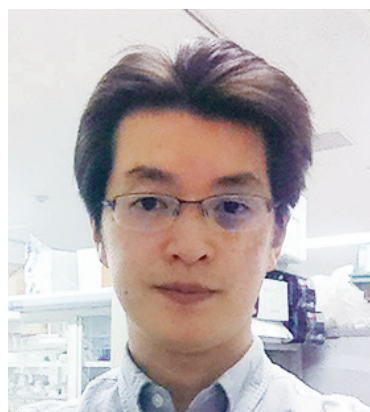


## アフリカツメガエル卵無細胞再構成系を用いた MAM の解析



東京薬科大学 生命科学部  
細胞制御医科学研究室 助教

橋本 吉民



### 研究の要旨

アフリカツメガエル卵抽出液を用いた細胞核や小胞体などのオルガネラ無細胞再構成系は、それぞれの形成機序や機能制御の詳細な生化学的解析に適している。本研究では、小胞体再構成系と単離ミトコンドリアを組み合わせる MAM 構造の再構成系を構築し、MAM 制御因子の機能や細胞周期における MAM の動態、アポトーシスにおける役割などを試験管内で解析する。得られた知見を元に MAM 制御異常と細胞癌化との関連を探る。

### 研究の概要

小胞体とミトコンドリアの接触部位 (mitochondria-associated membrane: MAM) は、ミトコンドリアのダイナミクス、細胞増殖、アポトーシス、オートファジーなどの基本的な生命現象の制御に関わっており、その機能破綻がアルツハイマー病やパーキンソン病などの疾患の原因になり得ると考えられている。しかしながら、MAM 構築因子や制御因子についての研究はまだ始まったばかりであり、その全体像についてはよく分かっていない。本研究では、MAM の役割や形成機構、動態制御について独自の知見を得ることを目的として、MAM 構造の無細胞再構成系の構築に取り組み、試験管内における生化学的研究を進める。

アフリカツメガエルの未受精卵を分画して得られる抽出液は、細胞周期進行、半保存的な染色体複製、アポトーシスなど様々な生命現象や細胞核を始めとした各種オルガネラを試験管内で効率よく再構成できることから無細胞系としてよく用いられている。卵抽出液を用いた小胞体再構成系はすでに実現しており、小胞体関連因子の同定や動態制御の研究に用いられている。本研究では、この系と単離ミトコンドリアを組み合わせることにより MAM 構造の再現を試みる。MAM 再構成系が確立できれば、特異的抗体を用いた免疫除去法により MITOL、Syntaxin17、Mfn2 など既知の MAM 因子の MAM 形成における必要性や詳細な機能を明らかにするとともに、単離した MAM 画分の質量分析により新規因子の探索を試みる。卵無細胞系では細胞周期の状態を間期から分裂期、分裂期から間期へと試験管内で容易に転換できるため、これを利用して MAM 構造や関連因子の細胞周期に伴う変化について解析する。また、ミトコンドリア画分を添加した卵抽出液では、自発的アポトーシスが起きることが知られているが、この際の MAM 構造の関与は不明であり、MAM 因子の除去による影響等を検討する。さらに、これらの解析を通して得られた知見を元にして、他の研究グループと連携して MAM 制御の異常と細胞癌化との関連について検討していく予定である。

### 関連論文

1. Ray Chaudhuri A, Hashimoto Y, Herrador R, Neelsen KJ, Fanchinetti D, Bermejo R, Cocito A, Costanzo V, Lopes M. (2012) Topoisomerase I poisoning results in PARP-mediated replication fork reversal. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 19, 417-23 (査読有)
2. Hashimoto Y, Puddu F, Costanzo V. (2012) RAD51 and MRE11 dependent reassembly of uncoupled CMG helicase complex at collapsed replication forks. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 19, 17-24 (査読有)
3. Hashimoto Y, Ray Chaudhuri A, Lopes M, Costanzo V. (2010) Rad51 protects nascent DNA from Mre11-dependent degradation and promotes continuous DNA synthesis. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 17, 1305-1311 (査読有)
4. Hashimoto Y, Tsujimura T, Sugino A, Takisawa H. (2006) The phosphorylated C-terminal domain of Xenopus Cut5 directly mediates ATR-dependent activation of Chk1. *Genes Cells*, 11, 993-1007 (査読有)