

遠藤 斗志也

京都産業大学 総合生命科学部
教授

ミトコンドリアをハブとする構造機能ネットワークの解明

§ 1. 研究実施体制

(1)「遠藤」グループ

① 研究代表者:遠藤斗志也 (京都産業大学総合生命科学部、教授)

② 研究項目

ミトコンドリアをハブとする構造機能ネットワークの解明

- ・トランスロケータの動的機能ネットワーク
- ・ERMES 複合体を介するネットワーク
- ・クリステ膜構造の形成
- ・MICSO 複合体を介するネットワーク
- ・脂質合成・輸送系ネットワーク

(2)「田村」グループ

① 主たる共同研究者:田村康 (名古屋大学物質科学国際研究センター、准教授)

② 研究項目

ミトコンドリアをハブとする構造機能ネットワークの解明

- ・トランスロケータの動的機能ネットワーク
- ・ERMES 複合体を介するネットワーク
- ・脂質合成・輸送系ネットワーク

(3)「岡」グループ

① 主たる共同研究者:岡 敏彦 (立教大学理学部、教授)

② 研究項目

ミトコンドリア内膜構造形成の分子機構

- ・クリステ膜構造の形成機構の解析
- ・MICOS 複合体を介するネットワークの解析

§ 2. 研究実施の概要

遠藤グループ

(1) トランスロケータ, ERMES 複合体, MICOS 複合体, Ups1-Mdm35 経路などについて, タンパク質の交通と脂質の交通の制御機構を構造生物学的に解明する。

(2) 研究の実施概要

1. トランスロケータの動的機能ネットワーク

- 1) N アンカー型外膜タンパク質は, デフォルト経路として膜間部側から外膜に挿入される経路をとるが, C 端側に大きなドメインやフォールドしたドメインがあると外膜を透過できず, ラテラルに外膜にリリースされて, サイトゾル側から外膜に挿入される逆転トポロジーをとるらしいことがわかった。
- 2) *in vivo* 部位特異的光架橋により, TOM40 複合体のチャネル内を透過中の前駆体の相互作用部位を Tom40 のチャネル内にマッピングした。前駆体の種類によって相互作用部位が異なることを示した。

2. ERMES 複合体を介するネットワーク

- 1) 決定した ERMES 複合体のサブユニット Mdm12 の X 線構造に基づいて変異体を作成し, 疎水性ポケットが脂質結合ポケットとして働くことを証明した。*in vitro* で脂質輸送アクセシ系を使って, Mdm12 の脂質輸送活性は ERMES 複合体のもう一つのサブユニット Mmm1 と複合体をつくることで大きく上昇することを見出した。

3. MICOS 複合体を介するネットワーク

- 1) 外膜と内膜のコンタクトサイト形成の担う MICOS 複合体を構成する 6 種のサブユニットについて, *in vitro* インポート系を使って, 局在化経路を解析, Mic19 の輸送にはミストイル化が関わるらしいことを見出した。

4. 脂質合成・輸送系ネットワーク

1) Ups1 の機能・構造解析

PA (ホスファチジン酸) 輸送に関わる Ups1-Mdm35 についてアポ型と PA 結合型の X 線構造の決定に成功した。構造情報に基づいて変異体を作成し, *in vitro* での脂質輸送実験により Ups1 が脂質を輸送する機構を考察できるようになった。

田村グループ

(1) トランスロケータ, ERMES 複合体, 各種脂質輸送経路などについて, タンパク質の交通と脂質の交通の制御機構を生化学的に解明する。

(2) 研究の実施概要

1. トランスロケータの動的機能ネットワーク

1) ノンストップ (NS) タンパク質の品質管理

mRNA から終止コドンが欠失すると翻訳が停止し、リボソームからリリースされずに NS タンパク質となる。小胞体の膜タンパク質は NS タンパク質になると膜トポロジーに依存してユビキチン化されて分解されることを見出し、ミトコンドリア外膜タンパク質についても解析を進めている。

2. ERMES 複合体を介するネットワーク

1) ERMES 複合体のサブユニット Mdm12 に結合している脂質の解析を行うと共に、Mdm12 の各種変異株について脂質組成への影響を調べ、Mdm12 欠損によりカルジオリピンやホスファチジン酸レベルに影響が出ることを見出した。

3. 脂質合成・輸送系ネットワーク

1) 脂質輸送アッセイ系の至適化

ミトコンドリアと小胞体を含む単離オルガネラと ^{14}C -serine を用いて脂質輸送を見るアッセイ系を確立し、その効率化をはかった。

岡グループ

(1) 研究のねらい

クリステ構造形成に係る LETM1/Mdm38 と MICOS 複合体の制御機構を明らかにすることで、ミトコンドリア機能におけるクリステ構造の役割を解明する。

(2) 研究の実施概要

1. クリステ膜構造の形成

1) LETM1 の機能の試験管内再構成と構造解析; 人工膜リポソームと精製 LETM1 タンパク質を用いた膜陥入構造の試験管内再構成法の確立を目指す。急速凍結法に加え化学固定法を検討したが、リポソームの安定性が低いため、条件検討を進める。LETM1 の結晶化・構造決定へ向けて、カイコ及び大腸菌で発現した可溶性ドメインの精製試料の結晶化の条件検討を進める。

2) LETM1/Mdm38 と相互作用する因子の解析; 酵母 *mdm38* 変異と遺伝的に相互作用する遺伝子のスクリーニングを行い、ミトコンドリア機能に関わる 29 遺伝子を同定した。さらに解析を進め、LETM1/Mdm38 機能に直接働くミトコンドリアタンパク質を同定していく。

2. MICOS 複合体を介するネットワーク

MICOS 複合体コアサブユニットである Mitofilin は、哺乳類に高く保存された PKA コンセンサス配列を持つ。この部位の変異体はリン酸化が消失し、MICOS 複合体形成が促進されていたことから、リン酸化に伴う複合体の解離が推定される。

代表的原著論文

A-4

F. Koyano, K. Okatsu, H. Kosako, Y. Tamura, E. Go, M. Kimura, Y. Kimura, H. Tsuchiya, H. Yoshihara, T. Hirokawa, T. Endo, E. A. Fon, J. F. Trempe, Y. Saeki, K. Tanaka, and N. Matsuda

Ubiquitin is phosphorylated by PINK1 to activate parkin.

Nature 510, 162-166 (2014) doi: 10.1038/nature13392

A-5

J. Song, Y. Tamura, T. Yoshihisa, and T. Endo

A novel import route for an N-anchor mitochondrial outer membrane protein aided by the TIM23 complex

EMBO Rep. 15, 670-677 (2014) doi: 10.1002/embr.201338142

C-1.

K. Okatsu, M. Kimura, T. Oka, K. Tanaka and N. Matsuda

Unconventional PINK1 localization to the outer membrane of depolarized mitochondria drives Parkin recruitment.

J. Cell Sci. 128, 964-978, 2015 (DOI: 10.1242/jcs.161000)