

研究題目 ミトコンドリア内外シグナルを介したミトコンドリア品質管理の調節機構

研究組織

研究代表者：岡 敏彦（立教大学）

共同研究者：小迫英尊（徳島大学先端酵素学研究所）

研究分担者：花田有希（立教大学）

研究分担者：赤羽しおり（京都産業大学）

【1】研究の概要

[1-1]本研究の目的・概要

ミトコンドリアは多彩な細胞機能を担っており、その機能は細胞により様々な調節を受けている。私達は、ミトコンドリア品質管理に必須な PINK1 複合体の構成因子の同定を通じて、細胞内の多彩なイベントで働くタンパク質のミトコンドリア品質管理への関与を見出した。この結果は、多様な細胞内反応とミトコンドリア品質管理とのクロストークを介した調節機構を示唆している。最近、先端酵素学研究所（小迫英尊 教授）との共同研究により、ミトコンドリア内膜タンパク質透過装置である TIM23 複合体の主要サブユニット（TIM23, TIM50, TIM17A/B）を、PINK1 相互作用因子として同定し、抗 TIM23 抗体を用いた Native PAGE により PINK1 複合体に含まれることを確認した。しかし、TIM23 複合体の PINK1 活性化および分解における役割は不明な点が多く残る。

そこで、本共同利用により、タンパク質複合体内での TIM23 と PINK1 の化学量論の解析を行う。これにより、PINK1 を介したミトコンドリア品質管理における TIM23 機能の理解を目指す。

[1-2]研究の方法・経過

TIM23 の発現抑制ではミトコンドリア内膜プロテアーゼ OMA1 により PINK1 が分解されるため、TIM23 複合体には PINK1 を保護する機能があることを推定した。しかし、PINK1 保護に対応できる十分量の TIM23 が PINK1 複合

体に含まれているかが大きなポイントである。そこで、免疫沈降により調製した PINK1-3HA 複合体のサンプル中の PINK1 および TIM23 に対するペプチドの絶対定量を、AQUA ペプチドを用いた質量分析法により行った。

【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

免疫沈降した PINK1-3HA 複合体のサンプルをトリプシン消化後に、PINK1 および TIM23 の 3 種類の異なるペプチドに対して質量分析による絶対定量を行った。その結果、回収された PINK1-3HA は 21.5–63.4 fmol の範囲で検出された一方で、回収された TIM23 では 3.3–13.7 fmol の範囲だった。細胞抽出液の調製や免疫沈降などの複数の実験ステップがあることを考慮すれば、この結果は数分子の PINK1-3HA に対して少なくとも 1 つの TIM23 分子が結合している事が示唆している。さらに、1 つの PINK1 複合体には 2 つの PINK1 分子が存在することを加味すると、PINK1 複合体あたりには 1 つの TIM23 が含まれる可能性が高く、化学量論的には PINK1 保護に十分な存在量が含まれると考えられる。

[2-2]本共同研究による波及効果及び今後の発展性

TIM23 複合体は、ミトコンドリア内膜に存在するタンパク質膜透過装置で、マトリックスへ輸送されるすべてのタンパク質の窓口となる重要なタンパク質複合体である。しかし、ミトコンドリア内膜輸送には膜電位が必要である

ため、膜電位を失ったミトコンドリアでの TIM23 複合体の機能は未解明のままであった。

本研究により、タンパク質膜透過装置 TIM23 複合体の新たな機能（特定のタンパク質の分解抑制）が発見されたことで、他のミトコンドリア質膜透過装置における新規機能の発見に繋がることが期待される。

【3】主な発表論文等

[3-1]論文発表

Akabane, S., K. Watanabe, H. Kosako, S.-I. Yamashita, K. Nishino, M. Kato, S. Sekine, T. Kanki, N. Matsuda, T. Endo and T. Oka (2023) TIM23 facilitates PINK1 activation by safeguarding against OMA1-mediated degradation in damaged mitochondria. *Cell Rep.* 42(5): 112454. DOI: 10.1016/j.celrep.2023.112454

[3-2]学会発表

なし

[3-3]成果資料等

なし

【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

今後は、TIM23 以外の他の複合体メンバーの PINK1 複合体含有率と PINK1 保護機能との関連性を調べることで、TIM23 複合体の新規機能に働くサブユニット構成を明らかにする。