

## Fornicata 生物の持つミトコンドリア関連タンパク質に存在する輸送シグナルの探索

久米 慶太郎 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 稲垣 祐司 (筑波大学 生命環境系)

## Introduction

Fornicata 生物群は嫌気性または微好気性の単細胞生物から構成される単系統の分類群である。この分類群には Diplomonads、Retortamonads、*Carpodomonads-like organisms* (CLOs) などが含まれており、すべての系統で典型的なミトコンドリアを欠く。その代り、ミトコンドリアから進化し、機能が縮退しているミトコンドリア関連オルガネラ (MRO) を有している。その代表例が *Giardia intestinalis* (Diplomonad) の持つマイトソームである。Fornicata 生物群は同じく MRO を有する *Trichomonas vaginalis* が含まれる Parabasalia と互いに姉妹群の関係にある。*Trichomonas* が有する MRO を特にヒドロゲノソームと呼ぶ。

本研究室におけるこれまでのトランスクリプトーム解析で、CLOs の一種である *Dysnectes brevis* NY0165 株および未記載種 NY0171 株における核コードミトコンドリア関連遺伝子が同定され、それらは MRO 内で機能している可能性が高い。典型的なミトコンドリアや *Giardia* のマイトソーム、*Trichomonas* のヒドロゲノソームでは、細胞質で翻訳されたミトコンドリア用タンパク質は N 末端に伸長領域を有し、それらがトランジットペプチドとして認識されることでミトコンドリアや MRO へと輸送されることが知られている。

しかし、*Dysnectes* や NY0171 株において細胞質で翻訳された核コード MRO タンパク質がどのように MRO 内に輸送されるかは不明である。そこで本研究では、トランスクリプトーム解析で同定された MRO 遺伝子がコードするタンパク質が持つ輸送シグナルがどのような特徴を有しているか調べることを目的として実験を行った。

## Materials and Methods

## 全長配列決定:

MRO 遺伝子配列は *Dysnectes* と NY0171 株のトランスクリプトームデータから相同性検索により抽出した。

取得した配列が mRNA の一部しかカバーしていない場合は、それぞれの株の培養細胞から抽出した total RNA を用いて 5' RACE および 3' RACE を行い、mRNA の完全長を決定した。

## 配列比較:

MRO 関連タンパク質に加え、*Trichomonas* のヒドロゲノソーム、*Giardia* のマイトソーム、そしてミトコンドリアの起源に近いとされる  $\alpha$ -proteobacteria の相同タンパク質を用いて、MAFFT v7.015b プログラム及び手動によりアライメントデータを作成した。N 末領域に伸長が見られた配列について、伸長領域の二次構造を、PSIPRED v3.3 プログラムに加え DSC、MLRC、PHD 及び Predator をもちいて予測した。

## Results and Discussion

本研究により、トランスクリプトーム解析及び RACE 法により MRO 関連タンパク質遺伝子について、*D. brevis* 及び NY0171 株からそれぞれ 24 個と 23 個の全長 mRNA 配列を決定することに成功した。また、 $\alpha$ -proteobacteria と比較して、その MRO 関連タンパク質の内、それぞれ 20 個と 19 個のタンパク質について N 末端側に 6-87 アミノ酸残基の伸張配列が存在し、それら以外には N 末端側の伸長は認められなかった。

21 個の MRO 関連タンパク質は、N 末端側に  $\alpha$ -ヘリックスを形成する部分を含むことが推測された。さらにこのヘリックスは、疎水性面及び正に帯電した面を共に含むヘリックス (amphipathic helix) であることが示唆された。この特徴は典型的なミトコンドリアへの輸送シグナルにみられる特徴と類似している。すなわち、機能が縮退した MRO であっても、典型的ミトコンドリアと相同なタンパク質輸送経路を有している可能性が高い。しかし、本研究で推定された MRO タンパク質配列の内、26 個は上述のような特徴を持たなかった。このことは *Dysnectes* や NY0171 株において、新規なタンパク質輸送機構も同時に存在することを示唆している。

伸張配列領域を互いに比較した結果、*Dysnectes* では共通したモチーフは見られなかった。しかし NY0171 株では多くのタンパク質に共通したモチーフ様配列  $\Phi(R/K)\Psi\Phi X(R/K)$  が存在した (疎水性アミノ酸残基:  $\Phi$ 、親水性アミノ酸残基:  $\Psi$ )。その配列は N 末端より 1-30 アミノ酸残基の範囲に存在していた。このモチーフが NY0171 株における新規輸送経路の一端を担っている可能性が考えられた。