18 mtDNAを標的としたミトコンドリア機能低下の抑制技術

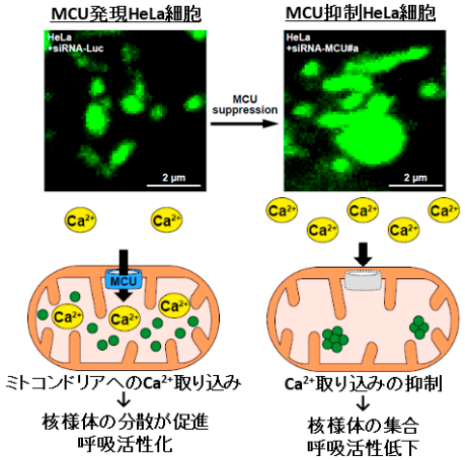
大阪大学 大学院理学研究科 生物科学専攻　　石原　直忠

ミトコンドリアは酸素呼吸により ATP を産生する二重膜オルガネラである。ミトコンドリアは細菌の共生に由来すると考えられており、その名残として内部に独自のゲノム、ミトコンドリア DNA (mtDNA) を保持している。mtDNA は酸素呼吸に必須な呼吸鎖複合体のサブユニットをコードしており、その変異はミトコンドリア病の原因となりうる。HeLa 細胞などの哺乳類細胞では細胞あたり数百コピー以上の mtDNA が存在しており、蛍光顕微鏡下に観察すると多数の点状の構造体として観察され、この構造は「核様体」と呼ばれている。また生細胞観察を行うと核様体はミトコンドリア内で活発に動いており、その動きはミトコンドリアの融合と分裂を介した動的な膜構造変化と連携していることを近年の解析から見出している。しかし、細胞内の mtDNA の分布・機能発現がどのように制御されているか、また変異 mtDNA はどのように増殖・分配されていくか、などの mtDNA の動的特性の分子理解はまだ十分に進められていない。そこで核様体の形態制御機構の基盤理解を進めるため、RNAi スクリーニングを行い関連因子の同定を進めた。まず、ミトコンドリアに関連する 1,164 個の核ゲノムコードの遺伝子を標的としたカスタム siRNA ライブラリーを構築し、それを用いて新規核様体制御因子の探索を目的とした siRNA スクリーニングを行ったところ、候補因子としてミトコンドリアカルシウムユニポーター MCU を含む様々な遺伝子が同定された。

MCU はミトコンドリア内膜のカルシウム (Ca^{2+}) ユニポーター複合体の主要な形成因子であり、RNAi による MCU 発現抑制細胞ではミトコンドリアへの Ca^{2+}の取り込みが大きく低下していることが確認された。この時、核様体の構造が大きく変化しており、さらに酸素呼吸活性の低下も観察されたことから、MCU は mtDNA の核様体構造形成及び機能発現に重要な役割を持つとの MCU の新しい機能を見出した。また、MCU 抑制に起因する核様体の形態変化は、Ca^{2+}イオノフォアの添加によって抑制され、分散した通常の核様体構造が回復した。これらの結果から、ミトコンドリアへの Ca^{2+}取り込みは核様体の制御に重要であることを明確に示すことができた（モデル図を参照）。現在、ミトコンドリアへの Ca^{2+}取り込みがどのように mtDNA の構造と機能に影響しているのか更なる研究を継続している。また今回のスクリーニングで同定された関連遺伝子の更なる解析を通じて、mtDNA の新規制御機構を理解し、さらにミトコンドリア活性化手法の構築を目指して研究を進めている。

【発表】

1)　2024 年 10 月　第 45 回日本薬学会 九州山口支部コロキウム、講演
2)　2024 年 11 月　第 47 回日本分子生物学会 バイオテクノロジーセミナー、講演
3)　Kanon H, Ishihara T, Ban-Ishihara R, Ota A, Yasuda T, Ichikawa A, Ueyama R, Baba T, Takeda K, Ogasawara E, Ishihara N. Mitochondria-targeting siRNA screening identifies mitochondrial calcium uniporter as a factor involved in nucleoid morphology. J Biochem. 2025 Feb 10:mvaf008. doi: 10.1093/jb/mvaf008. Online ahead of print. PMID: 39928408



ミトコンドリアカルシウムユニポーター（MCU）による mtDNA 核様体の制御