

研究課題名 ミトコンドリアと核のクロストーク

所属研究機関 東京大学大学院新領域創成科学研究科

研究者氏名 富田 野乃 (竹内 野乃)

研究計画の概要

研究の趣旨・目的

ミトコンドリアはすべての真核生物に存在する細胞内小器官である。その主な役割は呼吸によるエネルギー(ATP)の生産であるが、細胞の分化やアポトーシスの制御にも密接に関与している。ミトコンドリアの生合成は、核とミトコンドリアの二つの蛋白質合成系に依存している。mtDNA にコードされているのは、ミトコンドリアにおける蛋白質合成で用いられる tRNA、rRNA、および呼吸に関わる一部の蛋白質のみであり、その他すべてのミトコンドリア蛋白質は細胞質で合成されミトコンドリアに輸送されてくる。細胞が正常に機能するためには、核とミトコンドリアの遺伝情報系および蛋白質合成系が協同的に働く必要がある。

本研究では、ミトコンドリア翻訳因子の発現制御、およびミトコンドリア蛋白質合成系の制御機構について解析し、核とミトコンドリアの蛋白質合成系がどのように連動し、細胞の増殖や分化を制御しているのか理解することを目指す。近年、多くの治療難性疾患(ミトコンドリア病、癌、神経変性疾患、自己免疫疾患など)がミトコンドリアの機能異常と関連があることが示唆されており、本研究から得られる知見は、そうした疾患の治療法の開発にも応用できると期待している。

研究計画の概要

1. ミトコンドリア翻訳因子の発現解析 -予備実験-

はじめに、細胞のガン化や分化に伴うミトコンドリア蛋白質合成系の変化について解析を行った。具体的には、いくつかの mt 翻訳因子について mRNA レベルと蛋白質レベルの変化を解析し、さらにミトコンドリアの蛋白質合成活性の変化について解析した。mRNA レベルの解析については、転写効率と分解速度の変化についての解析も併せて行った。細胞のガン化や分化のいずれの場合にも、mRNA の転写調節や転写後調節、さらには翻訳された蛋白質の翻訳後修飾が複雑に寄与しあってミトコンドリア翻訳因子の発現を制御していることが明らかとなった。転写調節、転写後の調節、それぞれについて更に解析を進めることにした。

2. 転写調節によるミトコンドリア翻訳因子の発現制御機構の解明

ミトコンドリア翻訳開始因子 2 (IF2mt) のプロモーター領域を同定し、細胞のガン化や分化に伴うプロモーター活性の制御について解析した。

3. 転写後調節によるミトコンドリア翻訳因子の発現制御機構の解明

HL 6 0 細胞の TPA による分化誘導系を用いて、ミトコンドリア翻訳因子 mRNA の安定性や翻訳効率の制御について調べた。また、ミトコンドリア翻訳伸長因子 tu の翻訳後修飾(リン酸化)の制御について調べた。

研究計画の詳細報告

(単位：百万円)

研究項目	所要経費					
	13年度	14年度	15年度			合計
1. 予備実験	6 ←→					6
2. 転写調節によるミトコンドリア翻訳因子の発現制御機構の実験的検証	6 ←→	9.7	7.5			23.2
3. 転写後調節によるミトコンドリア翻訳因子の発現制御機構の実験的検証	5.6 ←→	9.7	7.5			22.8
所要経費(合計) (間接経費を含む)	17.6	19.4	15.0			52.0

研究成果の概要

研究成果の概要

1. ミトコンドリア翻訳因子の発現解析 -予備実験-

はじめに、以下の生理的条件におけるミトコンドリア蛋白質合成系の変化について解析を行った。

i) SV40によるウイルス発ガン：ヒト正常繊維芽細胞におけるSV40による形質転換の効果を調べた。形質転換に伴い、ミトコンドリア翻訳因子の mRNA レベル、蛋白質レベルは一様に上昇していた。mRNA レベルの上昇には主にその転写効率の上昇が寄与していた。しかし、ミトコンドリア蛋白質合成活性自体は抑制されており、これにミトコンドリア翻訳伸長因子 Tu のリン酸化が関与していることが示唆された。

ii) HL-60 細胞の TPA によるマクロ・ファージへの分化：細胞の終末分化にともなうミトコンドリア翻訳因子の発現変化をしらべた。mRNA レベル、蛋白質レベルは一様に低下していた。mRNA レベルの低下には mRNA の転写効率、および安定性の低下の両方が寄与していることが明らかとなった。ミトコンドリア蛋白質合成活性も著しく抑制されており、これには翻訳因子の蛋白質レベルの低下に加えて、ミトコンドリア翻訳因子 Tu がリン酸化をうけることが関与している可能性が示唆された。

2. 転写調節によるミトコンドリア翻訳因子の発現制御機構の解析

ミトコンドリア翻訳因子(IF2mt)のプロモーター領域を同定し、はじめてミトコンドリア翻訳因子の発現が転写因子 NRF の下流にあることを明らかにした。

3. 転写後調節によるミトコンドリア翻訳因子の発現制御機構の解析

HL60 細胞の分化において、ミトコンドリア翻訳因子 (MetRSmt) mRNA の安定性を制御するシス・エレメントが 3'UTR にあることを明らかとした。また細胞分化に伴って、ミトコンドリア翻訳因子(EF-Tumt)の翻訳後修飾(リン酸化)が促進される事を見出し、これがミトコンドリア翻訳活性の低下に関与していることが示唆された。さらに EF-Tumt のリン酸化酵素を同定した。

波及効果、発展方向、改善点等

細胞の分化やアポトーシスの制御においてミトコンドリアの機能調節が重要であることが次々と報告されている中で、これまでミトコンドリアの蛋白質合成系の制御がそれにどのように関与しているかは全く明らかにされてこなかった。本研究では、SV40によるウイルス発ガンや終末分化にともなうミトコンドリア蛋白質合成の制御について解析を行ったが、更に解析対象とする生理的条件を増やしてゆくことで、細胞増殖とミトコンドリア蛋白質合成制御について普遍的な知見を得られるようになるだろう。また、ミトコンドリア翻訳因子の発現や機能の制御に関わる分子群(転写因子やmRNAの安定性を制御する因子、翻訳因子の修飾酵素など)の解明を行ってゆくことにより、シグナル伝達の研究分野に新しい視点を提示できるような研究に発展させることができると考えている。

近年、多くの治療難性疾患(癌、神経変性疾患、自己免疫疾患、ミトコンドリア病、など)がミトコンドリアの機能異常に伴うアポトーシスの破綻に由来することが示唆されている。本研究はミトコンドリア翻訳系の制御機構を分子レベルで理解しようとするものであり、すなわち、ミトコンドリア翻訳系を自在に制御し、アポトーシスをコントロールするために必須な基盤研究である。本研究で得られた知見は、将来の病気診断や治療方法の開発に結びつくことを期待している。

.研究成果発表等の状況

(1) 研究発表件数

	原著論文による発表	左記以外の誌上発表	口頭発表	合計
国内	0件	0件	6件	6件
国際	2件	0件	6件	8件
合計	2件	0件	12件	14件

(2) 特許等出願件数

合計 0件 (うち国内0件、国外0件)

(3) 受賞等

0件 (うち国内0件、国外0件)

(4) 主な原著論文による発表の内訳

* 発表者氏名：発表題目、文献名、巻(号)、頁、(掲載年)の順

国内誌 (国内英文誌を含む)

なし

国外誌

1. Okabe M, Tomita K, Ishitani R, Ishii R, Takeuchi N, Arisaka F, Nureki O, Yokoyama S.
Divergent evolutions of trinucleotide polymerization revealed by an archaeal CCA-adding enzyme structure. EMBO J. 2003 Nov 3;22(21):5918-5927.

2. Takeuchi N, Ueda T.

Down-regulation of the mitochondrial translation system during terminal differentiation of HL-60 cells by 12-O-tetradecanoyl-1-phorbol-13-acetate: comparison with the cytoplasmic translation system. J Biol Chem. 2003 Nov 14;278(46):45318-24.

⑥)主要雑誌への研究成果発表

Journal	Impact Factor	合計
EMBO J.	10.7	10.7
J Biol Chem.	6.7	6.7

ミトコンドリアと核のクロストーク

核とミトコンドリアの蛋白質合成系がどのように連動し、
細胞の増殖や分化を制御しているのか理解する。

