

2026 年 7 月 21 日

酵素安定型 SLO 変異体「SLOT」による
次世代ミトコンドリア ATP 合成解析プラットフォーム「iMASC assay」の確立

～超微量試料におけるエネルギー代謝の定量的理解に新たな道を拓く～

愛知医科大学の丸山健太教授と藤川誠助教らの研究グループは、膜透過毒素 Streptolysin O (SLO) の分子設計に基づく酸素安定型変異体「SLOT (Streptolysin O Tolerant)」を開発し、これを基盤とする次世代ミトコンドリア ATP 合成解析プラットフォーム「iMASC (improved mitochondrial ATP synthesis capacity) assay」を確立しました。丸山教授らはこれまで、ATP が単なるエネルギー分子にとどまらず、生体のシグナルや生存にかかわる分子として機能する可能性に着目し、真菌感染時における痛覚過敏の誘導機構や、細菌性の敗血症における中枢神経系の代謝異常の解析を進めてきました。こうした背景のもと、本研究では ATP 産生そのものを高精度に測定するための基盤技術の開発に取り組みました。本研究は、これまで技術的制約により解析が困難であった超微量・複雑試料におけるミトコンドリア機能を定量化することを可能にし、細胞エネルギー代謝研究に新たな方法論を提示するものです。本成果は *iScience* (Volume 29, Issue 8, 116788, 2026) に掲載されました。

【本研究成果のポイント】

- 酸素安定型 SLO 変異体「SLOT」を開発
C530A 変異と N 末端欠失により、膜透過毒素 Streptolysin O (SLO) の酸化不安定性を克服し、還元処理不要で再現性の高い膜透過を実現しました。
- 新規 ATP 測定法「iMASC assay」を確立
温度制御型膜透過により、ミトコンドリア機能を保持したまま ATP 合成を定量測定できる実験系を構築しました。
- 極少数細胞からの高感度 ATP 測定を実現
10～20 細胞という微量試料からの ATP 産生検出を可能とし、測定感度とダイナミックレンジを大幅に向上させました。
- 多様な試料への適用性を実証
接着細胞に加え、浮遊細胞、全血、血小板、微小組織など幅広い試料に適用可能であることを示しました。
- 呼吸鎖機能の多次元解析を実現
単一試料への基質・阻害剤の逐次添加により、各呼吸鎖複合体の機能を分離解析可能としました。

PRESS RELEASE

I. 研究の背景

ATP (※1) は解糖系 (※2) およびミトコンドリア呼吸鎖 (※3) を介して産生される細胞の主要なエネルギー通貨であり、細胞内のほぼすべての生命活動を支える基本分子です。その産生量や動態は、細胞増殖、分化、ストレス応答など多様な生理機能と密接に結びついています。さらに近年では、ATP が細胞外へ放出されることでシグナル分子として作用し、神経伝達や免疫応答、炎症制御などに関与することが明らかになりつつあります。愛知医科大学の丸山健太教授らはこれまでに、真菌の一種 *Candida albicans* の感染において皮膚の角化細胞から放出された ATP が痛覚神経を活性化し、痛覚過敏を誘導することを報告しています (Maruyama et al, *iScience* 2018)。また、細菌性の敗血症モデルにおいては、炎症の程度とは必ずしも一致せず、脳内における ATP 産生の低下が致死と密接に関連することを明らかにしています (Sugisawa, Maruyama et al, *Cell Reports* 2022)。これらの知見は、ATP が単なるエネルギー供給分子にとどまらず、生体応答や病態形成に直接関与する重要な因子であることを示唆しています。一方で、このような ATP 産生の基盤となるミトコンドリア機能を定量的に評価する従来の手法には大きな制約がありました。従来法では、数千～数万細胞規模の試料を必要とするうえ、測定時間が短く再現性にも限界があり、さらに血液や微小組織のような複雑かつ少量の試料には適用できないという課題が存在していました。そのため、実際の生体内に近い条件でエネルギー代謝を定量的に評価することは困難でした。このような背景から、超微量試料にも適用可能で、かつ高い再現性を備えた ATP 測定技術の開発が強く求められていました。

II. 概要と成果

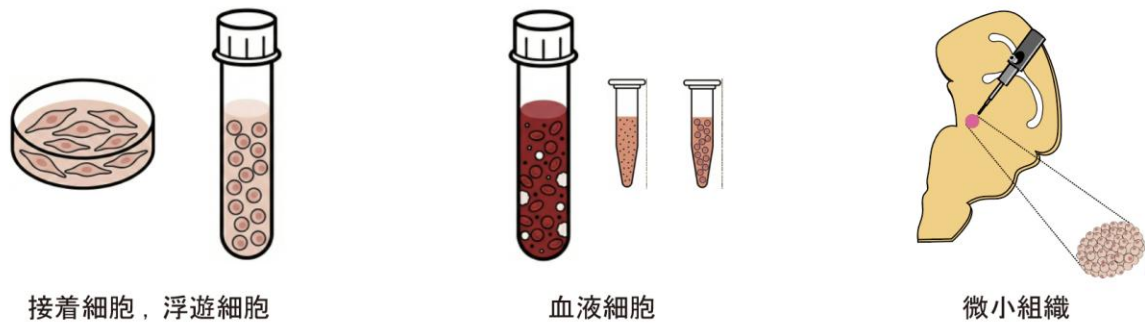
本研究では、細胞膜透過毒素である Streptolysin O (SLO) (※4) に対して分子工学的改変を施し、酸素環境下でも安定に機能する新規変異体「**SLOT (Streptolysin O Tolerant)**」(※5)を開発しました。SLOT は、酸化失活の原因となるシステイン残基の置換 (C530A) および非必須 N 末端領域の欠失により、従来の SLO が抱えていた酸素不安定性を克服し、還元処理を必要とせず長時間にわたり安定した膜透過活性を維持します。さらに本研究では、低温 (4°C) で SLOT を細胞膜に結合させた後、加温により孔形成を誘導する温度制御型プロトコルを導入しました。この手法により、細胞膜のみを選択的に透過させながら、ミトコンドリア膜の構造と機能を維持する条件を確立しました。この技術を基盤として、新たにミトコンドリア ATP 合成能を定量的に評価する手法「**iMASC (improved mitochondrial ATP synthesis capacity) assay**」(※6)を構築しました。iMASC assay は、以下の4つの特徴を有しています。

- ATP 合成の長時間連続測定 (1 時間以上) を実現
- わずか 10～20 細胞からの高感度 ATP 検出が可能
- 接着細胞、浮遊細胞、全血、血小板、微小組織など多様な試料に適用可能
- 基質および阻害剤の逐次添加により、単一試料内において呼吸鎖複合体 (※7) の機能を分離解析可能

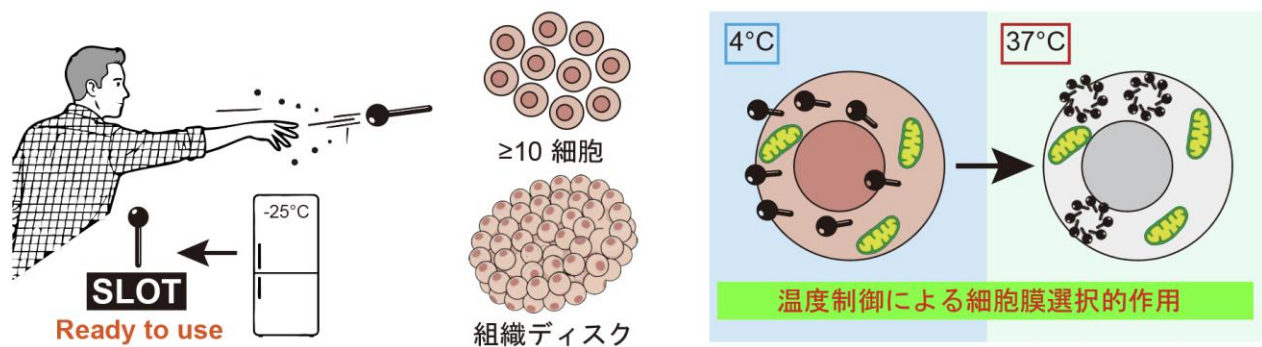
実際に、本手法を用いた解析により、マウス全血中においてグリセロール-3-リン酸依存的な ATP 産生の主要な担い手が血小板 (※8) であることを同定しました。また、脳の微小組織ディスク (※9) を用いた実験では、単一試料内で複数の呼吸鎖経路の寄与を連続的に解析できることを示し、従来法では非常に困難であった高解像度な代謝解析を実現しました (図 1)。

PRESS RELEASE

様々な形態の生物学的試料



超微量試料のSLOTによる処理



iMASC (improved mitochondrial ATP synthesis capacity) assay

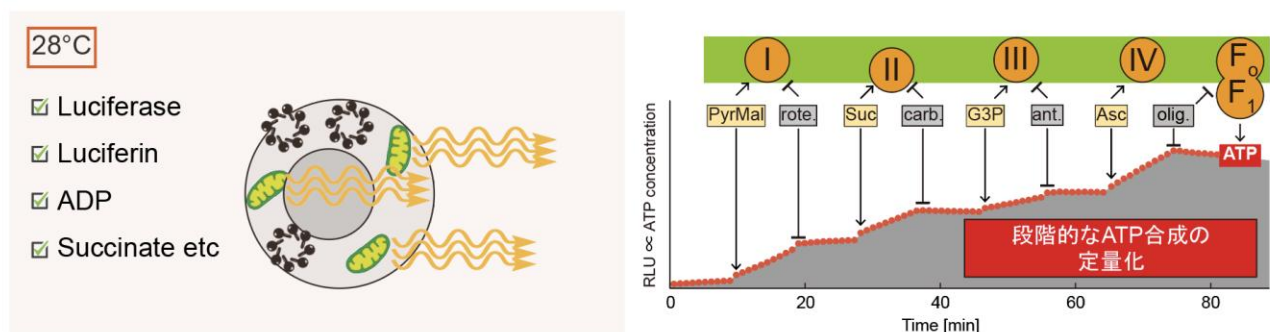


図1 ミトコンドリア ATP 合成能を定量的に評価する SLOT を用いた iMASC assay の概要

Ⅲ. 今後の展開

本研究により，ATP 産生の定量解析は従来の大量試料依存から脱却し，微量試料や希少細胞を対象とする高精度な次世代解析へと拡張されました。今後は，患者由来試料を用いた代謝評価や，神経・免疫疾患におけるエネルギー異常の解明など，幅広い分野への応用が期待されます。さらに，ATP 産生を指標とした新たな診断・治療戦略を支える基盤技術としての発展も見込まれます。

PRESS RELEASE

IV. 用語説明

- ※1 ATP (アデノシン三リン酸) : 細胞内でエネルギーを供給する主要分子。リン酸結合の加水分解によりエネルギーを放出し、さまざまな生命活動に利用される。
- ※2 解糖系 : 細胞質でグルコースを分解して ATP を産生する代謝経路。酸素を必要とせずエネルギーを供給できる。
- ※3 ミトコンドリア呼吸鎖 : ミトコンドリア内膜に存在する電子伝達系。電子の移動に伴ってプロトン勾配を形成し、そのエネルギーを利用して ATP が合成される。
- ※4 Streptolysin O (SLO) : 溶血性連鎖球菌が産生するコレステロール依存性の細胞膜孔形成毒素。細胞膜に孔を形成する性質を持つ。
- ※5 SLOT (Streptolysin O Tolerant) : 本研究で開発された SLO の改変型タンパク質。酸素環境下でも安定に機能し、還元処理なしで膜透過を可能とする。
- ※6 iMASC (improved mitochondrial ATP synthesis capacity) assay : SLOT を用いて細胞膜を選択的に透過させ、ミトコンドリア機能を保持したまま ATP 合成能を定量的に評価する手法。
- ※7 呼吸鎖複合体 : ミトコンドリア呼吸鎖を構成する酵素群。電子伝達反応を段階的に担う。
- ※8 血小板 : 血液中に存在する細胞成分で、止血機能を担う。ミトコンドリアを有し、ATP 産生能を持つ。
- ※9 微小組織ディスク : 微小な組織片を円盤状に切り出した試料。少量の組織で機能解析を行う際に用いられる。

V. 研究成果の公表

論文題名 : *Oxygen-stable Streptolysin O variant enables mitochondrial ATP synthesis analysis in minimal cells blood and tissues*

(酸素に対して安定なストレプトリジン O 変異体を用いることで、少数細胞、血液および組織におけるミトコンドリア ATP 合成解析が可能となる)

著者 : Makoto Fujikawa^{1,2}, Natsuhiko Yamada^{1,3}, Shuhei Yasuda¹, Tsutomu Tanabe¹ and Kenta Maruyama^{2*}

¹ 東京医科歯科大学 医学部, ² 愛知医科大学 医学部, ³ 国立成育医療研究センター, *責任著者

掲載誌 : *iScience*, Volume 29, Issue 8, 116788, 2026 (DOI: 10.1016/j.isci.2026.116788)

研究助成 : 本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業 (21K07337), 花王健康科学財団, 第一三共生命科学財団, および千里ライフサイエンス振興財団の支援を受けて行われました。

本件に関するお問い合わせ先 (研究内容)

愛知医科大学医学部 教授

昭和医科大学医学部 客員教授

丸山 健太

Tel : 0561-63-1161

E-mail : maruyama.kenta.653@mail.aichi-med-u.ac.jp

(報道に関すること)

愛知医科大学 広報室広報課

E-mail : kouhou@aichi-med-u.ac.jp