OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Natural quinones regulate mitochondrial DNA organization which helps resist mitochondrial dysfunction
Author(s)	Pal, Soumyadip
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/105277
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

Form 3

Abstract of Thesis

Name (Soumyadip Pal)	
Title	Natural quinones regulate mitochondrial DNA organization which helps resist mitochondrial dysfunction （キノン類を介した核様体の制御によるミトコンドリア活性維持の研究）

Mitochondria are unique double membrane bound organelles which are famously known as the ‘powerhouses’ of the cell since they are involved in the production of ATP which fuels various cellular processes. But this outlook on mitochondria is old. Recent studies have provided enough evidence to show that mitochondria are also critically involved in various cellular processes including calcium homeostasis, fatty acid metabolism, immune response, and others. Therefore, they are not just cellular energy producing centers but are crucial hubs for cellular metabolic and signaling processes. Thus, safeguarding their function is necessary to maintain cellular health. One of the factors which is responsible for maintaining mitochondrial function is the mitochondrial DNA (mtDNA). It codes for several proteins and RNAs which are essential for oxidative phosphorylation; a process that involves the reduction of cellular oxygen and ultimately leads to the production of ATP. However, these mtDNA molecules do not exist independently. They act within structures called nucleoids which are formed due to the complexing of mtDNA with several proteins. Nucleoids are dynamic in nature and are considered to be important for mitochondrial functional maintenance and quality control. Recent reports stated that abnormal morphology or distribution of nucleoids affect mitochondrial activity as well. However, the molecular details and the pathophysiological significance of nucleoids remain ambiguous.

I initiated this study from RNAi screening of mitochondrial disease-causing candidate genes on cultured mammalian cells. As a result, I identified a mitochondrial disease-causing gene, ADCK4/COQ8B, to be involved in nucleoid organization and maintenance of respiratory chain complexes. ADCK4 is involved in synthesizing ubiquinone; a metabolite that aids the oxidative phosphorylation process from within the mitochondrial inner membrane. Further analyses showed that ubiquinone synthesis, and not just ADCK4, was involved in maintaining nucleoid structures. Next, I showed that not only ubiquinone but also other naturally occurring quinones like menaquinone-4 and phylloquinone could support nucleoid formation. This indicated that quinones have a latent function in maintaining nucleoid structures which is independent of their traditional electron carrying and anti-oxidizing functions. The in vitro analyses also showed that quinones, together with mitochondria-specific phospholipid cardiolipin, mediate membrane association of mtDNA on the mitochondrial inner membrane. In addition, I also showed that this quinone-based nucleoid maintenance is critical for keeping the replication status of mtDNA molecules active. Finally, the in vivo analyses on murine models further supported that quinones protected against cardiotoxicity caused by the anti-cancer drug doxorubicin via regulating nucleoid structures. The enlargement nucleoids in murine cardiac tissue could be resisted specifically by quinone application prior to doxorubicin exposure. This, however, does not affect antiproliferative potency of the drug. Thus, my study showed the molecular details underlying the quinone-based regulation of nucleoids and its output in terms of mitochondrial activity and protecting cardiac function.

With the RNAi screen showing various genes involved in mitochondrial pathogenicity to have nucleoid abnormalities, these findings present a novel approach of mtDNA-targeted therapy, not only for mitochondrial diseases but also in more general pathological conditions like heart failure. And one

such potential therapeutic application is via regulating the morphology and dynamics of nucleoids using natural quinones. Since these molecules are easily available, they can be put to therapeutic use with immediate effect, curtailing the time needed as in cases of novel drug development.

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　Soumyadip Pal　）		
論文審査担当者	（職）	氏　名
	主 査　教授	石原 直忠
	副 査　教授	志賀　向子
	副 査　教授	昆　隆英

論文審査の結果の要旨

ミトコンドリアは真核細胞内にある二重膜で囲まれた細胞小器官であり、酸素呼吸により ATP を生成する重要な機能を担っている。一方で活性酸素種の主要な産生の場でもあり、様々な病態や加齢に伴う個体・組織機能低下にも関与している。ミトコンドリア内に存在する独自の DNA (mtDNA)は酸素呼吸に必須な機能を持っており、mtDNA あるいは核ゲノムにコードされたミトコンドリア関連遺伝子の変異は、酸素呼吸低下を伴う「ミトコンドリア病」と呼ばれる病態を引き起こすが、その根本的な治療法は未だに開発されていない。

哺乳類細胞では細胞あたり多数の環状の mtDNA が存在しており、複数コピーの mtDNA が DNA 結合タンパク質群と結合し折れたたまれることで「核様体」と呼ばれる構造体を形成している。生細胞観察を行うと、細胞内に数百以上の核様体構造が観察される。これまでにいくつかの核様体の構成成分が同定されているが、核様体の形成とその制御の分子機構、さらにその細胞及び個体における生理的・病理学的意義については十分には理解されていない。

本研究ではまず、核ゲノムにコードされたミトコンドリア病の原因候補遺伝子群を標的とした siRNA を用いて、ヒト HeLa 細胞の核様体構造形成に関わる遺伝子のスクリーニングを行い、その中から ADCK4/COQ8B 遺伝子を同定した。ADCK4 はユビキノン(コエンザイム Q10)の生合成に不可欠なミトコンドリア内膜タンパク質をコードしており、ADCK4 遺伝子を欠損した HeLa 細胞では核様体構造の変化、呼吸鎖の減少、呼吸機能の低下が見られた。しかしユビキノンの添加や ADCK4 遺伝子の再導入により、これらの表現型が回復することが確認された。さらに、哺乳類ミトコンドリアでは電子輸送機能を持たない天然キノン類を用いても、ADCK4 欠損細胞の核様体構造を回復できたこと、また他の抗酸化剤では同様の効果が認められなかったことから、キノンが既存の機能とは異なる作用で核様体に関与していることが示唆された。加えてマウスを用いた解析から、このキノンによる核様体の制御が、抗癌剤ドキソルビシンによって引き起こされる心毒性からの保護作用を持つことを示した。これらの結果は、核様体構造の変動がミトコンドリア病を始めとした呼吸機能低下を伴う疾患における新たな治療標的となりうることを示唆している。

これらの研究成果は、ミトコンドリアの関わる生命科学の研究に大きな進展をもたらすものであり、今後の研究分野の発展にも大きく寄与することが期待される。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。