

ミトコンドリア形成と細胞機能調節に関わる核 ミトコンドリア遺伝子ネットワーク

●三原 勝芳 ◆小宮 徹 ◆石原 尚忠

九州大学大学院医学研究院

研究の目的と進め方

ミトコンドリア(Mtと省略)の構築と機能発現は核とMtの遺伝子によって二重に支配されている。本申請では、核-Mt間の遺伝子発現ネットワークを介してMtの構築と細胞機能が制御される仕組みを明らかにするため以下の解析を行う。

【Mt蛋白質輸送】核遺伝子にコードされたMt輸送系が蛋白質を目的のMt区画に輸送する機構を哺乳類の系で解明する。具体的には外膜の蛋白質輸送系(TOM)に焦点を絞り、輸送装置の構造と機能の解析/膜内配向性を異にする種々のMt膜蛋白質の標的化・膜挿入機構の解析を行う。

【Mt形態制御】病変や分化などに伴い、Mtはその形をダイナミックに変化させる。本申請では、酵母でMt形態制御への関与が明らかにされつつあるGTPase(Fzo1, Dnm1, Mgm1)に注目し哺乳類Mtを対象に形態制御機構を解析する。

【核-Mt間情報伝達】酵母Mt内に蛋白質のフォールディング異常を誘発し応答する核の遺伝子群を検索する。そしてMt内のストレスが核に伝達される経路を明らかにする。

2001年度の研究の当初計画

哺乳類TOM複合体の未知の因子の同定と機能解析/外膜蛋白質の標的化シグナル解析とその認識因子の同定/Mt膜融合測定系の確立とFzo1の機能解析/温度感受性Hsp60, Hsp10株において非許容温度下で応答する核遺伝子の特定と応答配列の同定。

2001年度の成果

【蛋白質輸送】ラットMt外膜の輸送装置の成分TOM70, TOM40, TOM22の同定と機能解析/未知の因子OM5のクローニングと解析/C-末アンカー蛋白質TOM5のミトコンドリア標的化シグナルの解明。

【形態制御】2種類のFzo1蛋白質(Fzo1A, Fzo1B)のクローニング/両者が特異的な組織発現パターンを示すことの証明/野生型ならびに変異体の培養細胞での挙動とMt形態の変化の観察によりMt融合反応への関与を実証/OPA1とDrp1のクローニングと培養細胞での挙動解析。

【核-Mt間情報伝達】ts-hsp60株においては非許容温度下でHSP60遺伝子の発現が、またts-hsp10株において非許容温度下でHSP10遺伝子の発現が促進されることを見出し、両遺伝子の応答配列の解析/温度ストレスによるMt生合成系ならびに呼吸系酵素の遺伝子発現が顕著に低下する現象の発見。

国内外での位置づけ

【輸送】主としてNeupertとPfannerのグループが研究を進め蛋白質透過チャネルの性質ならびに輸送シグナルの認識機構に重点が移っている。膜蛋白質の標的化機構の解析は殆ど行われていない。

【形態】哺乳類ではFullerがヒトのFzo1様蛋白質Mfn1, Mfn2について報告し、さらにヒトの視疾患の原因遺伝子としてMgm1様蛋白質OPAが同定された。また、細胞質のDnm1様蛋白質(Drp1)がMtに動員されることによるMtの断片化とアポトーシスの関連が報告された。

【情報伝達】MtDNA欠損での核DNAの応答についてButowのグループが研究を進めている。

達成できなかったこと、予想外の困難、その理由

信頼性のある*in vitro*測定系の確立に手間取り外膜蛋白質の標的化シグナルを認識する因子の同定までには到っていない。

今後の課題

膜蛋白質の標的化の分子機構、Mtの融合・分裂の分子機構に迫るためにはいずれも*in vitro*系ないしはsemi-permeabilized cellを用いた信頼度の高い測定系を確立する必要がある。

成果公表リスト

- 202191322
Ii, M. Mihara, K. : Insertion of mitochondrial DNA-encoded F1F0-ATPase subunit 8 across the mitochondrial inner membrane *in vitro*. J. Biol. Chem. Vol. 276, pp. 24704-24712, 2001.
- 202191355
Miyazaki, E., Sakaguchi, M., Wakabayashi, S., Shigekawa, M. & Mihara, K. : NHE6 protein possesses a signal peptide destined for endoplasmic reticulum membrane and localizes in secretory organelles of the cell. J. Biol. Chem. vol. 276, pp. 49221-49227, 2001.
- 202191410
Kida, Y., Sakaguchi, M., Fukuda, M., Mikoshiba, K. & Mihara, K. : Amino acid residue with high turn potential just before the hydrophobic region is critical for translocation of the amino-terminal domain of type I signal-anchor protein. FEBS Letters vol. 507, pp. 341-345, 2001.
- 202191419
Horie, Y., Suzuki, H., Sakaguchi, M. & Mihara, K. : Characterization of the signal that directs the C-tail anchored proteins to the mitochondrial outer membrane. Mol. Biol. Cell in press.
- 202191426
Suzuki, H., Maeda, M. & Mihara, K. : Characterization of rat TOM70 as a receptor of the preprotein translocase of the mitochondrial outer membrane. J. Cell Sci. in press.