

1. 研究課題名：ミトコンドリアの生合成と形態制御の分子機構
2. 研究期間：平成14年度～平成18年度
3. 研究代表者：三原 勝芳（九州大学・大学院医学研究院・教授）

#### 4. 研究代表者からの報告

##### (1) 研究課題の目的及び意義

（目的）ミトコンドリア（Mt）は外膜、内膜の2枚の膜に囲まれた、好氣的ATP合成に必須のオルガネラであり、構成蛋白質の99%は細胞質で合成され外膜と内膜の輸送装置（TOM複合体、TIM複合体）によって目的のコンパートメントに輸送される。一方MtDNAには内膜の呼吸鎖の構成成分である13種類の蛋白質がコードされており、これらは内膜のエクスポート装置によってマトリクス側から内膜に挿入される。Mtはまた融合と分裂を介して環境に応じたダイナミックな形態変換を行い、またアポトーシスの主役として分裂を伴いつつ膜間スペースからアポトーシス因子を放出してアポトーシスを調節する。本研究では、オルガネラのインターフェースとしての機能が集積された膜に焦点をあて、蛋白質輸送装置によるMt膜の形成と膜ダイナミクスの制御機構の研究を行う。具体的には、Mt膜蛋白質の膜への組み込み、アポトーシス因子の輸出入、および融合・分裂機構を解析する。（意義）Mt研究は酵母を用いた解析が進んできたが、哺乳類Mtには酵母と類似したシステムに加え特有な輸送装置や膜動態の調節システムも存在する。哺乳類の細胞機能調節に関わるMtの役割（例えばアポトーシス）が注目される現在、哺乳類を対象にした基礎研究が是非とも必要であり、これによってMt膜の動態を介した細胞機能調節の新しい原理が見出されることが期待できる。Mtバイオロジーが分子細胞生物学のみならず農学や医学の周辺領域に及ぼす影響は極めて大きい。

##### (2) 研究成果の概要

[Mt膜への組み込み] に関しては、局在と配向性の異なる12種類の膜蛋白質について輸送シグナルの特性と輸送経路を明らかにした。とりわけBcl-2ファミリー蛋白質と複数回膜貫通型蛋白質についてそれぞれ新規な組み込み機構を発見したことで膜形成機構に新たな貢献ができた。さらにTom22-FLAG、Tim23-FLAG、Sam50-FLAGの安定発現細胞から免疫沈降によって複合体を単離し新規な構成因子を同定した。[アポトーシス因子の輸送] に関連しては、Bcl-2ファミリー蛋白質のMtへの組み込み経路を明らかにし、さらにAIF（アポトーシス誘発因子）について膜間スペースからの放出過程を解析し、アポトーシスシグナルに応答するプロセッシングの重要性を見いだした。また内膜構造維持とシトクロムc放出の調節に関わる内膜蛋白質MICS1の同定に成功した。[Mt分裂・融合機構] は酵母の研究が先行していたにも関わらず、本研究課題について予想以上の進展がみられた。中でもMt融合に関わる内膜のOPA1（Optic atrophy type I）の活性がプロセッシングを介して調節される機構を発見しプロセッシング酵素としてmAAA-proteaseパラプレジンと同定した成果はこの分野に強いインパクトを与えた。またDrp1のノックアウトマウス（全身、神経特異的、膵臓特異的）の作成と解析によってMt分裂機構の高次機能への関わりが初めて明らかになったことは大きな成果といえる。

#### 5. 審査部会における所見

##### A（期待どおり研究が進展した）

ミトコンドリア膜をオルガネラのインターフェースとして捕らえ、ミトコンドリアのダイナミズムについて幅広い研究成果を得た。特に、ミトコンドリアの膜形成、膜ダイナミクス制御、アポトーシス機構の理解を深める優れた成果を上げている。クラシックな研究成果に加えて、AIFの輸送やプロセッシングを介したアポトーシス制御、Bcl-2ファミリーの輸送経路など、一定のインパクトのある成果も得られている。また、Drp1ノックアウトマウスを用いた研究から、脳形成へのミトコンドリア分裂の重要性を見出し、同様に、膵臓における特異的Drp1ノックアウトは2型糖尿病を表現型として示すことが分かり、ミトコンドリアの分裂機構を生理的な機能にまで結びつけることができた。酵母研究だけでは解明できなかった「ミトコンドリア分裂の高次機能への関与」を示すことができたことは非常に興味深い。OPAによる外膜および内膜の共役や、アポトーシス関連因子の輸送系、ミトコンドリア内での蛋白質の限定的切断、など、今後の新たな視点での展開も期待され、特別推進研究として、当初の目標を十分達成していると評価することができる。