

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：32686

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22662

研究課題名(和文)ミトコンドリア内膜構造が導く新たなオルガネラ分裂機構

研究課題名(英文)A novel mechanism of organelle fission through the internal structure of mitochondria

研究代表者

川波 しおり(赤羽しおり)(Kawanami (Akabane), Shiori)

立教大学・理学部・助教

研究者番号：70793355

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文): 二重膜オルガネラであるミトコンドリアは、膜構造を動的に変化させることで正常な機能を維持する。本研究では、ミトコンドリア内部からの自律的な制御に着目してミトコンドリア分裂機構を解明することで、二重膜オルガネラの分裂機構と内部構造の協調についての理解を目指した。分裂を引き起こす生理的条件として低酸素環境に着目して解析を行ったところ、マトリックスタンパク質の凝集が検出され、また、ストレス応答性転写因子の発現が見られた。低酸素下では凝集タンパク質を引き金としたストレス応答経路が引き起こされることがわかり、分裂機構におけるミトコンドリアストレス応答の関与が示唆される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでのミトコンドリア分裂の研究はすべて、細胞質からの作用による外膜からの切断に着目したものであり、分裂時における内膜構造の変化は考慮されてこなかった。また、分裂時における膜融合因子やクリステ構造形成因子の役割を検討した報告はなく、本研究が先駆けて行うアプローチである。本研究は、内部からの自律的な制御に着目してミトコンドリア分裂機構を解明することで、ミトコンドリア分裂の全体像を明らかにするとともに、様々な生物種の二重膜オルガネラにおける分裂の生理的意義の理解につながると考えられる。

研究成果の概要(英文): Mitochondria, double-membrane bounded organelles, maintain normal function by dynamically changing their membrane structure. In this study, we investigated the mechanisms of mitochondrial fission, focusing on autonomously regulation via the internal structure of mitochondria, in order to understand coordination between fission and the internal structure of double-membrane bounded organelles. We analyzed mitochondrial function under hypoxia, physiological conditions that induce mitochondrial fission. Under hypoxia, aggregated proteins were detected in the mitochondrial matrix, and stress-inducible transcription factors were highly expressed. These results indicated that stress response is induced by protein aggregation under hypoxia, suggesting that stress response pathways are involved in mitochondrial fission.

研究分野：細胞生物学

キーワード：ミトコンドリア ミトコンドリア分裂 ミトコンドリア内膜構造

## 1. 研究開始当初の背景

ミトコンドリアは外膜と内膜からなる二重膜オルガネラであり、内膜は内部に陥入し折りたたまれたクリステ構造を形成する。このミトコンドリアの複雑な内部構造により、生命活動に必要なエネルギーが効率よく産生される。このようなミトコンドリア高次構造は、ミトコンドリア同士が融合と分裂を絶え間なく繰り返すことにより維持されている。

ミトコンドリア分裂についてはこれまで、細胞質に存在するダイナミン様タンパク質 Drp1 による外膜側からの分裂機構が明らかにされてきた。しかし、「細胞質からのアプローチだけで本当に二重膜オルガネラが分裂できるのか？」という疑問が残る。クリステに代表される複雑な膜構造を持つ内膜の分裂を、外部からの切断だけで理解することは難しく、ミトコンドリア分裂機構の全容は未だに捉えきれない。ミトコンドリア分裂は、内膜の膜電位の低下や低酸素環境下での呼吸機能の低下でも引き起こされる。これらの現象は、ミトコンドリア内部の環境変化に応じて膜構造の切断が引き起こされることを示しており、ミトコンドリア分裂における内部からの自立的な膜切断の制御が推測される。つまり、ミトコンドリア分裂は、その内部構造の変化により内膜の切断が容易になり、外膜からの切断と協調することで成し遂げられると考えられる(図1)。ミトコンドリア分裂の理解には、内部の膜構造の変化に焦点を当てることが必須であり、これまでの研究では見落とされていた重要な点である。

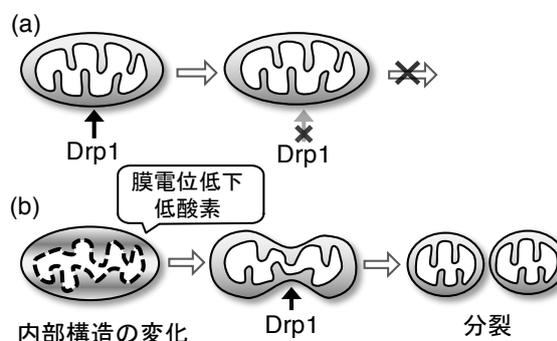


図1. 内部構造の変化に応じたミトコンドリア分裂

## 2. 研究の目的

本研究では、ミトコンドリア内部構造に焦点をあて、その変化がミトコンドリア分裂に果たす役割を明らかにする。特に、クリステ構造の形成に関与するタンパク質を解析することで、内膜が主導する切断機構の存在を明らかにし、ミトコンドリア分裂機構の全体像を理解する。

近年代表者は、ミトコンドリア内膜タンパク質 LETM1 が、ミトコンドリアのクリステ構造の形成に直接的に機能するだけでなく、クリステ構造の変化に伴いミトコンドリアの断片化を誘導することを見出した(図2; Nakamura, Matsui, Akabane *et al.* 2020 *Commun Biol*)。また、クリステ構造の維持に重要であるタンパク質複合体 MICOS もミトコンドリアの断片化に関わることを見出している。これらの結果は、ミトコンドリア分裂とクリステ構造の形成・維持の密接な結び付きを示している。

ダイナミン様タンパク質 Drp1 は、外膜の受容体タンパク質を介して細胞質からミトコンドリア外膜へと局在し、ミトコンドリアの分裂を引き起こす。エンドサイトーシスにおけるダイナミンが切断する小胞と比較すると、Drp1 が切断するミトコンドリアは遥かに大きな切断面と複雑な膜構造を有するため、Drp1 による切断機構だけでミトコンドリア分裂を完遂することは難し

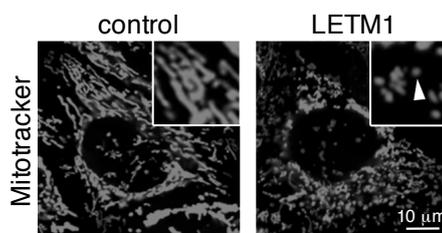


図2. LETM1の過剰発現によりミトコンドリア分裂が促進される

いと考えられる。ミトコンドリア内部の袋状のクリステ構造を切断面の一部として利用できれば、Drp1が切断する断面の径を飛躍的に小さくでき、ミトコンドリア分裂が可能になると推察される(図3)。このように、ミトコンドリア内部構造がその分裂に協調的に機能するという考え方に基づいた研究アプローチは、本研究の独創的な点である。

### 3. 研究の方法

#### 1) 分裂位置におけるクリステ構造形成因子の機能の解明

低酸素環境などミトコンドリア分裂を促進する条件の下で、Drp1の機能を阻害して外膜の切断を止める。これにより、分裂に応じた内部構造の変化のみを促進・蓄積させ、ミトコンドリア分裂におけるクリステ構造形成因子の機能を解析する。

#### 2) MICOS 複合体のリン酸化によるミトコンドリア分裂の制御機構の解明

Drp1のリン酸化は、ミトコンドリア分裂を促進させることが知られている。一方で代表者は、クリステ形成因子であるMICOS複合体の主要サブユニットがPKAによりリン酸化されることを明らかにしている(Akabane *et al.* 2016 *Mol Cell*)。そこで、MICOS複合体のリン酸化についても、ミトコンドリア分裂への関与を検討する。MICOS複合体のリン酸化がミトコンドリア分裂に及ぼす影響を、生化学的解析及び電子顕微鏡解析により調べる。

### 4. 研究成果

#### 1) 分裂位置におけるクリステ構造形成因子の機能の解明

ミトコンドリア分裂を引き起こす生理的条件として、低酸素環境に着目し、低酸素下におけるミトコンドリアの機能を解析した。低酸素環境ではミトコンドリアマトリックスに局在するシャペロンやプロテアーゼ、リボソームタンパク質の凝集の蓄積が検出された。また、ストレス応答に関わる転写因子CHOPやATF4の発現が見られ、低酸素環境において凝集タンパク質の蓄積を引き金としたストレス応答経路が誘導されていることが示唆された。今後は、低酸素環境で見られたストレス応答経路が外膜のDrp1へ引き起こす影響を解析し、ミトコンドリア分裂が促進される生理的条件のもとで、ミトコンドリア内部機能の変化と外膜分裂の相互関係を明らかにする。

#### 2) MICOS 複合体のリン酸化によるミトコンドリア分裂の制御機構の解明

これまでの代表者による研究から、MICOS複合体の主要サブユニットであるMIC60とMIC19がPKAによってリン酸化されることがわかっている。MIC60のリン酸化の生理的役割を調べるために、細胞内でのリン酸化MIC60の検出を試みた。免疫蛍光法による様々な条件を試したところ、リン酸化MIC60を特異的に認識するモノクローナル抗体を用いて、細胞内でのリン酸化MIC60の可視化に成功した。今後は、ミトコンドリア分裂に応じてリン酸化MIC60の局在の変化を解析し、分裂におけるMICOS複合体のリン酸化の役割を明らかにする。

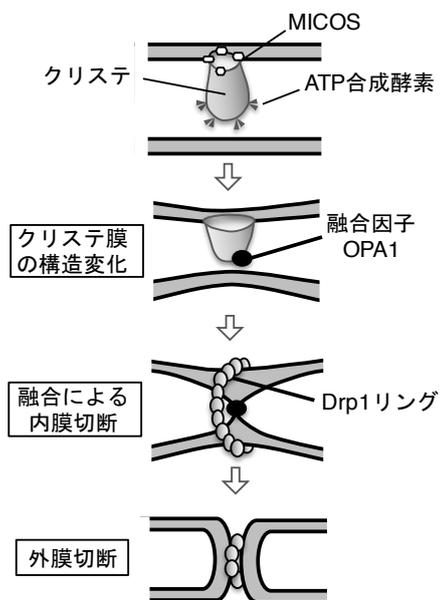


図3. クリステ膜を利用した分裂モデル

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 赤羽 しており	4. 巻 94
2. 論文標題 cAMP/PKAシグナル経路を介したミトコンドリア品質管理の制御とMICOS複合体の関与	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 188 ~ 195
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14952/SEIKAGAKU.2022.940188	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 2件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 赤羽 しており, 岡敏彦
2. 発表標題 The novel role of TIM23 in mitochondrial quality control
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Asia conference, Mitochondria and Metabolism in Health and Disease（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 赤羽 しており, 渡邊聖菜, 岡敏彦
2. 発表標題 プロテアーゼを介したミトコンドリア品質管理の制御
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------