitro* 再構成、生化学的解析、結晶構造解析と阻害剤探索を行った。*T. brucei* のASCT/SCSサイクルは、酸化リン酸化のATP合成酵素より高いATP生産能を保有 (Kcat=202 s<sup>-1</sup>) する。また、ASCTは4量体であり、SCOTとは構造も機能も異なる事を世界で初めて明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Trypanosoma brucei produces acetate (Ace) in mitochondria by two different enzymes: acetyl-CoA (ACoA) hydrolase or acetate:succinate CoA-transferase (ASCT). Under physiological condition, ASCT transfers the CoA from ACoA to succinate (Suc) to form Ace and succinyl-CoA (SCoA), which is consequently converted back to Suc by SCoA synthase (SCS) with net production of 1 mol of ATP per mol of ACoA in a process named ASCT/SCS cycle. So far, no biochemical information for ASCT family of CoA-transferase is reported. In this project, an over-expression system and purification of active TbASCT together with a novel sensitive method to measure ASCT activity have been developed. Purified TbASCT obeys Michaelis-Menten kinetics with Kcat of 202 ATP per second and show high affinity for ACoA (Km = 47 μM) than succinate (9.86 mM). A method for in-gel ASCT activity staining was developed showing evidence that TbASCT is active as homotetramer which was consistent to the crystal structure.

研究分野：寄生虫学(含衛生動物学)

キーワード：寄生虫 ATP合成 ASCT 生化学的解析 結晶構造解析 ミトコンドリア様オルガネラ

## 1. 研究開始当初の背景

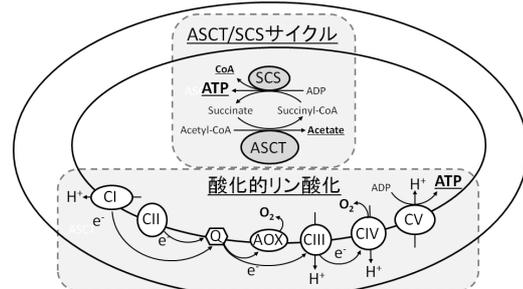
生物は他の生物と深い関わりを保ちつつ生存している。寄生現象もこの様な関係のひとつと考えられ、自由生活型の祖先から出発し、寄生生活に移行してからの進化の過程において宿主内の環境に適応し、宿主特異性や臓器特異性をそなえた種々の寄生虫が成立したと考えられる。この点から寄生虫は真核生物における適応現象の研究を進めるうえで極めて良い研究対象であり、特にエネルギー転換系のような全生物に共通の代謝系の適応や進化、また基本的な反応機構を理解するうえで最適な系のひとつと考えられる。研究代表者はこの様な観点から、回虫やトリパノソーマ、マラリア原虫などの寄生虫とその宿主であるヒトのエネルギー代謝に関し「寄生適応機構の解明」を目的として研究を進めている。その結果、寄生虫ミトコンドリアにおいて多様な経路が機能して環境の変化に対応し、酢酸が最大の最終代謝産物である事から酢酸発酵が寄生虫のエネルギー代謝経路において重要な経路の一つである事が判ってきた。

宿主のミトコンドリアでは、呼吸鎖複合体 I~V (CI~CV) による酸化的リン酸化によって ATP が合成され (図 1)、最終代謝産物として二酸化炭素と水が産生・排出される。しかし、嫌気的な環境で生育する寄生虫 (表 1) が有する嫌気的ミトコンドリア (AM)、またはミトコンドリア様オルガネラ (MRO) では TCA 回路や酸化的リン酸化が消失または不完全な状態であり、ATP 生産は Acetate:succinate CoA Transferase (ASCT) と Succinyl-CoA synthase (SCS) に構成される ASCT/SCS サイクルによる、基質レベルのリン酸化に依存する (図 1)。さらに、ミトコンドリアとは異なり、AM や MRO の主な最終代謝産物として酢酸が挙げられ、ATP と酢酸は ASCT/SCS サイクルにより生産されると考えられている (図 1)。すなわち、1 分子のグルコースが解糖系により 2 分子の ATP と 2 分子の Acetyl-CoA が生成され、ミトコンドリアの ASCT/SCS サイクルによって、さらに 2 分子の ATP が生成される。このサイクルは寄生虫に留まらず、AM や MRO を有する真核生物で広く保存され、酸素量が限られている宿主内などの環境に適応するために重要なエネルギー代謝の一つであり、ATP の供給以外に、CoA の再利用や脂質合成に必要な酢酸も産生する (図 1) 非常に効率が良い経路である。

ASCT は 1 型 CoA 転移酵素に属し、さらにサブファミリー 1A、1B 及び 1C に分類される (表 1)。しかし、ASCT は不安定である上に活性測定が困難なため生化学的解析は行われておらず、事実上 ASCT/SCS サイクルとして機能する直接的な証拠は存在しない。ASCT/SCS サイクルの特異的な阻害剤も存在しないため、生理機能解析に有用であるケミカルバイオロジーの手法を用いる事も不可能である。研究代表者はこれまで *Trypanosoma brucei*

*brucei* の ASCT/SCS サイクルの研究を行ってきた。そして、世界で初めて組換え ASCT を大量発現及び大量精製する系を確立した。この精製 ASCT を用いた ASCT/SCS サイクルの解析や ASCT が保存されている様々な寄生虫の薬剤開発に対し、国内外から大きな期待が寄せられている。

図1: ASCT/SCSサイクルと呼吸鎖のATP合成マシナリー



CI~CV: 呼吸鎖複合体 I~V; AOX: Alternative Oxidase; Q: キノン;  
ASCT: Acetate:Succinate CoA Transferase; SCS: Succinyl-CoA Synthetase

表1: ASCTを有する生物とその呼吸鎖の構成

Species	ASCT	Localization	RC
<i>Homo sapiens</i>	-	Mito	CI, CII, CIII, CIV, CV
<i>Trypanosoma brucei spp</i>	1A	AM	CII, AOX, CV
<i>T. cruzi</i>	1A	AM	CII, CIII, CIV, CV
<i>Leishmania spp</i>	1A	AM	CII, CIII, CIV, CV
<i>Blastocystis sp.</i>	1B	MRO	CI, AOX
<i>Trichomonas vaginalis</i>	1C	MRO	-
<i>Ascaris suum</i>	1A, 1B	AM	CI, CII, CV
<i>Fasciola hepatica</i>	1B	AM	CI, CII, CV

Mito: Aerobic Mitochondria; AM: Anaerobic Mitochondria; MRO: Mitochondria Related Organelles; RC: Respiratory Chain; CI~CV: Complex I~V; AOX: Alternative Oxidase;  
ASCT: Acetate:Succinate CoA Transferase

## 2. 研究の目的

本研究では寄生適応に重要な役割を果たす ASCT/SCS サイクルの分子機構解明と特異的阻害剤の創出を目的とする。

研究代表者が独自に構築した系を用いて、各 ASCT サブファミリーの大量発現・精製を行い、「ASCT/SCS サイクル」の *in vitro* 再構築と詳細な生化学的解析を行う。最低 1 種類の ASCT の立体構造を決定し、その分子構造を明らかにする。そして、オープンアクセスの「化合物ライブラリー」を用いて HTS を行い、ASCT/SCS サイクルの特異的阻害剤を 2 種類以上創出する。さらに、ASCT の変異体や阻害剤を用いて生化学的解析を行い、酵素の反応・阻害メカニズムを明確にする。

## 3. 研究の方法

### ASCT の分子構築と生理機能。

研究代表者らはこれまでに大腸菌を用いた *T. b. brucei* の組換え ASCT の発現系と高純度の ASCT が mg オーダーで精製できる系を確立し、実際に精製された ASCT の酵素活性を測定して酢酸と Succinyl-CoA が生成される事を確認している (論文投稿中)。

研究代表者等はこれまで ASCT サブファミリー 1A のモデルとして *T. b. brucei* の ASCT を用いて研究を行ってきた。本研究では他のサブファミリーのモデル生物として 1B からは *Ascaris suum*、1C からは *Trichomonas vaginalis* を用いた (表 1)。阻害剤の特異性を検討するために、TbASCT と 50% 程度の同一

性をもつヒトの Succinyl-CoA Transferase (SCOT)を用いた。具体的には、TbASCTで構築した系をAsASCT、TvASCT及びSCOTに適用し、大腸菌を用いた組換え酵素の大量発現及び精製を試みた。

#### ASCTの結晶化。

精製ASCTを用いて、順次結晶化条件のスクリーニングを行った。具体的にはHampton ResearchやJENA Bioscience等の市販の結晶化スクリーニングキットを使用し約5,000条件をスクリーニングし、結晶化温度は当研究室で実績がある4と20で行った。得られた結晶は、京都工芸繊維大学の原田繁春教授の協力を得て、Spring-8とPhoton Factoryの大型放射光施設でX線回折データを測定し、結晶構造を決定した。また、ASCTのみを阻害する化合物を見出したため、ASCTとの共結晶化を試みた。

#### in vitro「ASCT/SCS サイクル」の再構成実験。

SCSはASCTとは逆に種間において保存性が極めて高い。そのため、「ASCT/SCS サイクル」の再構成実験には入手が可能な大腸菌由来のSCSを使用した。この系を用いて「ASCT/SCS サイクル」を反応させ、ATPの定量(ルシフェラーゼアッセイ)、酢酸の定量(アセチルキナーゼ・ピルビン酸キナーゼ・乳酸脱水素酵素アッセイ)及びCoAを定量し(イールマン試薬)、化学量論的解析を行った。

#### ASCTの活性部位変異体の解析。

他の生物のCoA転移酵素の一次構造との比較から予想される基質結合に関わるアミノ酸残基に部位特異的変異を加え、その組換え酵素の活性や基質に対する感受性の変化を調べた。その結果からASCTのCoA転移反応機構の解析を行った。

#### ASCTの生化学的解析。

「ASCT/SCS サイクル」の再構成系を用いて各ASCTの生化学的解析を行い、基質であるコハク酸とアセチルCoAの $K_m$ や $V_{max}$ といった基本的なパラメータを決定した。さらに、側鎖の異なるCoAドナーを用いて「ASCT/SCS サイクル」活性を測定し、ASCT間での基質特異性を明らかにした。*A. suum*など他生物のASCTはアセチルCoAの他にプロピオンCoAも基質とし、酢酸の他にプロピオン酸の産生にも関わると考えられている。共同研究者であるFrédéric Bringaud博士が行った*T. b. brucei*のメタボローム解析の場合、最終代謝産物としてプロピオン酸は検出されない。そのため、ASCT間の基質特異性を調べることは、他生物においてASCTが酢酸以外に他の最終代謝産物の産生に関わるかが明確となり、その機能が分子進化学的な観点からどの程度保存されている情報も得られる。さらに、機能や構造が類似していると考えられてきた、1A型ASCTとSCOTの生化学的パラメータを比較する事によってお互いの性質を明確にした。

#### 「ASCT/SCS サイクル」の阻害剤探索。

「ASCT/SCS サイクル」阻害剤探索のために、

HTS系を構築した。まず、「ASCT/SCS サイクル」が生産するATP、酢酸とCoAのうち、どれを検出する方法がHTSに適しているかを検討した。阻害剤の探索には、当研究室が保有するライブラリーとMedicine for Malaria Ventureが無償で提供するPathogen Boxを用いた。HTSの一次スクリーニングとして、「ASCT/SCS サイクル」を各化合物終濃度10 $\mu$ M存在下で50%以上阻害するものをヒットとした。二次スクリーニングではヒット化合物のSCSのみに対する阻害活性を検討し、ASCT/SCS サイクルの標的酵素を明らかにした。ヒット化合物に関しては、ヒトSCOTに対しても阻害効果を検討し、選択性を同定した。

## **4. 研究成果**

微小環境で生育する寄生虫が有する嫌氣的ミトコンドリア(AM)、またはミトコンドリア様オルガネラ(MRO)ではTCA回路や酸化リン酸化が消失または不完全な状態であり、ATP生産はASCTとSCSで構成されるASCT/SCS サイクルによる基質レベルのリン酸化に依存する。さらに、ミトコンドリアとは異なり、AMやMROの主な最終代謝産物として酢酸が挙げられ、ATPと酢酸はASCT/SCS サイクルにより生産されると考えられている。このサイクルは寄生虫に留まらず、AMやMROを有する真核生物で広く保存され、低酸素環境に適応するための重要なエネルギー代謝の一つである。また、ATPの供給以外に、CoAの再利用や脂質合成に必要な酢酸を産生する高効率な経路である。

#### ASCTの分子構築と生理機能。

本研究ではTbASCTで構築した発現系を用いて、大腸菌発現用にコドン最適化したAsASCT、TvASCT及びヒトSCOTの発現・精製を試みた。AsASCT及びTvASCTの発現は認められなかったが、ヒトSCOTに関しては発現・精製する事が出来た。

#### ASCTの結晶化。

精製したTbASCTを用いて結晶化条件のスクリーニングを行った結果、JENA BioscienceのWizard Screen II-44条件で、針状結晶のクラスターを得た。さらに結晶化条件の沈殿剤種類、濃度、温度を最適化し、最終的にTbASCTの単結晶を得る事が出来、3.1Å分解能で構造を決定した。

ヒトSCOTに関しては、TbASCTと同様に結晶化条件のスクリーニングを行い、JENA BioscienceのWizard Screen I-28条件で単結晶を得、3.0Å分解能で構造を決定した。

TbASCT及びヒトSCOTの結晶構造を用いて比較解析を行った結果、TbASCTが4量体であるのに対しヒトSCOTは2量体であった(図2)。また、Blue-Native PAGEを行い、世界で初めてASCTの活性染色を開発し、TbASCTは溶液中でも4量体である事を明らかにした(図3)。

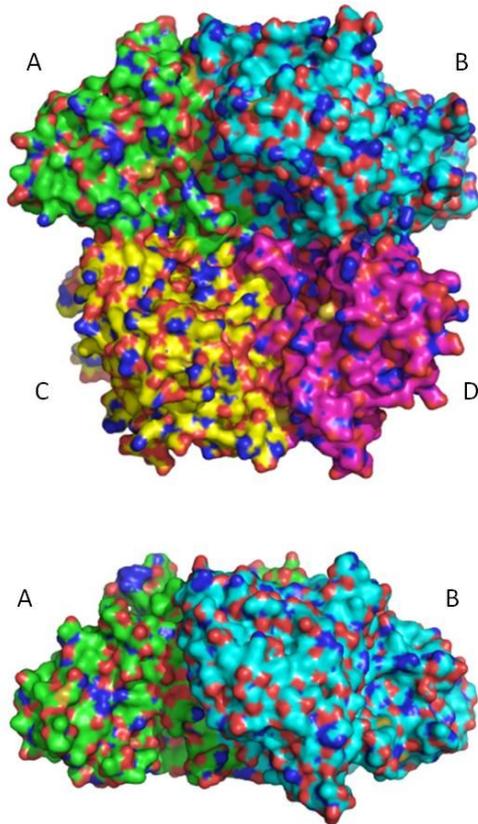


図 2 : TbASCT(上)は4分子(Chains A, B, C, D) ヒト SCOT(下)は2分子(Chains A, B) から構成されている事が結晶構造解析により明らかになった。

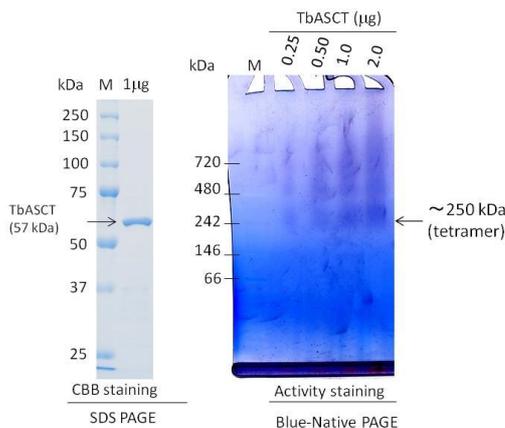


図 3 : TbASCT の SDS-PAGE (左)。Blue-Native PAGE 後の TbASCT の活性染色 (右)。

### in vitro「ASCT/SCS サイクル」の再構成実験。

これまで、ASCT の活性を検出するためには RI ラベルしたアセチル CoA を用いる方法しか報告されていない。しかし、この方法は ASCT 反応の生成物をカラムを用いて精製するため感度も低く、HTS に適応は出来ない。そのため、研究代表者はバクテリア由来の SCS と TbASCT を用いて ASCT/SCS サイクルの再構築実験を行い、新しい ASCT 活性測定法を開発した。その結果、ASCT/SCS サイクルの生成物

である酢酸、ATP、CoA のうち、イールマン試薬を用いた CoA の検出が、最もコストが低く、感度も高く、測定が容易であった。この系を用いて化学量論的解析を行うと、アセチル CoA とコハク酸 1 分子ずつから、酢酸、CoA と ATP が 1 分子生成されることを明らかにした。

### ASCT の活性部位変異体の解析。

結晶構造から基質結合部位と推測出来るポケットと酢酸：コハク酸が活性部位へアクセスするトンネルの存在が浮かび上がった。そこで、各部位の点変異を作成し解析を行った結果、ASCT/SCS サイクル活性には ASCT の E319 及び L377 が必須である事を明らかにした(図 4)。

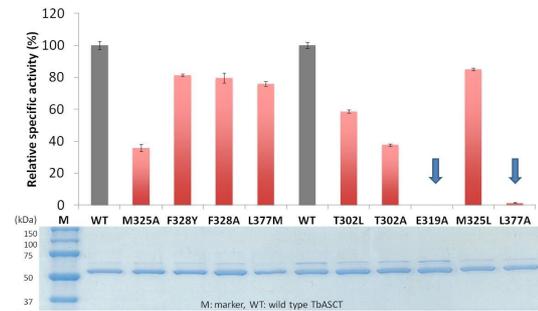


図 4 : TbASCT の活性部位周辺残基の変異体解析。活性が著しく低下する E319 及び L377 変異体を矢印で示してある。

### ASCT の生化学的解析。

本研究で開発した「ASCT/SCS サイクル」の再構成系を用いて TbASCT の生化学的解析を行った。その結果、最適温度は 30 で最適 pH は 7.2 であった。また、基質であるコハク酸とアセチル CoA に対する  $K_m$  と  $V_{max}$  が、順に 9.86 及び 0.047 mM と 233 及び 151  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  タンパク質であり、アセチル CoA に対し極めて親和性が高かった。

さらに、反応速度論解析も行い、ASCT は Ping-Pong Bi-Bi の反応機構を用い、アセチル CoA と反応した後にコハク酸と反応する事を明らかにした。

また、化学量論的視点から考えると、ASCT/SCS サイクルは 1 秒間当たり約 200 個の ATP 分子を産生し、酵母の ATP 合成酵素 ( $K_{cat} = 120 \text{ s}^{-1}$ ) より ATP 生産能力が高い事を明らかにした。

通常 ATP 合成酵素は酸素に依存するため、酸素濃度が低い宿主体内では ASCT/SCS サイクルが主な ATP 生産源である事が推測された。この結果は、フランスの共同研究者による ASCT または ATP 合成酵素 (Fo サブユニット) のノックダウン (RNAi) とオリゴマイシン (ATP 合成酵素の特異的阻害剤) を用いたケミカルバイオロジーの詳細な解析により確認された。

### 「ASCT/SCS サイクル」の阻害剤探索。

最後に、ASCT/SCS サイクルを用いた HTS 系を開発し、当研究室が保有する抗寄生虫薬や

エネルギー代謝経路阻害剤ライブラリーと MMV が無償で提供する Pathogen Box を用いてスクリーニングを行った。

スクリーニング系の Z'-factor は平均で 0.91 であり、極めて良い HTS 系であった。スクリーニングの結果、当研究室が保有するライブラリーと Pathogen Box からヒット化合物を合計 2 種類見出した。さらに、ヒット化合物が SCS と SCOT 共に活性を阻害しなかったことから、ASCT 特異的な阻害剤である事を明らかにした。見出した阻害剤と ASCT の共結晶化を試みたが、良質な共結晶は得られなかった。

本研究で見出したヒット化合物は *T. b. brucei* 及び *T. b. rhodesiense* の増殖を 0.6 及び 0.2  $\mu\text{M}$  ( $\text{IC}_{50}$ ) で阻害した事から、ASCT は有望な創薬標的である事が示された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

Discovery of New Class of Trypanocidal Compounds Targeting the Energy Metabolism of African Trypanosomes. Balogun, E.O., Inaoka, D.K., Shiba, T., Watanabe, Y., Moore, A., Harada, S. & Kita K. (2017) Open Forum Infect. Dis. 4, S121, 査読有, doi:10.1093/ofid/ofx163.154  
Glycerol kinase of African trypanosomes possesses an intrinsic phosphatase activity. Balogun, E.O., Inaoka, D.K., Shiba, T., Tokunaga, S.M., Tokumasu, F., Sakamoto, K., Kido, Y., Michels, P.A.M., Watanabe, Y., Harada, S. & Kita K. (2017) Biochim. Biophys. Acta (General Subjects) 1861, 2830-2842, 査読有, doi: 10.1016/j.bbagen.2017.07.028  
Expression, purification, and crystallization of type 1 isocitrate dehydrogenase from *Trypanosoma brucei brucei*. Wang, X., Inaoka, D.K. (Corresponding), Shiba T., Balogun, E.O., Allmann, S., Watanabe, Y., Boshart, M., Kita, K. & Harada, S. (2017) Protein Expr. Purif. 138, 56-62, 査読有, doi:10.1016/j.pep.2017.06.011  
*In silico*, *in vitro*, X-ray crystallography, and integrated strategies for discovering spermidine synthase inhibitors for Chagas disease. Yoshino, R., Yasuo, N., Hagiwara, Y., Ishida, T., Inaoka, D.K., Amano, Y., Tateishi, Y., Ohno, K., Namatame, I., Niimi, T., Orita, M., Kita, K., Akiyama, Y. & Sekijima, M. (2017) Sci. Rep. 7, 6666, 査読有,

doi: 10.1038/s41598-017-06411-9

(学会発表)(計 19 件)

Emmanuel O. Balogun, Daniel Ken Inaoka, Tomoo Shiba, Shigeharu Harada and Kiyoshi Kita, Glycerol kinase of African trypanosomes possess additional enzymatic activities that may aid to degrade potential toxic metabolites., 8th Meeting ACETOTRYP/GLYCONOV, 2018  
Kota Mochizuki, Daniel Ken Inaoka, Emmanuel O. Balogun, Tomoo Shiba, Shigeharu Harada, Frédéric Bringaud, Kenji Hirayama and Kiyoshi Kita, Biochemical characterization, site-directed mutagenesis of Acetate:succinate CoA transferase from *T. brucei* and *T. cruzi* and identification of inhibitors., 8th Meeting ACETOTRYP/GLYCONOV, 2018  
Daniel Ken Inaoka, Tomoo Shiba, Yasutoshi Kido, Hiroyuki Saimoto, Anthony L. Moore, Shigeharu Harada and Kiyoshi Kita, Insights into the quinol and dioxygen redox cycle of Trypanosome Alternative Oxidase., 8th Meeting ACETOTRYP/GLYCONOV, 2018  
城戸 康年、稲岡 健ダニエル、松崎 素道、志波 智生、原田 繁春、齋本 博之、山本 雅一、上村 尚人、北 潔、シアン 耐性呼吸を標的とした抗トリパノソーマ薬の臨床試験へむけて、第 87 回日本寄生虫学会大会, 2018  
望月 恒太、稲岡 健ダニエル、Balogun O. Emmanuel、志波 智生、原田 繁春、Frederic Bringaud、平山 謙二、北 潔、*Trypanosoma brucei* の Acetate:succinate CoA transferase/Succinyl-CoA synthetase サイクルの *in vitro* 再構築を用いた生化学的解析及び阻害剤探索、第 87 回日本寄生虫学会大会, 2018  
Kota Mochizuki, Daniel Ken Inaoka, Emmanuel O. Balogun, Tomoo Shiba, Shigeharu Harada, Frederic Bringaud, Kenji Hirayama and Kiyoshi Kita, Biochemical characterization of *in vitro* reconstituted Acetate:succinate CoA transferase/Succinyl-CoA synthetase cycle from *Trypanosoma brucei* and identification of inhibitors., The U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program the 48th Joint Conference on Parasitic Diseases, 2018  
早水 僚一、志波 智生、的場 一晃、奈良 武司、北 潔、稲岡 健ダニエル、原田 繁春、*Trypanosoma cruzi* のピリミジン代謝経路を構成するアスパラギン酸

トランスカルバモイラーゼの構造生物学的研究生体エネルギー, 生命科学系学会合同年次大会 ConBio2017, 2017 Xinying Wang, 稲岡 ダニエル健, Emmanuel O. Balogun, 浜野 文三江, Nicole Ziebart, Stefan Allmann, Michael Boshart, Frederic Bringaud, 徳舩 富由樹, 志波 智生, 原田 繁春, 北 潔, 多様な補酵素特異性を持つアフリカ型トリパノソーマのグリコソームに局在するイソクエン酸脱水素酵素, 生命科学系学会合同年次大会 ConBio2017, 2017 望月 恒太, 稲岡 ダニエル健, バロガン エマニュエル, 志波 智生, 原田 繁春, フレデリック プリンゴード, 平山 謙二, 北 潔, Trypanosoma 科原虫の Acetate:succinate CoA transferase /Succinyl-CoA Synthetase サイクルの生化学的解析, 生命科学系学会合同年次大会 ConBio2017, 2017 望月 恒太, 稲岡 健ダニエル, Balogun O. Emmanuel, 志波 智生, 原田 繁春, Frederic Bringaud, 平山 謙二, 北 潔, Trypanosoma 科原虫 Acetate:succinate CoA transferase/Succinyl-CoA synthetase サイクルの *in vitro* 再構築及び生化学的解析と阻害剤探索, 第 70 回日本寄生虫学会南日本支部大会・67 回日本衛生動物学会南日本支部大会, 2017 Xinying Wang, Daniel Ken Inaoka, Emmanuel O. Balogun, Fumie Hamano, Nicole Ziebart, Stefan Allmann, Michael Boshart, Frederic Bringaud, Fuyuki Tokumasu, Tomoo Shiba, Shigeharu Harada and Kiyoshi Kita, Glycosomal metabolic enzyme Isocitrate Dehydrogenase from *Trypanosoma brucei* shows dual coenzyme specificity., 第 77 回日本寄生虫学会東日本支部大会, 2017 Daniel Ken Inaoka, Balogun O. Emmanuel, Mochizuki Kota, Shigeo Suzuki, Shiba Tomoo, Frederic Bringaud, Shigeharu Harada and Kiyoshi Kita, トリパノソーマ科原虫のミトコンドリアで行われる ATP 産生と共役した酢酸発酵, ミトコンドリアサイエンスワークショップ 2017, 2017 城戸 康年, 稲岡 健ダニエル, 松崎 素道, 志波 智生, 原田 繁春, 齋本 博之, 山本 雅一, 北 潔, 抗トリパノソーマ薬アスコフラノンの臨床応用へむけた包括的薬剤開発, 第 86 回日本寄生虫学会大会, 2017 Xinying Wang, Daniel Ken Inaoka, Emmanuel O. Balogun, Nicole Ziebart, Stefan Allmann, Michael Boshart, Frederic Bringaud, 志波 智生, 原田 繁

春, 北 潔, Structural insights into NAD<sup>+</sup> and NADP<sup>+</sup> recognition from *Trypanosoma brucei* Glycosomal Isocitrate Dehydrogenase., 第 86 回日本寄生虫学会大会, 2017 稲岡 ダニエル健, バロガン エマニュエル, 鈴木 重雄, 志波 智生, Frederic Bringaud, 原田 繁春, 北 潔, トリパノソーマ科原虫の ATP 産生と共役した酢酸:コハク酸 CoA 転移酵素とサクシニル CoA 転移酵素の構造生物学的な特徴, 第 86 回日本寄生虫学会大会, 2017 Xinying Wang, Daniel Ken Inaoka, Emmanuel O. Balogun, Nicole Ziebart, Stefan Allmann, Michael Boshart, Frederic Bringaud, Tomoo Shiba, Shigeharu Harada and Kiyoshi Kita, Structural insights into mechanism of NADP<sup>+</sup>/NAD<sup>+</sup> recognition by *Trypanosoma brucei* glycosomal isocitrate dehydrogenase., 7th Meeting ACETOTRYP/GLYCONOV, 2017 Kota Mochizuki, Daniel Ken Inaoka, Frederic Bringaud, Kenji Hirayama and Kiyoshi Kita, Purification of *Leishmania mexicana* serine hydroxymethyltransferase and aldehyde dehydrogenase., 7th Meeting ACETOTRYP/GLYCONOV, 2017 Emmanuel O. Balogun, Daniel Ken Inaoka, Tomoo Shiba, Yoh-Ichi Watanabe, Anthony Moore, Shigeharu Harada and Kiyoshi Kita, Additional enzymatic activities of glycerol kinase from *Trypanosoma brucei*., 7th Meeting ACETOTRYP/GLYCONOV, 2017 稲岡 健ダニエル, Biochemical and structural characterization of mitochondrial ATP-coupled acetate:succinate CoA transferase family from Trypanosomal parasites., 第 89 回日本生化学会大会, 2016

〔その他〕

ホームページ等

[http://www.tmgh.nagasaki-u.ac.jp/study\\_at\\_tmgh/professors/inaoka\\_danielken?lang=en](http://www.tmgh.nagasaki-u.ac.jp/study_at_tmgh/professors/inaoka_danielken?lang=en)

[https://www.researchgate.net/profile/Daniel\\_Inaoka](https://www.researchgate.net/profile/Daniel_Inaoka)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

稲岡 健ダニエル (INAOKA, Ken Daniel)  
長崎大学・熱帯医学・グローバルヘルス  
研究科・助教  
研究者番号: 10623803