

Atg44 と Dnm1 の連携作用を介したミトコンドリア分裂機構の解明

古川 健太郎

九州大学大学院医学研究院

研究の目的

ミトコンドリアは分裂と融合を介したダイナミックな形態変化を示し、この形態制御はミトコンドリアの恒常性維持において極めて重要である。分裂と融合のバランスは多様な GTPase タンパク質群によって制御されており、とりわけ Dnm1 を介した分裂機構は長年にわたり研究されている。一方、我々は、酵母におけるミトコンドリアオートファジー (マイトファジー) の研究過程において、Dnm1 とは全く異なる新規分裂因子 Atg44/mitofissin を同定した^{1,2)}。本研究では、Atg44 と Dnm1 の連携機構を解明し、生体膜切断の新しい概念の立証を目指す。

方法

酵母のミトコンドリアは、グルコースを含む発酵増殖培地ではチューブ状の形態を示すが、乳酸を含む呼吸増殖培地にシフトすると Atg44 および Dnm1 依存的な分裂により断片化する。この分裂条件における Atg44 と Dnm1 の関係を調べるため、(1) 蛍光顕微鏡を用いた Dnm1 の挙動解析、(2) 光-電子相関顕微鏡解析による Dnm1 依存的なミトコンドリア狭窄部位の解析、(3) ミトコンドリア狭窄部位における外膜・内膜・マトリックスの解析、(4) 免疫蛍光染色法によるミトコンドリア狭窄部位における Atg44 の局在解析、を行った。

結果

本研究では以下の結果が得られた。(1) Dnm1 は Atg44 非依存的にミトコンドリア上に集積・狭窄することが可能であるが、分裂の完了には Atg44 が必須であった (図 1)。(2) Atg44 欠損株における Dnm1 依存的なミトコンドリアの狭窄部位は極限まで細くなっていることが確認された (図 2)。(3) ミトコンドリアの狭窄部位では、外膜と内膜の切断は起こっておらず、マトリックス成分はほとんど検出されない程度まで細くなっていることが確認された (図 3)。(4) ミトコンドリアの狭窄部位において Atg44 が集積している様子が観察された (図 4)。

結論

Dnm1 はミトコンドリアを狭窄・分裂するものと長年考えられてきた。しかしながら、本研究では、Dnm1 はミトコンドリアの狭窄を担うにとどまり、Atg44 がミトコンドリア分裂の真の実行因子であることを明らかにした。本研究成果は、Autophagy

誌に掲載された³⁾。

文献

- 1) Yamashita, SI. *et al.* (2016) Mitochondrial division occurs concurrently with autophagosome formation but independently of Drp1 during mitophagy. *J. Cell Biol.* **215**: 649-665.
- 2) Fukuda, T., Furukawa, K. (co-first) *et al.* (2023) The mitochondrial intermembrane space protein mitofissin drives mitochondrial fission required for mitophagy. *Mol. Cell* **83**: 2045-2058.e9.
- 3) Furukawa, K. *et al.* (2024) Atg44/Mdi1/mitofissin facilitates Dnm1-mediated mitochondrial fission. *Autophagy* **20**: 2314-2322.

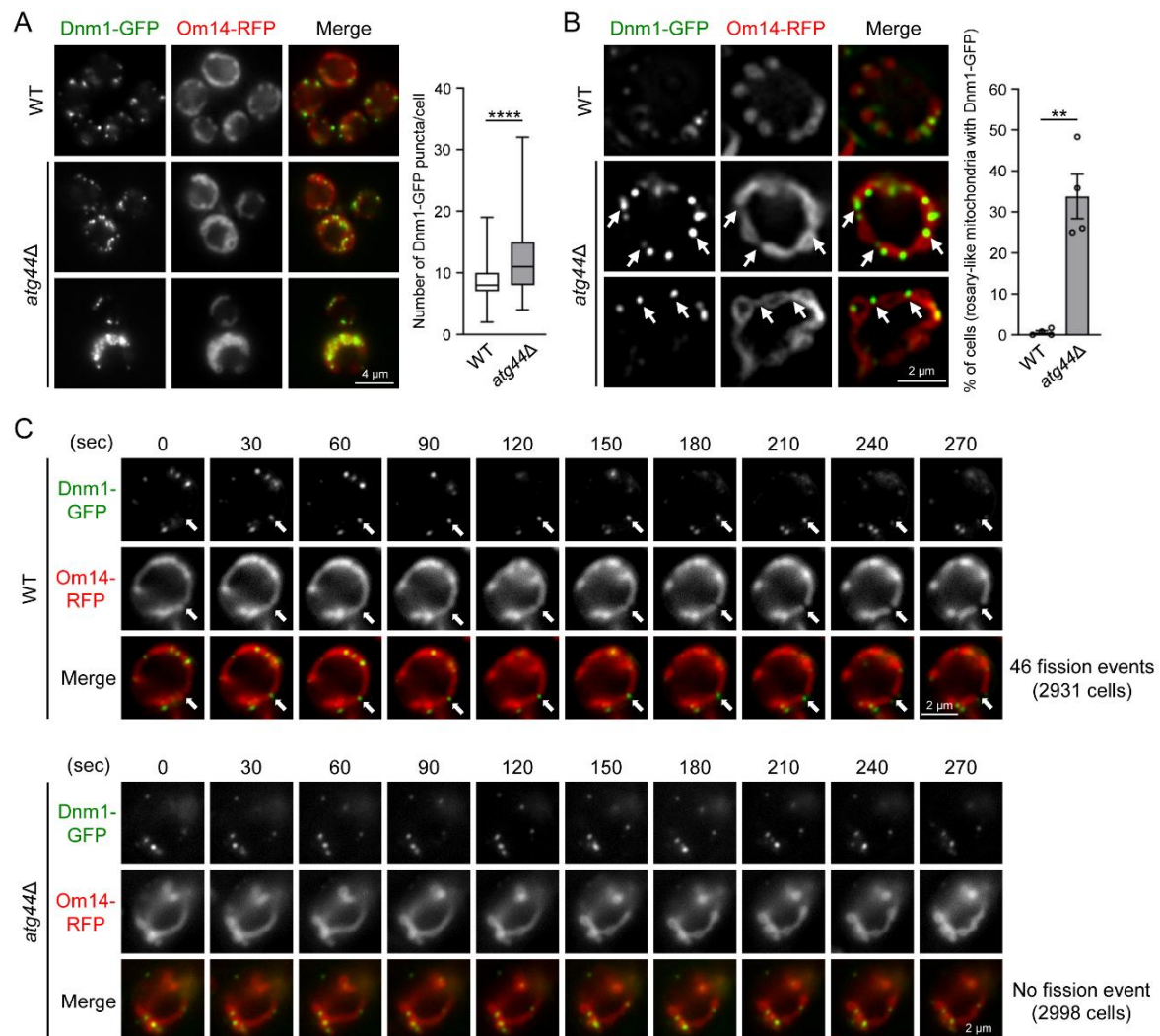


図 1: Atg44 欠損株では Dnm1 がミトコンドリアに集積しても分裂には至らない
(A) Atg44 欠損株では肥大化したミトコンドリアに多数の Dnm1-GFP が集積する。(B) 野生株では断片化したミトコンドリアが見られるのに対し、Atg44 欠損株では Dnm1-

GFP の集積部位で強い狭窄が観察される。(C) ミトコンドリア分裂のタイムラプス解析の結果、Atg44 欠損株では Dnm1 依存的な分裂は観察されなかった。

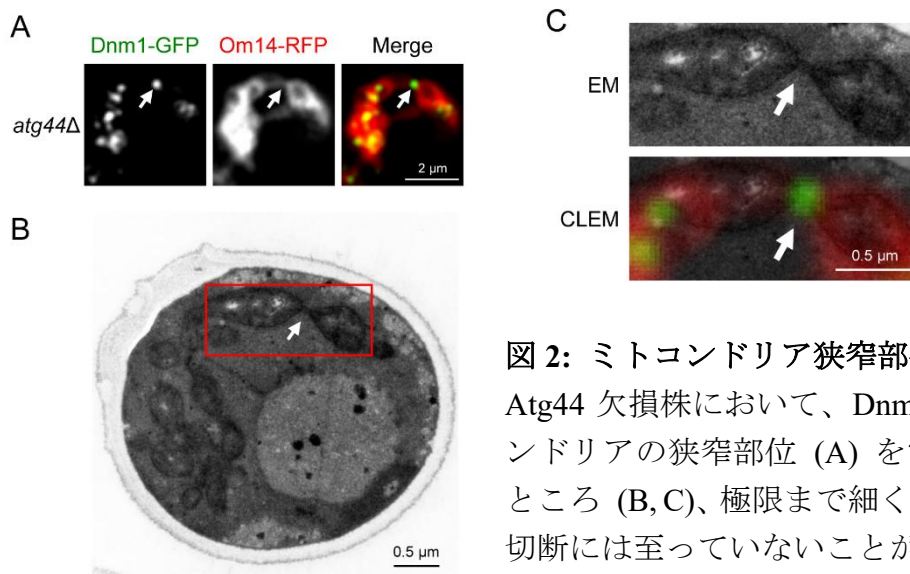


図 2: ミトコンドリア狭窄部位の電子顕微鏡解析
Atg44 欠損株において、Dnm1 が集積したミトコンドリアの狭窄部位 (A) を電子顕微鏡観察したところ (B, C)、極限まで細くなった状態であるが、切断には至っていないことが明らかになった。

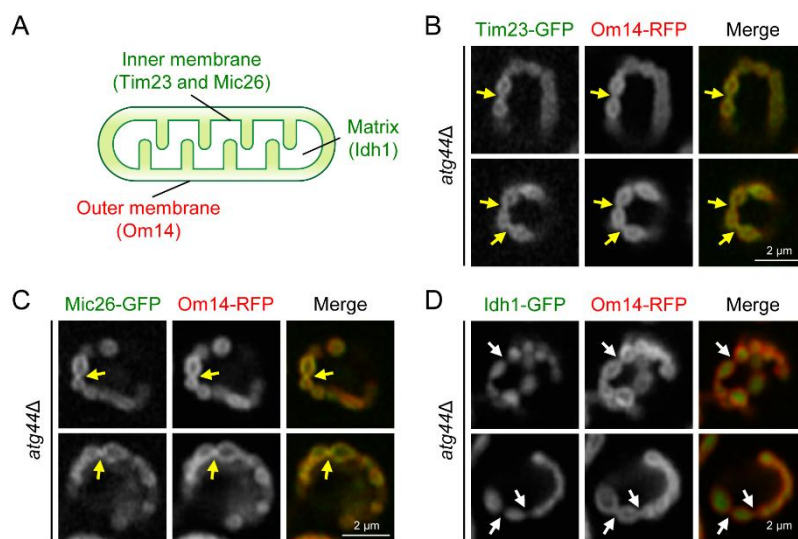


図 3: ミトコンドリア狭窄部位の蛍光顕微鏡解析
外膜・内膜・マトリックスタンパク質 (A) を GFP と RFP で標識し、狭窄部位を観察した。内膜の切断は起こっておらず (B, C)、マトリックスはほとんど検出されないレベルまで細くなっていることが明らかとなった (D)。

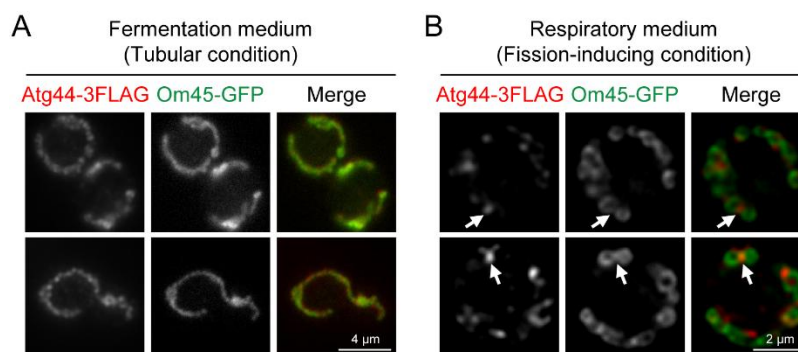


図 4: ミトコンドリア狭窄部位における Atg44 の集積

免疫蛍光染色法により Atg44 を可視化したところ、発酵増殖時には Atg44 はミトコンドリアに均一に局在しているのに対し

(A)、呼吸増殖時にはミトコンドリアの狭窄部位において Atg44 が集積している様子が観察された (B)。