



## 不良ミトコンドリアを色で見つけるセンサーを開発 -パーキンソン病のメカニズム解明に期待-

千葉大学大学院理学研究院 板倉英祐准教授らの研究グループは、パーキンソン病<sup>注1)</sup>や癌の一因とされている不良ミトコンドリアを蛍光タンパク質によって可視化する「不良ミトコンドリアセンサー “Mito-Pain”」を開発しました(図1)。

Mito-Pain を用いた解析と、ミトコンドリアにダメージを与えうる化合物のスクリーニングとを組み合わせることで、パーキンソン病の原因遺伝子のはたらきについて、これまで知られていた機能の他に、ミトコンドリアストレスの種類に応じて違うはたらき方をすることが明らかになりました。

この研究成果は、米国科学雑誌 *Journal of Biological Chemistry* に10月4日(米国東部時間)に発表されました。

### 研究の背景：

人の体は細胞の集合体です。細胞内の細胞小器官のひとつであるミトコンドリアは、糖分や脂質からエネルギーを産生する重要な役割を担います。一方でミトコンドリアは活性酸素などのストレスによりダメージを受けやすく、ダメージにより不良ミトコンドリアとなるとその蓄積が細胞に悪影響を与え、パーキンソン病神経疾患や癌の発生など多くの疾患の原因となります。そのため、どのようなときに不良ミトコンドリアが生じるのかを調べることは重要ですが、これまでは特定のストレスしか検出できない限定的な方法しかありませんでした。

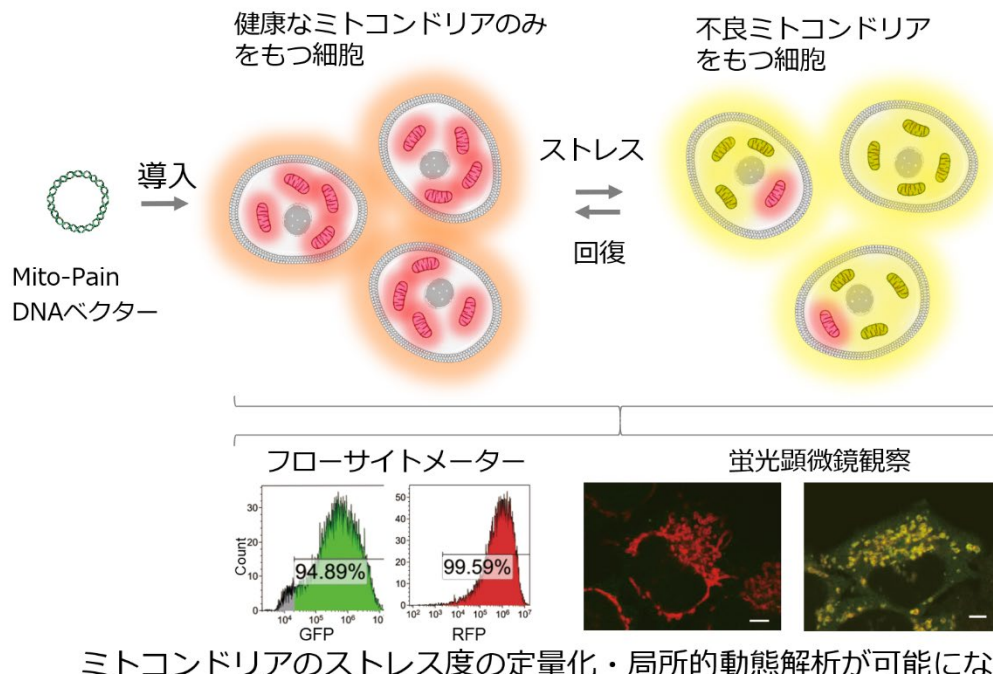


図1. Mito-painの概略図。Mito-Painを細胞に導入すると、正常なミトコンドリアは赤色蛍光タンパク質のみを保持する。不良ミトコンドリアは赤色蛍光タンパク質とともに緑色蛍光タンパク質を保持するため黄色(赤と緑の混合色)となる。細胞内の蛍光を定量解析することでミトコンドリアストレスの強度や、不良ミトコンドリアを可視化した解析に成功した。

## 研究内容詳細：

PINK1 遺伝子<sup>注2)</sup>はパーキンソン病の原因遺伝子の一つとして知られています。これまでの研究から、PINK1 タンパク質は健康な細胞では速やかに分解される一方で、不良ミトコンドリア外膜上では安定化して留まることが知られています。この性質を利用し、PINK1 を不良ミトコンドリアのマーカースとして活用するため、PINK1 と GFP (緑色蛍光タンパク質)、T2A(自切配列)、RFP (赤色蛍光タンパク質)、Omp25(ミトコンドリア外膜タンパク質) からなる Mito-Pain (DNA ベクター<sup>注3)</sup>) を作製しました (図 2 A)。

Mito-Pain を細胞に導入すると、1 つの mRNA から PINK1-GFP と RFP-Omp25 タンパク質が等量ずつ産生されます。RFP-Omp25 はすべてのミトコンドリア膜上に局在します。一方で PINK1-GFP は不良ミトコンドリアの膜上のみで安定して局在します (図 2 B)。つまり健康なミトコンドリアは RFP のみ、不良ミトコンドリアは RFP と GFP 両方を保持するため、黄色 (赤と緑の混合色) の比率増加を不良ミトコンドリアの増加の指標として定量解析可能になりました。また、蛍光顕微鏡観察を用いて、細胞内の一部の不良ミトコンドリアのみを観察することで、局所的なミトコンドリアストレスの解析も可能です。

ミトコンドリアがストレスを受け不良ミトコンドリアとなると、PINK1 と、この他にパーキンソン病の原因遺伝子産物として知られている Parkin タンパク質と一緒に、オートファジーを介して不良ミトコンドリアを分解除去 (マイトファジー) することが分かっています。Mito-Pain によってミトコンドリアストレスを生じる種々の化合物について調べてみたところ、化合物の種類によっては PINK1 だけでミトコンドリアストレスに応答する場合がありますことがわかり、PINK1 はマイトファジーだけでなく、単独でミトコンドリア修復にはたらく機能をもつことが示唆されました。

## 研究者のコメント (千葉大学大学院理学研究院 板倉英祐准教授)：

ミトコンドリアストレスを起因としてパーキンソン病神経疾患や癌、老化などが生じると考えられています。Mito-Pain を利用してミトコンドリアストレスの詳細を解析することで、様々な疾患の発症要因の解明が進むと期待しています。

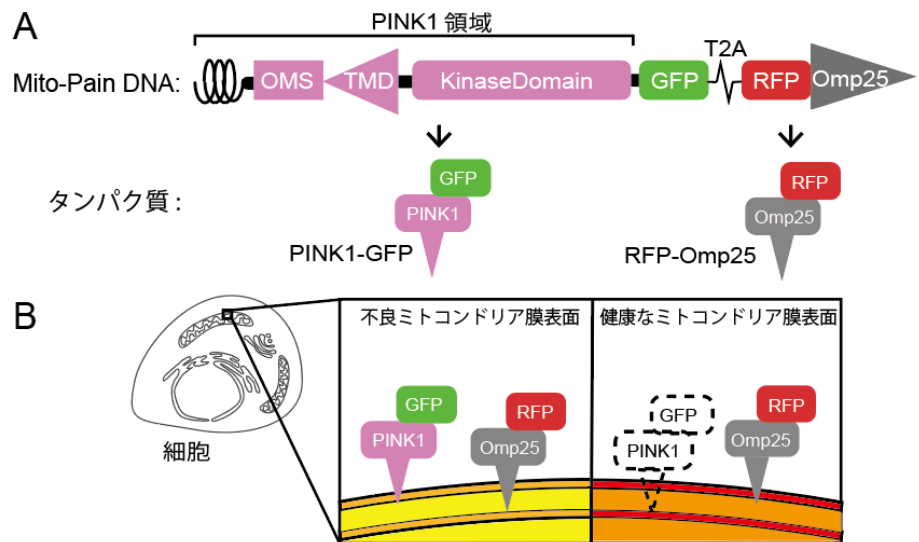


図 2. Mito-Pain の作用機序。(A) Mito-Pain DNA から PINK1-GFP と RFP-Omp25 が等量合成される。(B) Omp25-RFP タンパク質はミトコンドリア膜上に常に存在するが、PINK1-GFP は不良ミトコンドリア膜上のみで存在する。細胞内の RFP (赤) と GFP (緑) の蛍光を測定することで不良ミトコンドリアを識別、解析できる。

**用語解説：**

**注 1) パーキンソン病：**世界で約 1 千万以上が罹患している最も一般的な神経変性疾患のひとつ。ドーパミン神経細胞の脱落によって生じ、ドーパミン神経細胞の脱落には主にミトコンドリア障害が関連すると考えられているが、その治療法は確立されていない。

**注 2) PINK1 遺伝子：**パーキンソン病の原因遺伝子の一つ。遺伝子産物である PINK1 タンパク質は不良ミトコンドリア膜上で安定化すると、Parkin タンパク質にはたらきかけ、不良ミトコンドリアを分解除去するマイトファジーを誘導する。

**注 3) DNA ベクター：**細胞に外来遺伝子を発現させるための DNA からなる供与体。本研究では Mito-Pain DNA 配列とそのタンパク質発現に必要な DNA 領域をコードした DNA。

**論文情報：**

- ・ 掲載誌名：***Journal of Biological Chemistry***
- ・ 論文タイトル：Labeling and Measuring Stressed Mitochondria Using a PINK1-Based Ratiometric Fluorescent Sensor
- ・ 著者：Rie Uesugi, Shunsuke Ishii, Akira Matsuura, Eisuke Itakura
- ・ DOI：<https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.101279>

**本件に関するお問い合わせ・取材のお申し込み**

千葉大学大学院理学研究院 板倉英祐

電話: 043-290-2778 Eメール: [eitakura@chiba-u.jp](mailto:eitakura@chiba-u.jp)