

P-11

アポトーシスにおける核凝縮の3つの素過程 リング、ネックレス、核崩壊をそれぞれ誘導する 因子の解析

¹川崎医大・生化学、²大阪府立大・生命環境科学、

³産業技術総合研究所・幹細胞工学

○刀祢 重信¹、杉本 憲治²、網代 廣三³、栗林 太¹

アポトーシスは、引き金、シグナル伝達、そして実行過程に分けることができる。それぞれの過程の解明が進む中、実行過程の典型的な状態である、核凝縮がどのようなメカニズムで起きるのかは謎のままである。

私達はこれまでに核凝縮が3つの素過程に分けられ、それらを個々の核が忠実に実行していくことを cell-free アポトーシス法によって示してきた。この手法は、細胞から核を取り出し、試験管内で種々の因子を作用させ、核の変化を見るもので、極めて同調性高く、ほぼすべての核を30分以内に凝縮させることができる (Samejima, Toné et al. J. Cell Biol., 1998)。さらに、あらかじめ核蛋白質をGFPなどで標識しておいて、この過程を微速度映画で記録することで、アポトーシスにおいて、核の凝縮までも正確にプログラムされていることも報告してきた。そして面白いことに、それぞれの段階に進ませる独立の因子があることもわかってきた (Toné et al. Exp. Cell Res., 2007)。これらが順に核に働いて、シナリオ通りに凝縮させる。真核生物は、有糸分裂 mitosis に匹敵する精緻な仕組みを自らの死のために創り上げたともいえる。本発表では第1素過程のリング凝縮状態とヒストン H2B のリン酸化が密接に関係しており、第2素過程のネックレス状態になるためには、DNase の酵素活性が、第3素過程の核崩壊のためには、Caspase-6 によるラミンの切断がそれぞれ必須であることを示す。更にリング状態の核に DNase, Caspase を sequential に処理すると、核をリングからネックレス、そして核崩壊に進ませることができる。リング状態にするための因子については、H2B Ser14 のリン酸化酵素として Mst1 が報告されているが、リング形成に必須であるという証拠はまだ無い。現在、このリング形成因子を探索中である。

P-12

若年性家族性パーキンソン病原因遺伝子 PINK1、 Parkin によるミトコンドリア輸送制御

¹京都大学大学院医学研究科 臨床神経学

²Department of Pathology, Stanford University School of Medicine

³順天堂大学大学院医学研究科 神経変性疾患病態治療探索講座

○高橋 良輔¹、澤田 知世¹、Song Liu²、
Bingwei Lu²、今居 謙³

若年性パーキンソン病原因遺伝子 *PINK1* と *parkin* は、それぞれキナーゼとユビキチンリガーゼをコードしている。これまでに、ショウジョウバエを用いた遺伝学的解析から、*PINK1* と *Parkin* が協調してミトコンドリアの機能を制御していることが明らかとなっている。本研究において我々は、*PINK1*-*Parkin* シグナルがミトコンドリアの機能を制御する分子メカニズムと、その破綻による神経変性メカニズムを明らかにすることを目的に解析を行った。*PINK1* ノックアウトあるいはノックダウンショウジョウバエにおいては、筋肉ミトコンドリアが変性し羽の姿勢制御に異常が認められる。*PINK1* ノックアウトショウジョウバエを用いた遺伝学的スクリーニングから、我々は *PINK1*-*Parkin* シグナルに関与する新規分子 *Miro* を同定した。すなわち、*Miro* をノックダウンすると *PINK1* ノックダウンショウジョウバエにおいて見られる羽の姿勢の異常が抑制された。ショウジョウバエにおいて *PINK1* を過剰発現するとミトコンドリアの神経軸索輸送が抑制され、逆に *PINK1* をノックダウンあるいは *Miro* を過剰発現するとミトコンドリアの軸索輸送が促進された。*Miro* はミトコンドリア外膜に局在する GTPase であり、キネシンモーター依存的な軸索輸送に関与する。*PINK1* は *Parkin* と協調して *Miro* をユビキチン-プロテアソーム経路を介して分解することがショウジョウバエおよび培養細胞において明らかとなった。近年、*PINK1*-*Parkin* が膜電位の低下した損傷ミトコンドリアを選択的に除去するマイトファジーに関与することが明らかになった。*Miro* は膜電位が低下したミトコンドリアにおいて、*PINK1*-*Parkin* 依存的に早い段階で分解される。これは、損傷を受けたミトコンドリアが神経終末に輸送されないような防御メカニズムであると考えられる。