

E-CELL System を用いた ミトコンドリア・モデルの構築

政策・メディア研究科 柚木 克之
総合政策学部 金井 優子

Abstract

ミトコンドリアは真核細胞の一構成要素であるにもかかわらず独自の遺伝子と代謝経路を持っていることから、スケールの小さな細胞と見做すこともできる。そのため、これをモデル化することはミトコンドリア研究のための電子化実験環境を新たに提供することにとどまらず、全細胞モデル構築へ向けてのステップとなる。今回は呼吸鎖、TCA サイクル、代謝基質内膜輸送系、脂肪酸 β 酸化、タンパク質輸送体、およびミトコンドリア遺伝子発現系の6大系を統合した反応速度論的コンピュータ・モデルの構築およびシミュレーション実験を E-CELL シミュレーション・システムを用いて行った。

1 はじめに

本プロジェクトは平成10年秋より研究活動を開始し、ミトコンドリアの諸機能について反応速度論的モデル(以下、単に「モデル」と表記)の構築およびシミュレーションを行うことを目的とする。モデル構築にあたってはミトコンドリアの機能を大きく6つの系に分類した。その内訳は呼吸鎖、TCA サイクル、脂肪酸 β 酸化、代謝基質内膜輸送体、タンパク質輸送体、およびミトコンドリア遺伝子発現系である。平成11年度はTCA サイクル、代謝基質内膜輸送系、脂肪酸 β 酸化、タンパク質輸送体、およびミトコンドリア遺伝子発現系をモデリングし、これまでに構築済みの呼吸鎖モデル([35])と統合した。以下、今回新規に構築・統合したモデルの詳細とこれらを用いたシミュレーションについて述べる。

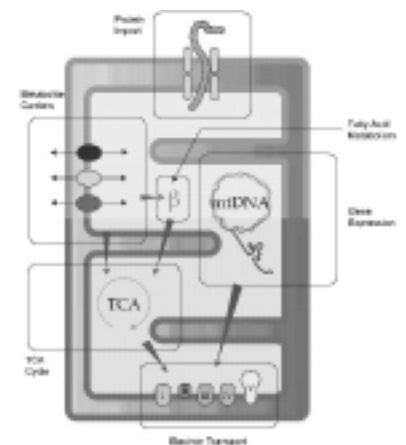


Figure 1. ミトコンドリア・モデルの全体構想

2 ミトコンドリア遺伝子発現系

2.1 モデル構築方針

ミトコンドリア遺伝子発現系のモデル構築にあたっては、以下 2 点を基本方針とした。

1. 特別なモジュールは使わない (Plain E-CELL)
2. 足りないものは原核生物から借りる

「1.」の特別なモジュールとは、[13] に報告されている遺伝子発現系モデル構築用のパッケージを指す。これを使わず、標準配布の E-CELL System と通常の反応速度論との組み合わせでミトコンドリア遺伝子発現系を記述することを試みた。

「2.」はミトコンドリア遺伝子発現系関連酵素に関する反応速度論的研究の成果が乏しいことに起因する措置である。欠落を原核生物のデータで補う根拠は、細胞内共生説によって説明されるミトコンドリアと原核生物との類似性である。

2.2 転写

[4] に示されている Q β ファージの RNA 複製の反応速度式を一部改変して用いた。転写と RNA 複製は核酸重合連鎖反応であるという共通点があるので、近似できることを期待している。

$$\frac{d[RNA]}{dt} = \frac{k_T[E_0][S_0]}{K_M + [S_0](1 + K_H[RNA])}$$

ただし

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{1}{k_T} = \sum_{j=2}^n \frac{1}{k_{FP_j}} + \frac{1}{k_{PR}} + \frac{1}{k_{D5'}} \left(1 + \frac{k_{A5'}}{k_{A3'}} \right) + \frac{1}{k_{A3'}[DNA]} \\ K_M = k_T \left(\frac{1 + K_{3'5'}}{k_{12}^*} + \frac{1}{k_{SB}^*} \right) \\ \frac{1}{k_{12}^*} = \frac{[S_0]}{k_{AS1}[S^1]} \left\{ 1 + \frac{(k_{FP2} + k_{DS2})k_{DS1}}{k_{FP2}k_{AS2}[S^2]} \right\} \\ K_{3'5'} = \frac{k_{D3'}k_{A5'}}{k_{A3'}k_{D5'}} + \frac{k_{D3'}}{k_{A3'}[DNA]} \\ \frac{1}{k_{SB}^*} = \sum_{j=2}^n \frac{k_{FP_j} + k_{DS_j}}{k_{FP_j}k_{AS_j}[S^j]} \\ K_H = \frac{k_{PI}}{k_{PR}} \frac{k_T}{k_{D5'}} \left\{ 1 + \frac{k_{A5'}}{k_{A3'}} \left(1 + \frac{k_{D3'}}{k_{12}^*[S_0]} \right) \right\} \end{array} \right.$$

2.3 転写産物加工

mtDNA の 1 次転写産物は polycistronic である。これを加工することにより生体内で有効に作用する rRNA、mRNA、tRNA が生成される。加工の第 1 段階は 1 次転写産物上の tRNA 部分が立体構造をとることから始まる。次に mtRNase P が tRNA 部分の立体構造を認識して tRNA の 5' 側を切断する。3' 側を処理する酵素は特定されていない。tRNA を切り出す反応を繰り返すことで 1 次転写産物は翻訳単位に細分される ([24][25][22])。その後、mRNA には poly (A)、tRNA には CCA 配列が付加される。この過程を表現するため、RNACleavageReactor(mtRNase P による RNA の切断、[3]) と AAtRNAReactor(tRNA のアミノアシル化、[1]) を用意した。RNA cleavage は *B. subtilis* の対応する酵素のデータを、tRNA アミノアシル化は *E. coli* のものを借用している。速度式は以下の通りである。

RNA 切断

$$\text{CleavageRate} = \frac{A[S] + B[S]^2}{C + D[S] + E[S]^2}$$

ただし

$$\begin{cases} A = k_2 k_3 k_4 (k_1 k_5 + k_{5b} k_6) \\ B = k_1 k_2 k_3 k_4 k_6 \\ C = k_2 k_3 k_4 (k_5 + k_{5b}) \\ D = k_4 (k_3 (k_1 k_5 + k_1 k_2 + k_{5b} k_6 + k_{1b} k_6) + k_1 k_2 k_5 + k_2 k_{5b} k_6) + k_2 k_3 (k_1 k_5 + k_{5b} k_6) \\ E = k_1 k_6 (k_2 k_4 + k_2 k_3 + k_3 k_4) \end{cases}$$

アミノアシル化

$$v = \frac{[E_{tot}]}{\frac{D_1}{C_{12}} \left[\frac{C_{21}}{C_{23}} \left(\frac{C_{32}}{C_{31}} + 1 \right) + 1 \right] + \frac{D_2}{C_{23}} \left(\frac{C_{32}}{C_{31}} + 1 \right) + \frac{D_3}{C_{31}}}$$

ただし

$$\begin{cases} D_1 = \frac{1+[A]}{K_1} \frac{1+[S]}{K_2} \frac{1+[R]}{K_R} \\ D_2 = \frac{1+[PPi]}{K_4} \frac{1+[R]}{K_5} \\ D_3 = \frac{1+[PPi]}{K_{PP}} \frac{1+[AMP]}{K_7} \\ C_{12} = \left(k_{3fa} + \frac{k_{3fb}[R]}{K_R} \right) \frac{[A][S]}{K_1 K_2} \\ C_{21} = \left(k_{3ra} + \frac{k_{3rb}[R]}{K_5} \right) \frac{[PPi]}{K_4} \\ C_{23} = \left(k_{6fa} + \frac{k_{6fb}[PPi]}{K_4} \right) \frac{[R]}{K_5} \\ C_{32} = \left(k_{6ra} + \frac{k_{6rb}[PPi]}{K_{PP}} \right) \frac{[AMP]}{K_7} \\ C_{31} = k_8 \end{cases}$$

2.4 翻訳

ポリペプチドにアミノ酸 1 分子を加えて伸長する反応は以下の反応速度式で表される ([26][32])。 *E. coli* の酵素データから借用した。

$$v = \frac{k_{cat}[S]([E_{tot}] - [P])}{K_m + [S]}$$

よって、残基数 = length のポリペプチドを 1 分子生成する速度は上の式を残基数で割って、

$$v = \frac{k_{cat}[S]([E_{tot}] - [P])}{K_m + [S]} \frac{1}{\text{length}}$$

となる。

2.5 モデルの全体像

前述の転写、1 次転写産物加工、翻訳についての反応をまとめたものが以下のミトコンドリア遺伝子発現系モデル全体図である。

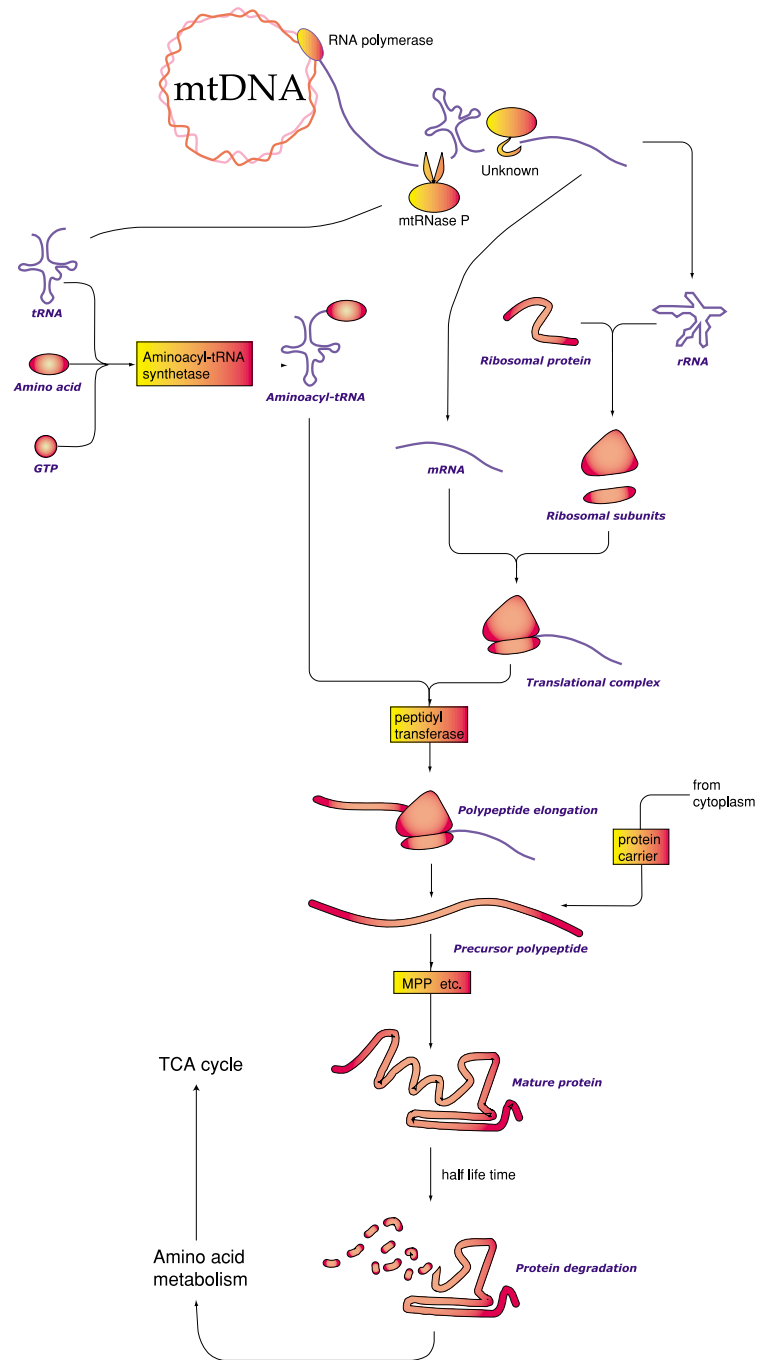


Figure 2. ミトコンドリア遺伝子発現系モデル

2.6 他の系との融合にあたって

産生されたポリペプチド（その全てが電子伝達系構成酵素群のサブユニットである）を核由来のポリペプチドと会合させて酵素複合体を形成する反応と、タンパク質の自然分解、さらにタンパク質分解で生じたアミノ酸の代謝を導入することで他の代謝系との緊密な融合が実現する。

3 脂肪酸 β 酸化

ミトコンドリアが取り込む様々な代謝基質の中でも、脂肪酸はピルビン酸と並んで代表的な代謝基質である。前者は脂肪酸 β 酸化を構成する一連の酵素群によって、後者は Pyruvate dehydrogenase によって Acetyl-CoA にまで分解され、TCA サイクルに供給される。

脂肪酸 β 酸化の反応経路を Figure 3 に示した。細胞質の Palmitoyl-CoA (炭素原子鎖長 = 16 の Acyl-CoA) は CPT I、II、カルニチン/アシルカルニチン輸送体の 3 酵素によってマトリックス内に輸送される。マトリックス内に入った Palmitoyl-CoA は 4 酵素からなるサイクルを 7 周する。Acyl-CoA がサイクルを 1 周することによる現象を以下にまとめた。

1. Acetyl-CoA が 1 分子 (7 周目は 2 分子) 生産される
2. Acyl-CoA の炭素原子鎖長が 2 原子ずつ短くなる
3. Ubiquinone が 1 分子還元されることで呼吸鎖に電子が供給される

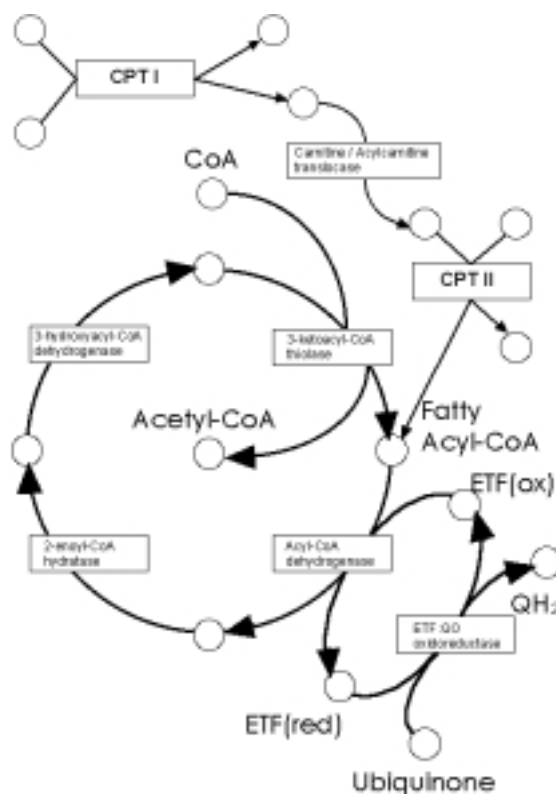


Figure 3. 脂肪酸 β 酸化の反応経路図

経路を構成する各酵素の反応速度論的特質について調査した結果を Table 1 に示す。

Table 1. 脂肪酸 β 酸化を構成する酵素群と反応機構
(ただし、ETF: Electron Transfer Flavoprotein、ox: 酸化型、red: 還元型、IMS: 膜間腔、MAT: マトリックス)

酵素	反応	反応機構	採取源
Acyl-CoA dehydrogenase	$\text{Acyl-CoA} + \text{ETF}_{ox} \rightarrow \text{Enoyl-CoA} + \text{ETF}_{red}$	Ordered Bi Bi ([27])	?
Enoyl-CoA hydratase	$\text{Enoyl-CoA} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{-hydroxyacyl-CoA}$	Uni Uni Reversible ([34])	Bovine Liver
3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase	$3\text{-hydroxyacyl-CoA} + \text{NAD}^+ \rightarrow 3\text{-oxoacyl-CoA} + \text{NADH}$	Michaelis-Menten ([34])	Pig Heart
3-ketoacyl-CoA thiolase	$3\text{-oxoacyl-CoA} + \text{CoA} \rightarrow \text{Acyl-CoA} + \text{Acetyl-CoA}$	Ping-Pong Bi Bi ([21])	Rat Liver Mitochondria
ETF-Q: oxidoreductase	$\text{ETF}_{red} + \text{Q} \rightarrow \text{ETF}_{ox} + \text{QH}_2$	Ping-Pong Bi Bi ([5],[6])	Pig Liver Mitochondria
CPT I	$\text{Hexadecanoyl-CoA} + \text{Carnitine} \rightarrow \text{CoA} + \text{Palmitoylcarnitine}$	Rapid Equilibrium Random Bi Bi ([23])	Bovine Liver Mitochondria
CPT II	$\text{CoA} + \text{Palmitoylcarnitine} \rightarrow \text{Palmitoyl-CoA}(\text{Acyl-CoA}) + \text{Carnitine}$	Ordered Bi Bi ([19])	Rat Liver Mitochondria
Carnitine Carrier	$\text{Palmitoylcarnitine}_{IMS} + \text{Carnitine}_{MAT} \rightarrow \text{Palmitoylcarnitine}_{MAT} + \text{Carnitine}_{IMS}$	Ping-Pong Bi Bi ([18])	Rat Liver Mitochondria

4 タンパク質輸送

mtDNA には呼吸鎖を構成するポリペプチドしかコードされていない。そのためミトコンドリアが機能を保持するには、TCA サイクルなど他の主要経路を触媒するタンパク質が供給される必要がある。

カリフォルニア大学サンディエゴ校の Roise は [28] において、細胞質からミトコンドリアへのポリペプチド運搬速度を論じている。ポリペプチドは以下のような図式でミトコンドリア内に運び込まれる。

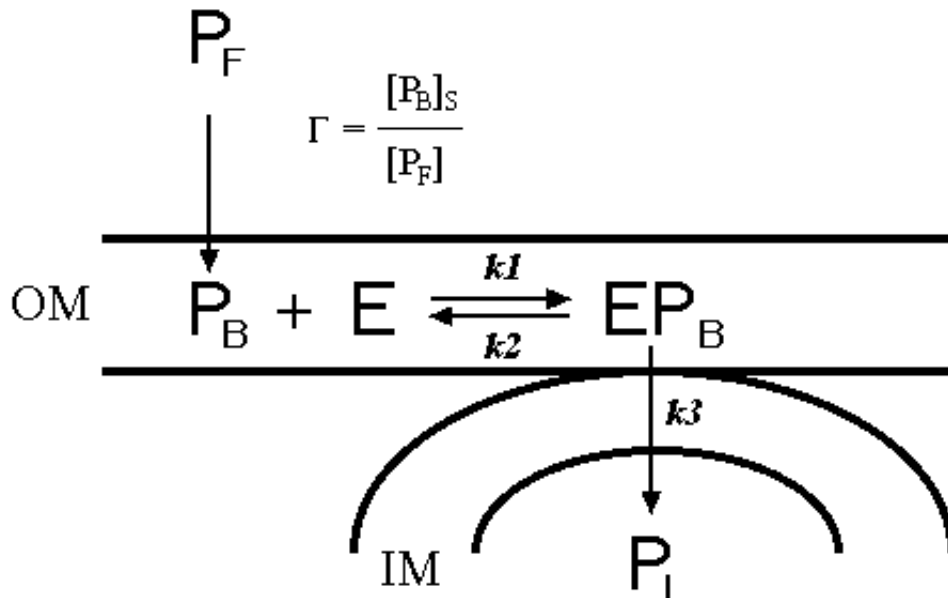


Figure 4. 細胞質からミトコンドリア内部へのポリペプチド輸送 ([28])

[28] では数種類の式が吟味されているが、それらを変形するとポリペプチド輸送がミカエリス・メンテン式に従うことが示される。

5 代謝基質内膜輸送系

ミトコンドリアは内膜に存在する輸送タンパク質によって代謝基質(主にTCAサイクルの構成分子)を取り入れる。現在のところ、下のTable 2に示した5種類の輸送体については反応機構の調査が完了している。Oxoglutarate Carrier と Asp/Glu Carrier はいわゆるリンゴ酸-アスパラギン酸シャトルを形成することでも知られている。本モデルでもTCAサイクル・モデルとこれらの輸送体を組み合わせることで同シャトルを実現した。Carnitine Carrier は脂肪酸β酸化の項目で紹介したものと同じである。

Table 2. 代謝基質内膜輸送体と反応機構
(ただし、IMS: 膜間腔、MAT: マトリックス)

酵素	反応	反応機構	採取源
Oxoglutarate Carrier (OGC)	$Oxoglutarate_{IMS} + Malate_{MAT} \rightarrow Oxoglutarate_{MAT} + Malate_{IMS}$	Rapid Equilibrium Random Bi Bi ([16][31])	Bovine Heart Mitochondria ([16]) Rat Heart Mitochondria ([31])
Dicarboxylate Carrier (DIC)	$Malate_{IMS} + Pi_{MAT} \rightarrow Malate_{MAT} + Pi_{IMS}$	Rapid Equilibrium Random Bi Bi ([17])	Rat Liver Mitochondria
Tricarboxylate Carrier (CIC)	$Citrate_{IMS} + Malate_{MAT} \rightarrow Citrate_{MAT} + Malate_{IMS}$	Rapid Equilibrium Random Bi Bi ([7])	Rat Liver Mitochondria
Asp/Glu Carrier (AGC)	$Asp_{IMS} + Glu_{MAT} \rightarrow Asp_{MAT} + Glu_{IMS}$	Rapid Equilibrium Random Bi Bi ([30])	Rat Heart Mitochondria
Carnitine Carrier (CAC)	$Palmitoylcarnitine_{IMS} + Carnitine_{MAT} \rightarrow Palmitoylcarnitine_{MAT} + Carnitine_{IMS}$	Ping-Pong Bi Bi ([18])	Rat Liver Mitochondria

Dead-end 複合体形成のない Rapid Equilibrium Random Bi Bi 反応の速度式は以下ようになる ([29], pp.309)。

$$v = \frac{\frac{[A][B]}{\alpha K_{iA}K_{iB}} k_{cat}^f [E]_{total} - \frac{[P][Q]}{\beta K_{iP}K_{iQ}} k_{cat}^r [E]_{total}}{1 + \frac{[A]}{K_{iA}} + \frac{[B]}{K_{iB}} + \frac{[P]}{K_{iP}} + \frac{[Q]}{K_{iQ}} + \frac{[A][B]}{\alpha K_{iA}K_{iB}} + \frac{[P][Q]}{\beta K_{iP}K_{iQ}} + \frac{[B][Q]}{\gamma K_{iB}K_{iQ}} + \frac{[A][P]}{\delta K_{iA}K_{iP}}}$$

6 TCA サイクル・モデルの発展 ~ 哺乳類を念頭に ~

6.1 Wright モデルの問題点

モンタナ大学の Wright らはアメーバ *Dictyostelium discoideum* ミトコンドリアの TCA サイクルを反応速度論的にモデリング、シミュレーションしている ([33])。

しかしモデルの内容を精査するにつれて、以下の重要な酵素が省かれていることを見出すに至った。

1. Succinyl-CoA synthase
2. Aconitase
3. Pyruvate carboxylase

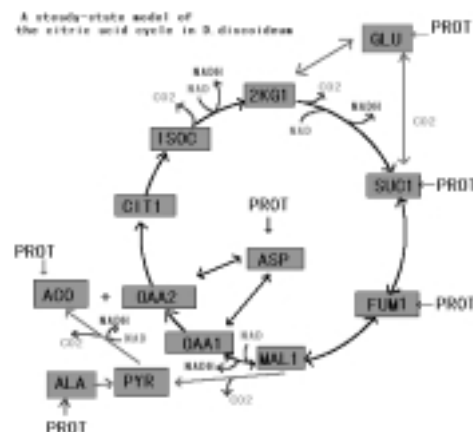


Figure 5. Wright らによる TCA サイクル・モデル

上の2つはTCAサイクルを構成する8種の酵素に含まれており、Pyruvate carboxylase はピルビン酸からTCAサイクル(Oxaloacetate)への流入路の1つである。[33]のモデルには Oxoglutarate Succinate という経路があるが、本来この経路は間に Succinyl-CoA を挟んで Oxoglutarate Succinyl-CoA Succinate となるべきものである。ここで省かれた Succinyl-CoA synthetase (Succinyl-CoA Succinate を触媒) は GDP GTP を触媒するため、無視するのは不適當である。

これらの無視された酵素をモデルに組み込んだので、TCAサイクルモデルの部分だけでもWrightモデルを凌駕するものが構築されつつある。

6.2 進行状況

当初は[33]を参考にアメーバ *Dictyostelium discoideum* のデータを用いてTCAサイクルの部分をもデリングしたが、将来におけるミトコンドリア・モデルの病理学的応用を勘案し、哺乳類のものとの入れ替えを漸次進めている。

Table 3. TCA サイクル関連酵素群と反応機構

酵素	反応	反応機構	採取源
Pyruvate dehydrogenase	$\text{Pyruvate} + \text{NAD}^+ + \text{CoA} \longrightarrow \text{Acetyl-CoA} + \text{NADH} + \text{CO}_2$	See [14]	Pig Heart Mitochondria
Pyruvate carboxylase	$\text{Pyruvate} + \text{ATP} + \text{CO}_2 \longrightarrow \text{Oxaloacetate} + \text{ADP} + \text{P}_i$	See [2]	Chicken Liver
Malic enzyme	$\text{Malate} + \text{NAD(P)}^+ \longrightarrow \text{Pyruvate} + \text{NAD(P)H} + \text{CO}_2$	Ordered Bi Bi ([10])	Rabbit Heart Mitochondria
Transaminase (Asp/Glu)	$\text{Asp} + \text{Oxoglutarate} \longrightarrow \text{Oxaloacetate} + \text{Glu}$	Ping-Pong Bi Bi ([15])	Pig Heart
Citrate synthase	$\text{Oxaloacetate} + \text{Acetyl-CoA} \longrightarrow \text{Citrate} + \text{CoA}$	Random Bi Bi ([20])	Rat Kidney, Rat Brain([20])
Aconitase	$\text{Citrate} \longrightarrow \text{Isocitrate}$	Uni Uni Reversible ([12])	Rat Liver Mitochondria
Isocitrate dehydrogenase	$\text{Isocitrate} + \text{NAD(P)}^+ \longrightarrow \text{Oxoglutarate} + \text{NAD(P)H}$	Now Searching	
Oxoglutarate dehydrogenase	$\text{Oxoglutarate} + \text{NAD}^+ + \text{CoA} \longrightarrow \text{Succinyl-CoA} + \text{NADH} + \text{CO}_2$	See [14]	Pig Heart Mitochondria
Succinyl-CoA synthetase	$\text{Succinyl-CoA} + \text{GDP} + \text{P}_i \longrightarrow \text{Succinate} + \text{CoA} + \text{GTP}$	See [8]	Pig Heart
Succinate dehydrogenase	$\text{Succinate} + \text{Q} \longrightarrow \text{Fumarate} + \text{QH}_2$	Ping-Pong Bi Bi ([11])	Bovine Heart Mitochondria
Fumarase	$\text{Fumarate} \longrightarrow \text{Malate}$	Uni Uni Reversible	
Malate dehydrogenase	$\text{Malate} + \text{NAD}^+ \longrightarrow \text{Oxaloacetate} + \text{NADH}$	Ordered Bi Bi ([9])	Human Liver Cytosol

7 シミュレーション

7.1 シミュレーション実験条件

今期新規に構築した各経路のモデルを、以前に構築した呼吸鎖モデルと合流させ、統合ミトコンドリア・モデルとした。2000年1月末現在、このモデルの定常状態は得られていないが、モデルの振る舞いを観察するための試験的なシミュレーションを行った。ミトコンドリアが取り込む代表的な代謝基質である脂肪酸とピルビン酸を投与した際、最終産物である ATP の分子数がどのように推移するかを観察すべく、条件を以下の通りに設定した。

1. 操作を加えずに 50 秒の時点まで経過させる。
2. 50 秒時点でミトコンドリア外の以下の物質を操作 (括弧内は 50 秒時点の分子数)。
 - ピルビン酸 +200000 分子 (10633)
 - Palmitoyl-CoA +200000 分子 (477802)
 - ADP +200000 分子 (10275)
 - P_i +300000 分子 (186534)
 - ATP -200000 分子 (339725)
3. 以降、200 秒時点まで経過させて終了。

ピルビン酸と Palmitoyl-CoA の投入は代謝基質の追加であり、ATP、ADP、 P_i への操作は ATP 増産を予測しての基質投入・産物除去である。

7.2 結果および考察

上記のシミュレーションにおけるミトコンドリア内 ATP、ADP、 P_i の経時的分子数推移を Figure 6 に示す。Figure 6 を見る限り、50 秒時点での操作はマトリックス内 ATP、ADP、 P_i の分子数を変化させてはいるものの、ATP、ADP への影響は限定的なものにとどまっている。操作に対する最も顕著な影響が見られる P_i でさえも 200 秒経過後にはほぼ操作前の水準に戻っている。この結果を考察するに、代謝基質の投入によるマトリックス内 ATP 増加分が膜輸送体の活性上昇でミトコンドリア外に運び出され、結果として ATP、ADP、 P_i の水準が保たれたことが考えられる。

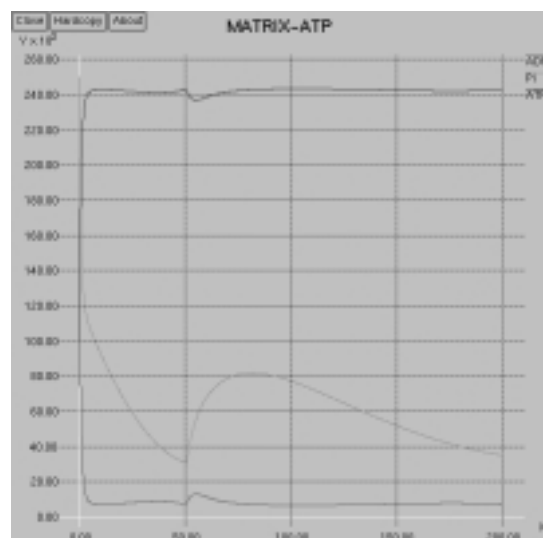


Figure 6. ATP、ADP、 P_i の経時的分子数推移

8 今後の展望

これまでの結果を総合すると、当初対象とした反応経路をほぼ網羅するところまで到達したと言える。よって、次にすべきことはモデルを精密化しミトコンドリア研究のための電子化実験環境に上げることである。系ごとの課題を次の表に整理した。

Table 4. 系ごとの課題一覧

系	課題
呼吸鎖	ATP synthase の反応速度式をプロトン駆動力依存型に
TCA サイクル	哺乳類のデータへの置き換え (Table 3 参照)
脂肪酸 β 酸化	Acyl-CoA dehydrogenase が 4 種類存在することへの対応
代謝基質内膜輸送系	プロトン駆動力依存型輸送体の追加 (ATP/ADP、 P_i 、ピルビン酸)

上表の課題を全て消化すれば、モデルが含む反応経路の規模が確定する。これと前後して、反応速度論的パラメータ 1 つ 1 つに実験値であるか推測値であるかの注釈を付す予定である。定常状態達成を目指しての試行錯誤がこれに続く。また、定常状態達成後にミトコンドリア・モデルを用いて行う応用研究テーマの探索に着手した。

謝辞

本研究を進めるにあたり、岩田具治氏には E-CELL Manager 全般についてお世話になった。中山洋一氏からはモデルの構築方針について、橋本健太氏、三由文彦氏からは遺伝子発現系のモデル構築に関してそれぞれ有益な助言を頂いた。松崎由理氏、松嶋亮氏からはミトコンドリアのモデル化に挑戦することへの暖かい激励を頂いた。また、山下智也氏からは著者(柚木)の発病に伴う本稿 \times 切の猶予にあたって格別のご配慮を頂いた。最後に、富田勝教授には本研究を手がけるきっかけをはじめとする多くのチャンスや動機を与えて頂いたほか、示唆に富むご質問を受けた。これらの方々には心よりの感謝を表したい(順不同)。

関連図書

- [1] Airas, R.K., Analysis of the isoleucyl-tRNA synthetase reaction by total rate equations : Magnesium and spermidine in the tRNA kinetics, *Eur. J. Biochem.* 210(2):443-50, 1992.
(tRNA アミノアシル化の反応速度式)
- [2] Barden, R.E., Fung, C.H., Utter, M.F. and Scrutton, M.C., Pyruvate carboxylase from chicken liver, *J. Biol. Chem.* 247(4):1323-33, 1972.
(Pyruvate carboxylase の反応速度式)
- [3] Beebe, J.A. and Fierke, C.A., A Kinetic Mechanism for Cleavage of Precursor tRNA^{Asp} Catalyzed by the RNA Component of *Bacillus subtilis* Ribonuclease P, *Biochemistry* 33(34):10294-304, 1994.
(RNA cleavage の反応速度式)
- [4] Biebricher, C.K., Eigen, M. and Gardiner Jr., W.C., Kinetics of RNA Replication, *Biochemistry* 22(10):2544-59, 1983.
(Q β ファージの RNA 複製反応速度式)
- [5] Beckmann, J.D. and Frerman, F.E., Electron-Transfer Flavoprotein-Ubiquinone Oxidoreductase from Pig Liver: Purification and Molecular, Redox, and Catalytic Properties, *Biochemistry* 24(15):3913-21, 1985.
(ETF-Q:oxidoreductase の反応機構)
- [6] Beckmann, J.D. and Frerman, F.E., Reaction of Electron-Transfer Flavoprotein-Ubiquinone Oxidoreductase, *Biochemistry* 24(15):3922-5, 1985.
(ETF-Q:oxidoreductase の反応機構)
- [7] Bisaccia, F., De Palma, A., Dierks, T., Krämer, R. and Palmieri, F., Reaction mechanism of the reconstituted tricarboxylate carrier from rat liver mitochondria, *Biochim. Biophys. Acta* 1142(1-2):139-45, 1993.
(Tricarboxylate Carrier の反応機構)
- [8] Cha, S. and Parks Jr., R.E., Succinic Thiokinase II. Kinetic studies: initial velocity, product inhibition, and effect of arsenate, *J. Biol. Chem.* 239(6):1968-77, 1964.
(Succinyl-CoA synthetase の反応速度式)
- [9] Crow, K.E., Braggins, T.J. and Hardman, M.J., Human liver malate dehydrogenase: purification, kinetic properties, and role in ethanol metabolism, *Arch. Biochem. Biophys.* 225(2):621-9, 1983.
(Malate dehydrogenase の反応機構)
- [10] Davisson, V.J., Schulz, A.R., The purification and steady-state kinetic behaviour of rabbit heart mitochondrial NAD(P)⁺ malic enzyme, *Biochem. J.* 225(2):335-42, 1985.
(Malic enzyme の反応機構)

- [11] Grivennikova, V.G., Gavrikova, E.V., Timoshin, A.A. and Vinogradov, A.D., Fumarate reductase activity of bovine heart succinate-ubiquinone reductase. New assay system and overall properties of the reaction, *Biochim. Biophys. Acta* 1140(3):282-92, 1993.
(Succinate dehydrogenase の反応機構)
- [12] Guarriero-Bobyleva, V., Masini, A., Volpi-Becchi, M.A. and Cennamo, C., Kinetic studies of cytoplasmic and mitochondrial aconitase hydratases from rat liver, *Ital. J. Biochem.* 27(5):287-99, 1978.
(Aconitase の反応機構)
- [13] 橋本健太, E-CELL System を用いた遺伝子発現系のモデリングとシミュレーション, 生命と情報 (富田研究室学生論文集) 5:188-202,1998.
(遺伝子発現系モデル構築用モジュール)
- [14] Hamada, M., Koike, K., Kakaula, Y., Hiraoka, T., Koike, M. and Hashimoto, T., A Kinetic Study of the α -Keto Acid Dehydrogenase Complexes from Pig Heart Mitochondria, *J. Biochem.(Tokyo)* 77(5):1047-56,1975.
(Pyruvate dehydrogenase complex および Oxoglutarate dehydrogenase complex の反応速度式)
- [15] Henson, C.P. and Cleland, W.W., Kinetic studies of glutamic oxaloacetic transaminase isozymes, *Biochemistry* 3(3):338-45, 1964.
(Transaminase の反応機構)
- [16] Indiveri, C., Dierks, T., Krämer, R. and Palmieri, F., Reaction mechanism of the reconstituted oxoglutarate carrier from bovine heart mitochondria, *Eur. J. Biochem.* 198(2):339-47, 1991.
(Oxoglutarate Carrier の反応機構)
- [17] Indiveri, C., Prezioso, G., Dierks, T., Krämer, R. and Palmieri, F., Kinetic characterization of the reconstituted dicarboxylate carrier from mitochondria: a four-binding-site sequential transport system, *Biochim. Biophys. Acta* 1143(3):310-8, 1993.
(Dicarboxylate Carrier の反応機構)
- [18] Indiveri, C., Tonazzi, A. and Palmieri, F., The reconstituted carnitine carrier from rat liver mitochondria: evidence for a transport mechanism different from that of the other mitochondrial translocators, *Biochim. Biophys. Acta* 1189(1):65-73, 1994.
(カルニチン/アシルカルニチン輸送体の反応機構)
- [19] Mann, W.R., Yan, B., Dragland, C.J. and Bell, P.A., Kinetic, circular dichroism and fluorescence studies on heterologously expressed carnitine palmitoyltransferase II, *J. Enzyme. Inhib.* 9(4):303-8, 1995.
(CPT II の反応機構)
- [20] Matsuoka, Y. and Srere, P.A., Kinetic studies of citrate synthase from rat kidney and rat brain, *J. Biol. Chem.* 248(33):8022-30, 1973.
(Citrate synthase の反応機構)
- [21] Miyazawa, S., Furuta, S., Osumi, T., Hashimoto, T. and Ui, N., Properties of peroxisomal 3-ketoacyl-coA thiolase from rat liver, *J. Biochem.(Tokyo)* 90(2):511-9, 1981.
(3-ketoacyl-CoA thiolase の反応機構)

- [22] Montoya, J., Ojala, D. and Attardi, G., Distinctive features of the 5'-terminal sequences of the human mitochondrial mRNAs, *Nature* 290(5806):465-70, 1981
(1次転写産物の加工)
- [23] Ramsay, R.R., Derrick, J.P., Friend, A.S. and Tubbs, P.K., Purification and properties of the soluble carnitine palmitoyltransferase from bovine liver mitochondria, *Biochem. J.* 244(2):271-8, 1987.
(CPT Iの反応機構)
- [24] Rossmannith, W., Tullo, A., Potuschak, T., Karwan, R. and Sbisà, Human Mitochondrial tRNA Processing, *J. Biol. Chem.* 270(21):12885-91, 1995.
(1次転写産物の加工)
- [25] Ojala, D., Montoya, J. and Attardi, G., tRNA punctuation model of RNA processing in human mitochondria, *Nature* 290(5806):470-4, 1981.
(1次転写産物の加工)
- [26] Pape, T., Wintermeyer, W. and Rodnina, M.V., Complete kinetic mechanism of elongation factor Tu-dependent binding of aminoacyl-tRNA to the A site of the *E. coli* ribosome, *EMBO J.* 17(24):7490-7, 1998.
(リボソームにおけるポリペプチド伸長の反応機構)
- [27] Reinsch, J., Rojas, C. and McFarland, J.T., Kinetic Methods for the Study of the Enzyme Systems of β -Oxidation, *Arch. Biochem. Biophys.* 227(1):21-30, 1983.
(Acyl-CoA dehydrogenaseの反応機構)
- [28] Roise, D., Interaction of a synthetic mitochondrial presequence with isolated yeast mitochondria: Mechanism of binding and kinetics of import, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89(2):608-12, 1992.
(ポリペプチド輸送の反応速度論)
- [29] Segel, I.W. *Enzyme kinetics*, John Wiley & Sons, Inc., 1975.
(反応速度式)
- [30] Sluse, F.E., Evens, A., Dierks, T., Duyckaerts, C., Sluse-Goffart, C.M. and Krämer, R., Kinetic study of the aspartate / glutamate carrier in intact rat heart mitochondria and comparison with a reconstituted system, *Biochim. Biophys. Acta* 1058(3):329-38, 1991.
(Asp/Glu Carrierの反応機構)
- [31] Sluse, F.E., Ranson, M. and Liébecq, C., Mechanism of the exchanges catalysed by the oxoglutarate translocator of rat-heart mitochondria. Kinetics of the exchange reactions between 2-oxoglutarate, malate and malonate, *Eur. J. Biochem.* 25(2):207-17, 1972.
(Oxoglutarate Carrierの反応機構)
- [32] Synetos, D. and Coutsogeorgopoulos, C., Studies on the catalytic rate constant of ribosomal peptidyltransferase, *Biochim. Biophys. Acta* 923(2):275-85, 1987.
(Peptidyltransferaseの反応速度式)
- [33] Wright, B.E., Butler, M.H. and Albe, K.R., Systems analysis of the tricarboxylic acid cycle in *Dictyostelium discoideum*. I. The basis for model construction, *J. Biol. Chem.* 267(5):3101-5, 1992.
(アメーバ *Dictyostelium discoideum* の TCA サイクルのモデル構築とシミュレーション)

- [34] Yang, S.Y. and Schulz, H., Kinetics of Coupled Enzyme Reactions, *Biochemistry* 26(17):5579-84, 1987.
(Enoyl-CoA hydratase および Hydroxyl-CoA dehydrogenase の反応速度式)
- [35] 柚木克之, E-CELL System を用いたミトコンドリア電子伝達系の反応速度論的モデル, 生命と情報 (富田研究室学生論文集) 5:232-42,1998.
(ミトコンドリア電子伝達系のモデル構築とシミュレーション)