

# 2022年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	<b>ATPase を介したタンパク質配送校正機構の解明</b>
キーワード	① タンパク質局在化機構、② 誤局在タンパク質、③ 配送校正機構

## 研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	オノ スズカ 小野 鈴花
配付時の所属先・職位等 (令和4年4月1日現在)	京都産業大学 タンパク質動態研究所・研究員
現在の所属先・職位等 (令和5年7月1日現在)	京都産業大学 タンパク質動態研究所・研究員
プロフィール	京都産業大学 生命科学部 (タンパク質動態研究所)・研究員。東海大学大学院 医学研究科先端医科学専攻にて、博士(医学)取得。2020年より現職。細胞内輸送とオルガネラによって維持されるホメオスタシスの理解を深めたい。

## 1. 研究の概要

本研究はミトコンドリアとペルオキシソームに存在する Msp1 (Mitochondrial Sorting of Proteins 1) に着目し、細胞内において Msp1 が制御する「膜タンパク質の配送校正機構」の全容を明らかにするため、出芽酵母を用いて各オルガネラ (細胞小器官) に局在を固定した局在固定型 Msp1 の分子機能解析を行った。

## 2. 研究の動機、目的

### [研究の動機 (背景)]

#### ■ TA タンパク質の局在化機構と誤局在

核内で転写された膜タンパク質は、サイトゾルで翻訳と共に (co-translational) もしくは翻訳された後に (post-translational) 目的のオルガネラに局在化 (targeting) する。C 末領域に疎水性の膜貫通配列を一つ持った TA タンパク質 (Tail-Anchored protein) は、サイトゾルで翻訳された後に、進化的に保存された経路によって ER (小胞体)、ミトコンドリア、ペルオキシソームへと配送されることで、各々に定められたオルガネラへと局在する (図1)。

出芽酵母における TA タンパク質の ER への局在化は、Get3 が調節する GET (Guided Entry of Tail-anchored) 経路が担い、GET 経路が欠損すると本来 ER に配送されるべき TA タンパク質がミトコンドリアに誤局在することが報告されている [1]。しかし、TA タンパク質のミトコンドリア局在化経路など、誤局在のメカニズムについては不明である (図1)。

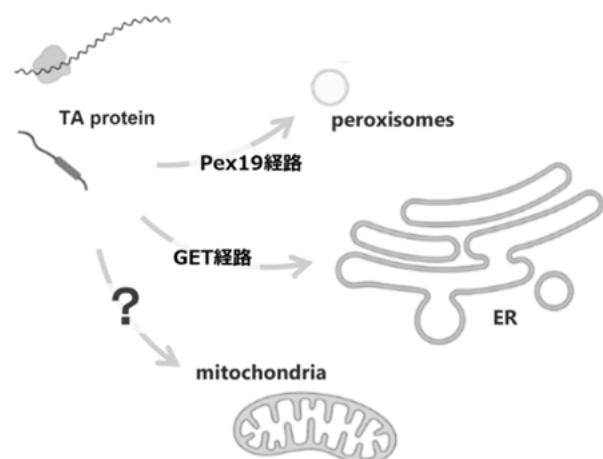


図1 : TA タンパク質のオルガネラ局在化機構

## ■ ミトコンドリアにおける配送校正機構

ミトコンドリア外膜に存在する AAA-ATPase Msp1/ATAD1 (ATAD1 ; Msp1 のヒトホモログ) は、ミトコンドリアに誤局在した TA タンパク質を外膜から引き抜き、分解系に回すことが知られている [2, 3]。

出芽酵母の Msp1 については、当研究室におけるこれまでの解析から、Msp1 によってミトコンドリア外膜から引き抜かれた TA タンパク質は GET 経路 (図 1) を介して ER に輸送されること (re-transport)、そして ER においてユビキチン-プロテアソーム分解系の ERAD (Endoplasmic Reticulum-Associated Degradation) によって分解 (degradation)、もしくは TA タンパク質が本来局在する ER 下流のオルガネラに再び局在化 (re-targeting) することが明らかとなった (図 2) [4, 5]。

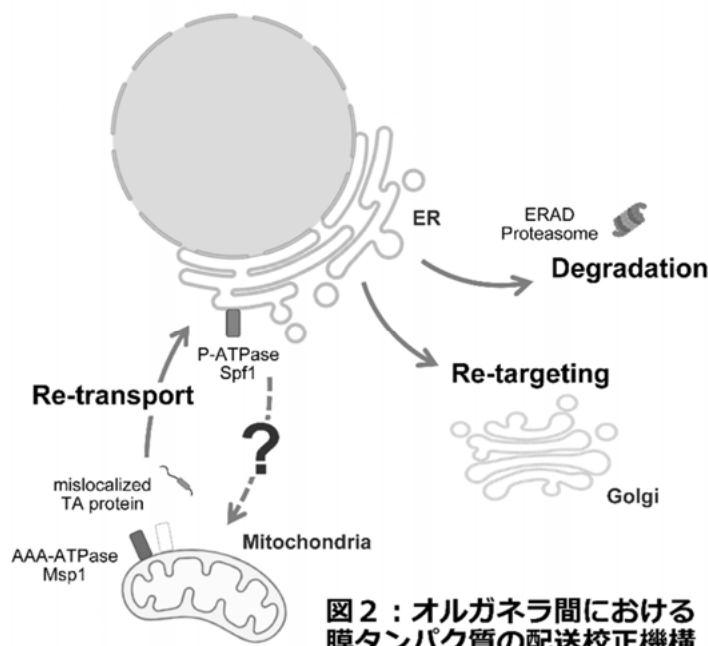


図 2 : オルガネラ間における膜タンパク質の配送校正機構

## ■ ペルオキシソームにおける再配送機構

Msp1 はミトコンドリアだけでなくペルオキシソームにも存在し、ペルオキシソームでは TA タンパク質の Pex15 をオルガネラ膜から引き抜くことが知られている [6]。

## ■ ER における配送校正機構

ER 膜に存在する P-ATPase Spf1/ATP13A1 (ATP13A1 ; Spf1 のヒトホモログ) は、TA タンパク質の引き抜き活性を有し、Spf1/ATP13A1 が欠損すると本来ミトコンドリアに配送されるべき Fis1 や Gem1 などの TA タンパク質が ER に誤局在することが報告されている [3, 7, 8]。したがって、ER においてもミトコンドリアと同様に ATPase を介した膜タンパク質の引き抜きによる「膜タンパク質の配送校正機構」の存在が示唆されるが、その詳細は明らかとなっていない (図 2)。

## [研究の目的 (課題) ]

Msp1/ATAD1 は出芽酵母およびヒトに共通してミトコンドリアとペルオキシソームに存在し、それぞれのオルガネラにおいて膜タンパク質の引き抜きによる再配送を担うことが知られている [2-6]。しかし、Msp1/ATAD1 を介したミトコンドリアとペルオキシソーム間における膜タンパク質のやり取りについては未だ不明である。

ヒト疾患の Zellweger 症候群 (ペルオキシソーム形成異常症) では、ペルオキシソームの欠失がミトコンドリアへの誤局在タンパク質の蓄積を引き起こし、ミトコンドリアの断片化や機能障害が生じるが、ATAD1 の過剰発現はこれらのミトコンドリア異常を「膜タンパク質の配送校正機構」によって回復することが報告されている [9, 10]。そこで本研究では、細胞内で Msp1/ATAD1 が制御する配送校正機構の全容を明らかにすることで、ミトコンドリア-ペルオキシソーム間における膜タンパク質の局在制御機構の存在を見出し、Msp1/ATAD1 のように多重局在するタンパク質の異なるオルガネラ間における機能的関連性の理解を深めることを目的とする。

- [1] Schuldiner M. *et al.*, *Cell.*, 2008. [2] Okreglak V. *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA.*, 2014. [3] Dederer V. *et al.*, *Elife.*, 2019. [4] Matsumoto S. *et al.*, *Mol Cell.*, 2019. [5] Matsumoto S. and Ono S. *et al.*, *J Cell Biol.*, 2022. [6] Weir N. *et al.*, *Elife.*, 2017. [7] Krumpke K. *et al.*, *Mol Biol Cell.*, 2012. [8] McKenna M. *et al.*, *Science.*, 2020. [9] Tanaka H. *et al.*, *J Cell Sci.*, 2019. [10] Nuebel E. *et al.*, *EMBO J.*, 2014.

### 3. 研究の結果

今回の解析から、本来はミトコンドリアとペルオキシソームに存在する Msp1 が、Spf1 の欠損条件においては ER に誤局在することを見出した。また、ER に誤局在した Msp1 は ER に局在を固定した ER 局在固定型 Msp1 によって膜から引き抜かれることで、ミトコンドリアとペルオキシソームに再配送されることが明らかとなった。さらに、ミトコンドリアに局在する Msp1 はミトコンドリア局在固定型 Msp1 によって膜から引き抜かれることで、一部 ER に誤局在することが確認された。したがって、オルガネラ膜から引き抜かれた Msp1 は、もう一度局在化経路に乗ることで、ミトコンドリアとペルオキシソーム、そして ER に再び局在化することが示唆された (図3)。

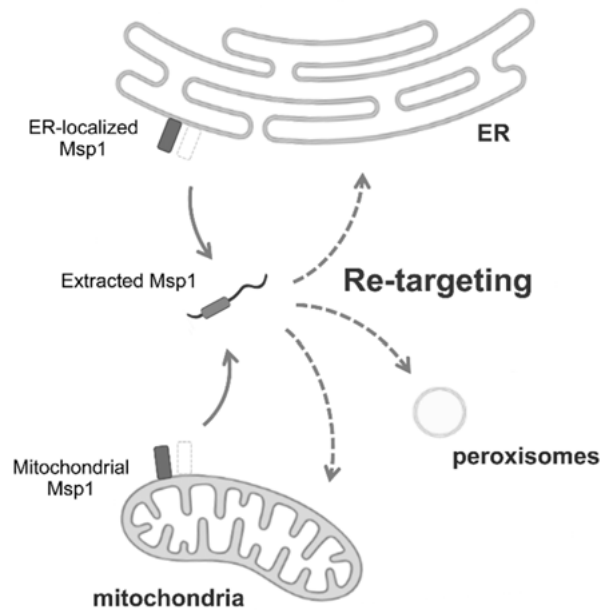


図3 : Msp1 の多重局在メカニズム (仮説)

### 4. 研究者としてのこれからの展望

細胞内における恒常性 (ホメオスタシス) は、細胞の機能維持に重要な役割を担い、その破綻が様々なヒト疾患の発症原因となることが知られています。細胞内では、合成されたタンパク質が定められた場所に局在し、また様々な受容体や分泌物、外部因子が膜小胞を介して必要な場所へと輸送されることで一つの細胞の生命を維持しています。さらに、近年の国内外の報告から、オルガネラは必ずしも独立して存在するものではなく、異なったオルガネラ同士が連携することによって細胞内の恒常性を保つ可能性が考えられ始めており、細胞内の恒常性を維持する新たなシステムの存在が示唆されています。私は、このような細胞内輸送やオルガネラの連携によって維持される細胞内恒常性の理解を深めることで、ヒト疾患の発症機構解明や医療還元につながるような研究活動を展開してゆきたいと考えています。

### 5. 支援者 (寄付企業等や社会一般) 等へのメッセージ

本奨励金によって、大学院の卒業からスタートした研究者としての第一歩を大きく踏み出すことが出来ました。今回の解析から、タンパク質の局在化機構や細胞内におけるプロテオスタシス (タンパク質恒常性) を維持するシステムに、ATPase を介した再配送による「新たな機構」の存在を示唆する結果が得られました。この知見は、これまでの不要なタンパク質の分解処理を基本としたプロテオスタシスの概念を拡大し、異なるオルガネラ間における ATPase を介したタンパク質のやり取りによる連携が細胞機能の維持に重要である可能性を示します。今後はこの知見をもとに、「ATPase によるタンパク質の局在制御機構」の解明を目指し、オルガネラの連携によって維持されるホメオスタシスの理解を深めてゆきたいと思っております。