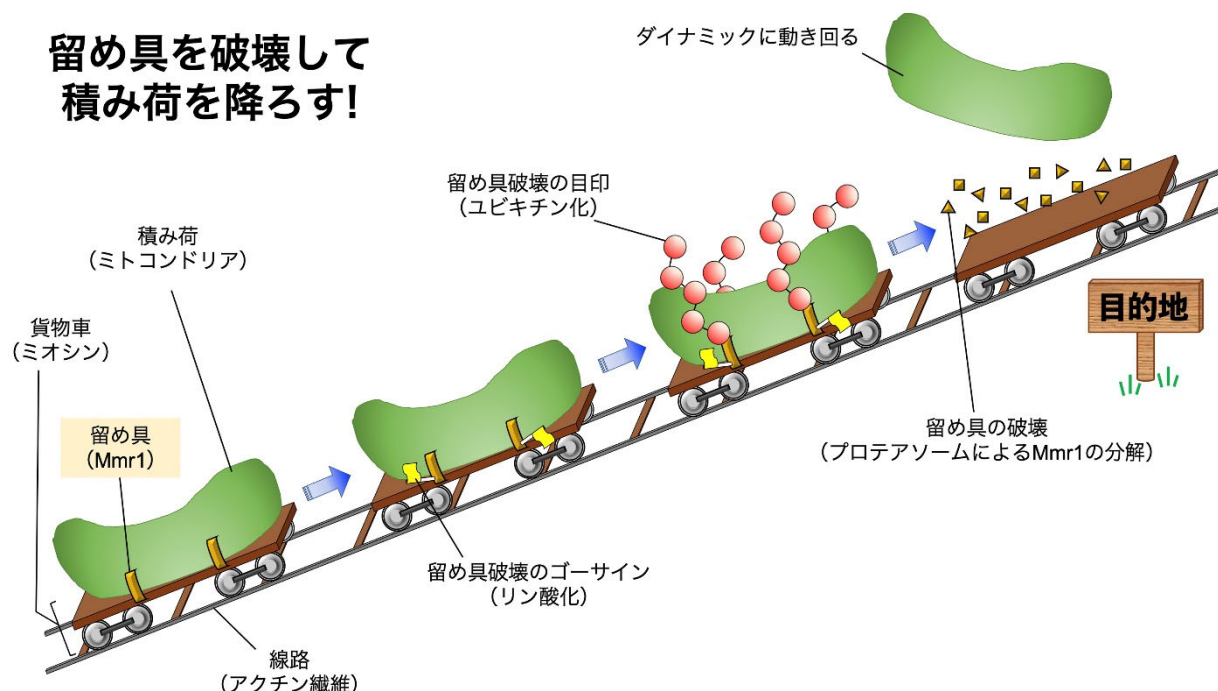


留め具を破壊して 積み荷を降ろす！



積み荷を降ろすには留め具を破壊！ ～目的地まで運んだミトコンドリアを解放するタンパク質分解～

国立大学法人東海国立大学機構 名古屋大学大学院理学研究科の小原 圭介 助教、嘉村 巧 教授らは、名古屋市立大学大学院理学研究科の中務 邦雄 准教授との共同研究で、細胞内小器官のミトコンドリア^{注1)}が新しい細胞に遺伝する際の仕組みを発見しました。

本研究では、ミトコンドリアが積み荷として、モータータンパク質ミオシン^{注2)}（貨物車に相当）によって目的地（新しい細胞）に運ばれた後に、ミオシンとミトコンドリアを繋ぎ止めている留め具タンパク質 Mmr1 が積極的に壊されることで、ミトコンドリアが、ミオシンから解放されて自由に動き回ることを発見しました。留め具タンパク質 Mmr1 の分解が起こらないと（積み荷の荷降ろしが滞ると）、ミトコンドリアの分布や形態、更には働きに異常が生じて、有毒な活性酸素が多く産出されることも分かりました。これは、タンパク質を積極的に分解する「プロテオリシス」の新しい役割として注目すべき発見です。この成果は主に酵母を用いた実験で得られました。この仕組みによって、酵母は増殖して新しい細胞を生み出す際にミトコンドリアを正常に遺伝させていると考えられます。

本研究により、細胞内で様々な積み荷を降ろす過程で、留め具タンパク質の分解が起こっているか否かを検証する研究が惹起されると考えられます。また、ミトコンドリアをはじめとした、細胞小器官の輸送や分布の異常に伴う疾病の原因解明や、創薬が進むと期待されます。

本研究成果は、2022 年 4 月 14 日午後 6 時（日本時間）付オープンアクセスの学術誌「Nature Communications」オンライン版に掲載されました。

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業の支援のもとで行われたものです。

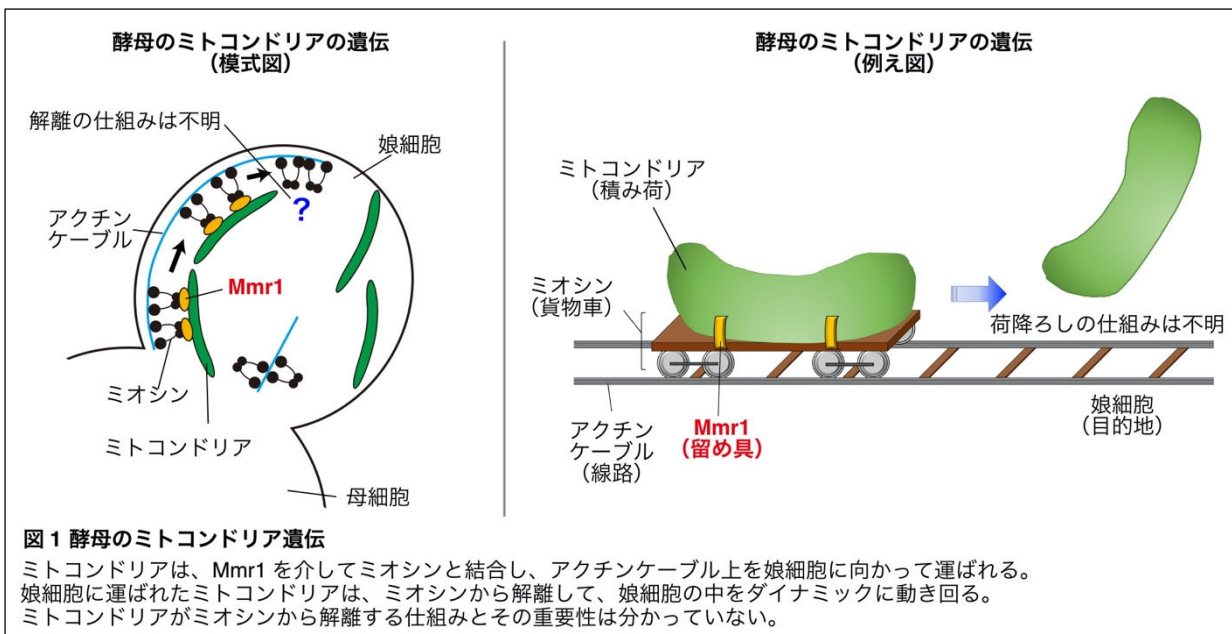
【ポイント】

- ・酵母はミトコンドリアを積み荷として、目的地の新しい細胞（娘細胞）に運んだのちに、留め具タンパク質である Mmr1 を分解して貨物車であるミオシンから降ろしていた。
- ・Mmr1 は特定のタンパク質を狙って分解する、ユビキチン・プロテアソームシステム^{注3)}によって分解されていた。
- ・ミトコンドリアが目的地に到達する前に Mmr1 が分解されてしまわないように、目的地付近に到達したミトコンドリアに結合しているMmr1にリン酸化修飾が施され、それがMmr1のユビキチン化と分解を引き起こしていた。
- ・Mmr1の分解が滞ると、ミトコンドリアがミオシンと解離できず、ミオシンの動きに引きずられて異常な分布を示し、ミトコンドリアの形態異常や機能異常をもたらした。また、それに伴って有毒な活性酸素が増産されていた。

【研究背景と内容】

■背景

ミトコンドリアは、エネルギー物質であるATPや脂質などを作り出す重要な細胞内小器官です。新しい細胞が生まれる際には、ミトコンドリアをはじめとする細胞小器官は、きちんと新しい細胞に分配されて遺伝する必要があります。酵母は、出芽という様式によって増殖します。出芽過程では、もとの細胞（母細胞）から、新しい空間である芽が出現・成長し、そこに細胞小器官などが送り込まれて、最終的に娘細胞として独立します。ミトコンドリアは、アクチンケーブル（線路に相当）という細胞骨格上を、ミオシンというモータータンパク質（貨物車に相当）によって、娘細胞に向かって運ばれます（図1）。その際に、ミトコンドリアとミオシンは、Mmr1という留め具タンパク質によって結びつけられます。ミトコンドリアは、娘細胞の先端に到達した後に、ミオシンから外れて（荷降ろしされて）娘細胞内をダイナミックに動き回ります。この荷降ろしの仕組みや重要性は、今まで全く明らかになっていませんでした。



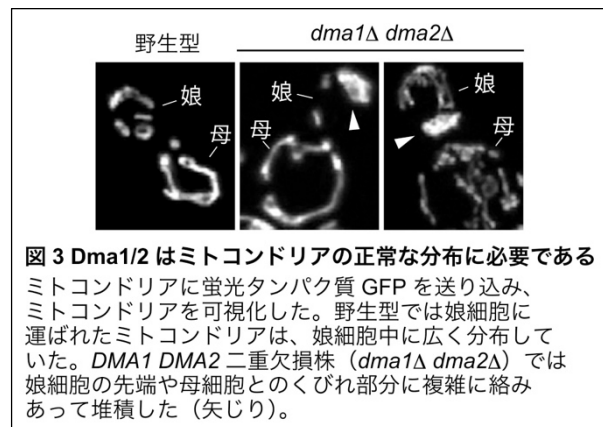
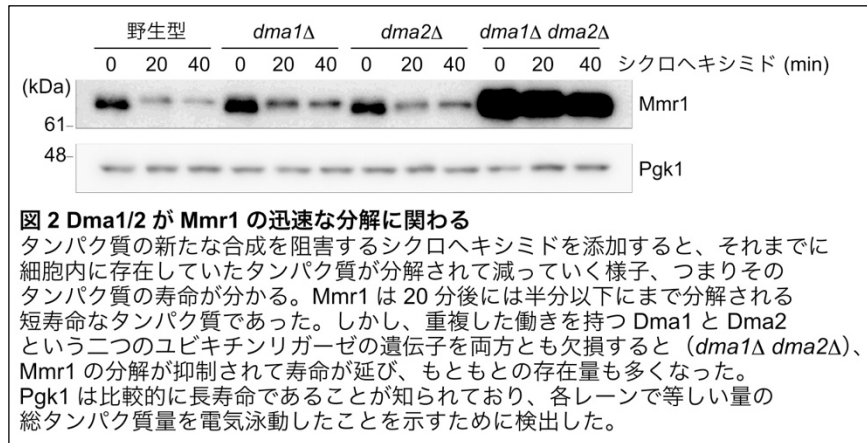
■結果

留め具タンパク質 Mmr1 の分解によってミトコンドリアが荷降ろしされる

本研究では、留め具タンパク質である Mmr1 に注目して、ミトコンドリアがミオシンから荷降ろしされる仕組みを調べました。すると、Mmr1 はユビキチン・プロテアソームシステムによって迅速に分解されていることが明らかになりました。ユビキチン・プロテアソームシステムでは、分解されるタンパク質（基質）に、ユビキチンというタンパク質が目印として付加されます。このユビキチン化が、基質の運命を決める重要なプロセスです。Mmr1 に結合するタンパク質を、質量分析によって調べたところ、Dma1 と Dma2 というユビキチンリガーゼ（基質を捕まえてユビキチンを基質に付加する酵素）が検出されました。Dma1 と Dma2 のコード遺伝子を両方とも欠損すると Mmr1 の分解が抑制されました（図 2）。

DMA1 DMA2 の二重

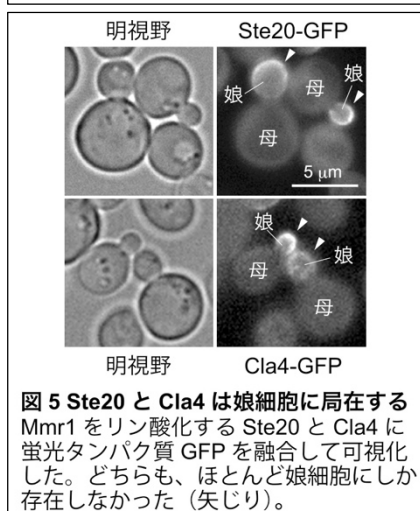
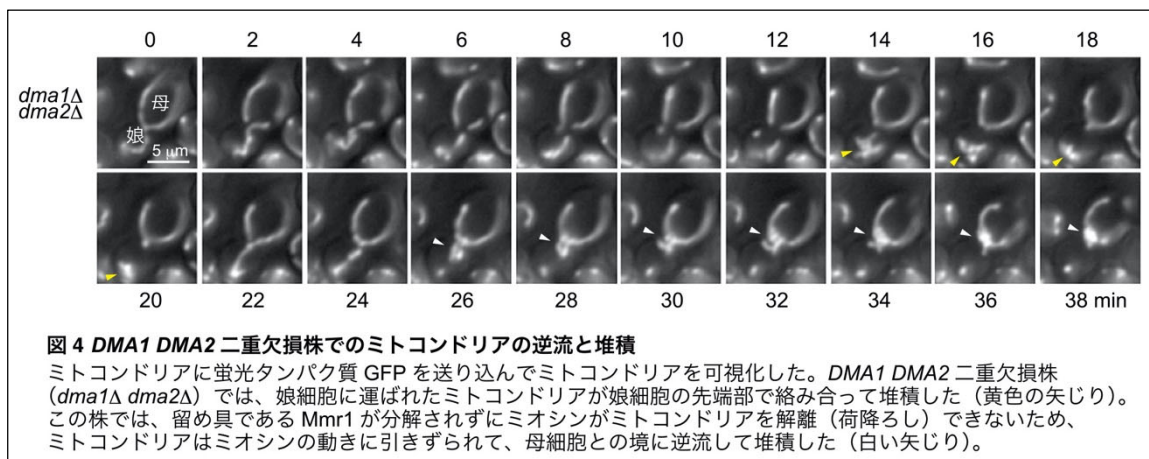
欠損株でミトコンドリアの挙動を観察したところ、娘細胞の先端に運ばれた後、ミオシンから解離できずに（荷降ろしされずに）複雑に絡み合って堆積しました（図 3）。これらのことから、酵母は娘細胞で留め具タンパク質 Mmr1 をユビキチン・プロテアソームシステムによって分解することで、ミトコンドリアをミオシンから荷降ろしていることが明らかになりました。



ミトコンドリアの荷降ろしはミトコンドリアの正常な動態と形態に必要である

DMA1 DMA2 二重欠損株の娘細胞先端で、荷降ろしされずに堆積したミトコンドリアを更に追跡したところ、ミオシンが次の仕事をするために、母細胞と娘細胞の境界部に移動するのに引きずられて逆流して、そこで再び複雑に絡み合って堆積しました（図 4）。DMA1 DMA2 二重欠損株で堆積したミトコンドリアを、電子顕微鏡で詳しく観察したところ、異常に肥大したり変形していました。これらのことから、留め具タンパク質 Mmr1 を、ユビキチン・プロテアソームシステムで分解してミトコンドリアをミオシンから荷降ろしすることは、ミトコンドリアの正常な動態や形態の維持に欠かせないことが判明しました。

ミトコンドリアが確実に娘細胞に遺伝するには、目的地（娘細胞）に到達した後に荷降ろしされる必要があります。私たちは、Mmr1 が Ste20 や Cla4 というリン酸化酵素によってリン酸化を受けるコンセンサス配列を有していることから、これらのリン酸化酵素に注目しました。これらのリン酸化酵素の活性を失わせてみたところ、ミトコンドリアの荷降ろしが滞りました。また、これらのリン酸化酵素による Mmr1 のリン酸化が、Dma1 と Dma2 による Mmr1 のユビキチン化に必要であることも見出しました。更に、Mmr1 のリン酸化部位に変異を導入してリン酸化を受けないように改変すると、ミトコンドリアの荷降ろしが滞ることも明らかになりました。興味深いことに、Ste20 と Cla4 は、どちらも主に娘細胞に局在し、母細胞にはほとんど存在しませんでした（図 5）。Ste20 と Cla4 が娘細胞のみに存在することで、ミトコンドリアが確実に娘細胞に運ばれた後に、Mmr1 のリン酸化が起こり、それが引き金となって、Mmr1 のユビキチン化と分解が引き起こされていたのです。酵母はこの仕組みによって、目的地に到着する前に、ミトコンドリアがミオシンから荷降ろしされてしまうのを防いでいることが明らかになりました。



ミトコンドリアの荷降ろしはミトコンドリアの正常な機能の維持に必要である

DMA1 DMA2 二重欠損株でミトコンドリアの機能を調べたところ、呼吸活性が異常に亢進していました。呼吸活性が亢進しすぎると、細胞にとって有害な活性酸素が多く産出されます。実際に、DMA1 DMA2 二重欠損株では活性酸素が多く産出されていま

した。また、それに伴って *DMA1 DMA2* 二重欠損株は活性酸素に対して脆弱になっていました。このように、ミトコンドリアの正常な荷降ろし（図 6）は、ミトコンドリアの活性の調節や、細胞の活性酸素耐性に欠かせないことが明らかになりました。

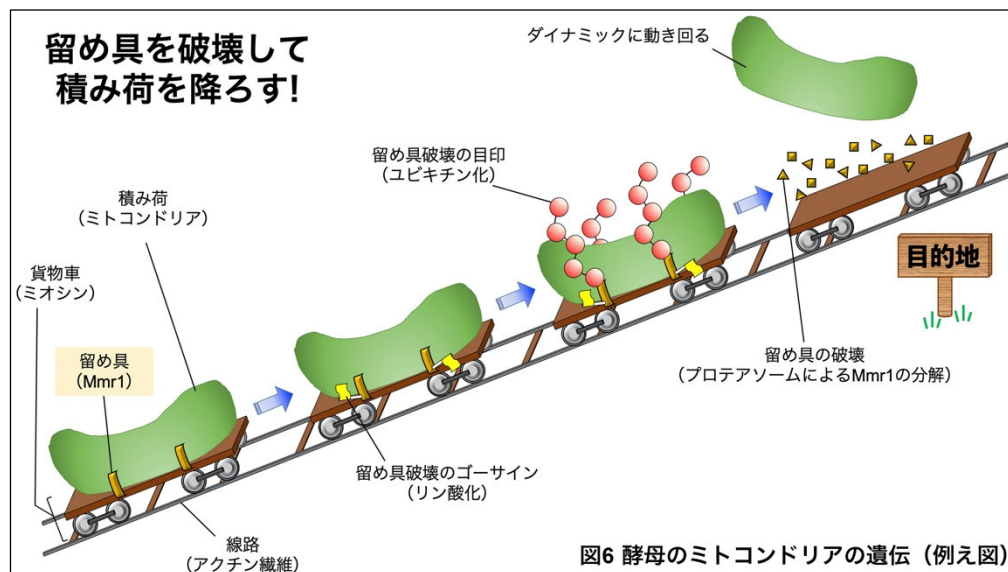


図6 酵母のミトコンドリアの遺伝（例え図）

【成果の意義】

ユビキチン・プロテアソームシステムによる留め具タンパク質 Mmr1 の選択的分解がミトコンドリアの正常な分布、形態、機能の維持に欠かせないことを明確に示しました。これは、タンパク質を積極的に分解する「プロテオリシス」の新しい役割の発見として重要です。貨物車であるモータータンパク質が積み荷を降ろす仕組みはあまり明らかになっていませんが、本研究の成果は、モータータンパク質による細胞内の物質輸送に関する重要な知見を提供するものです。また、ミトコンドリアをはじめとする細胞内小器官の輸送や分布の異常によって引き起こされる疾病の原因解明や創薬などを促進します。

【用語説明】

注 1) ミトコンドリア：

細胞内小器官の一つであり、エネルギーである ATP を好気呼吸によって生み出す。その一方で、有毒な活性酸素の主な発生源にもなる。酵母では、ミトコンドリアは Mmr1 という留め具タンパク質を介して、ミオシン（下記参照）に結合してアクチンケーブル上を運ばれ、新たに生まれる娘細胞に分配されて遺伝する。

注 2) ミオシン：

細胞骨格であるアクチンケーブル上を動き、積み荷を輸送するモータータンパク質の一種。

注 3) ユビキチン・プロテアソームシステム：

細胞の中で不要になったタンパク質、有害なタンパク質、特定のプロセスにブレーキ

を掛けるタンパク質などは、状況に応じて積極的に分解される必要がある。分解されるべきタンパク質にはユビキチンという小さいタンパク質が目印として付加され、そのユビキチンに次のユビキチンが付加され、ということが繰り返されて、ユビキチンの鎖（ポリユビキチン鎖）が形成される。ポリユビキチン鎖が付加されたタンパク質は、巨大なタンパク質分解酵素複合体であるプロテアソームによって分解される。この一連のシステムをユビキチン・プロテアソームシステムという。

【論文情報】

雑誌名 : Nature Communications

論文タイトル : Proteolysis of adaptor protein Mmr1 during budding is necessary for mitochondrial homeostasis in *Saccharomyces cerevisiae*

著者 : Obara K[#], Yoshikawa T*, Yamaguchi R, Kuwata K, Nakatsukasa K, Nishimura K, and Kamura T[#]

下線 : 本学教員 * : 等しく貢献 # : 責任著者

DOI : 10. 1038/s41467-022-29704-8

URL : <https://www.nature.com/articles/s41467-022-29704-8>