

提出日：平成 30 年 5 月 18 日

平成 29 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## (2) 研究成果の概要

課題名	脂質膜上でのミトコンドリア膜融合蛋白質の解析		
研究代表者	氏名	伴 匡人	
	所属機関名・部局名	久留米大学 分子生命科学研究所	
	職名	講師	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	後藤 祐児		
<p>ミトコンドリアは、外膜と内膜に囲まれた二重膜構造のオルガネラであり、融合と分裂を繰り返しながら、その形態や構造を変化させている。ミトコンドリアの融合・分裂は生命活動に必須の現象であり、その重要性から近年活発に解析が行われている。ミトコンドリアの内膜融合は、ダイナミン様 GTPase OPA1 が制御因子として同定されている。OPA1 は、ミトコンドリアの内膜融合の他に、ミトコンドリアの特徴的な膜構造であるクリステ構造の維持、ミトコンドリア DNA の安定化といったミトコンドリア機能の発現に於いて、重要な役割を持つ。細胞質で合成された OPA1 前駆体は、ミトコンドリア内膜へ運ばれた後、酵素消化により膜貫通領域を持つ L-OPA1 となる。L-OPA1 はさらに酵素消化により、膜貫通領域が欠損した S-OPA1 となる。定常状態での細胞では、L-OPA1 と S-OPA1 の両者が存在するが、ミトコンドリア膜融合に於ける両者の役割は、明らかにされていない。今回、カイコ・バキュロウイルス発現で調製した S-OPA1 と、リポソームを用いた <i>in vitro</i> 膜融合アッセイにより膜融合反応を解析した。ミトコンドリア内膜をモデルとしたリポソームに S-OPA1 を混合し、GTP を加えたところ、時間ともに膜融合が起きた。この膜融合は、GTP 加水分解依存でおこり、GDP や GTP 非加水分解アナログを加えても、融合は観察されなかった。GTP 存在下で、ミトコンドリア外膜をモデルとしたリポソームと S-OPA1 を混合しても、融合は観察されなかった。外膜と内膜脂質組成を比較すると、ミトコンドリアに局在する脂質カルジオリピン (CL) 含有量が大きく異なることから、S-OPA1 による膜融合に於いて CL が重要な役割を持つことが示唆された。CL の役割を明らかにするために、磁気ビーズを用いたリポソーム結合アッセイを行ったところ、CL を多く含むリポソームにのみ S-OPA1 が結合したので、CL は S-OPA1 の結合とサイトして機能することが分かった。一方、培養細胞を用いた研究では、L-OPA1 の失活による S-OPA1 の増加、OPA1 が欠損した細胞に、S-OPA1 を発現しても膜融合が起こらないことが報告されており、膜融合に於ける S-OPA1 の役割を明らかにするためには、S-OPA1 の膜上でのトポロジーを考慮した解析を行う必要があることが示唆された。</p>			

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：平成 30 年 5 月 18 日（金） ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp