ミトコンドリアの形成の生化学

旭 正

Tadashi ASAHII

名古屋大学農学部

1. はじめに

近年、生化学の急速な発展によって、種々の有機低分子生体成分やより複雑な構造の高分子生体成分の生合成の機構が明らかになってきた。とくに、遺伝情報と密接な関係を持ち、一定の構造をもつタンパク質や核酸の生合成の機構についての研究は、分子生物学の進歩とも相まって、めざましい発展をとげている。そのより詳細な機構やその生合成の調節機構などについては、まだ不明な部分もあるが、この方面の研究は非常に数多くあり、必ずや近い将来その全貌が明らかにされるであろう。

しかしながら、一方、タンパク質を中心として脂質や糖などが一定の配列で構成している細胞内の顆粒状の構造が、どのような機構で形成されるかについては、分子レベルでの説明がほとんどなされていない。顕微鏡や電子顕微鏡による細胞内構造の形成に関する知見は数多いが、さらに一歩進んで、この構造形成を生化学的に解析しようとする試みはまだ緒についたばかりといえよう。細胞膜、細胞壁、核、葉緑体、ミトコンドリア、小胞体、ゴルジ体など、数多くの細胞内有形体がどのような機構で形成されるかが、それぞれについて分子レベルで説明されてのみ、細胞分裂、成長、分化などのより高次の生命現象の分子の基礎を明らかにすることができるにちがいない。

細胞内有形体のなかでも、その形成の機構についての興味ある多くの生化的研究が最近累積しはじめたのは、葉緑体とミトコンドリアについてである。これらの細胞内有形体は、後述するように、細胞質遺伝のもとになっている核外遺伝子、つまり核外の DNA をもっている。したがって、これらの細胞内有形体が形成されるさいには、核外遺伝子の遺伝情報がどのような機構で発現し、

どのような役割をもっているのか、核の遺伝子の遺伝情報との関係はどうなっているのか、などが興味の中心となってくる。つまり、これらの有形体の場合には、細胞内の構造形成に関する問題のみにとどまらず、遺伝情報の相互関係やその調節・制御機構の問題にも及んでくるわけである。

ここでは、私たちの研究室でとりあげているミトコンドリアの形成について、最近の生化学的研究の進展の状況を紹介し、今後の問題点にも言及して、細胞内有形体形成機構の分子レベルでの説明への道の現状を解説してみたい。

2. ミトコンドリアの構造

ミトコンドリアの構造、とくにその微細構造および構造と機能との関係などについては、数多くのすぐれた総説もあり、周知の事実も多いので、ここでその全体を解説することはさしひかえたい。ここでは、ミトコンドリアの形成の機構についての研究を理解するうえで必要な事項についてのみ、簡単に説明するにとどめたい。

よく知られているように、ミトコンドリアは径が $0.5 \sim 3.0 \mu$ 程度の球ないし楕円体の形をした微粒子で、内外2種の膜と可溶性部分とからなっている。図1に示すように、内膜は約 $60 \text{ \AA}$ 、外膜は約 $50 \text{ \AA}$ の厚さで、ともにタンパク質とリン脂質とからなる生物の基本膜 (unit membrane) の一種である。とくに内膜は、頭部、柄部および基底部の3部分からなる三分体型基本粒子の集まりであることが知られており、この内膜がひだ状に内部に突起してクリステ (cristae) を形成している。内膜で囲まれた内側の部分は、可溶性タンパク質を含み、マトリクス (matrix) とよばれている部分であり、外膜と内膜との間やクリステの内膜間の間隙は膜間層とよばれている。

ミトコンドリア全体

クリステ部分の拡大図

内膜の微細構造

図 1 ミトコンドリアの構造の模型図

表 1 ミトコンドリア内の酵素の分布

外 膜	モノアミノオキシダーゼ ATP 従属 fatty acyl CoA 合成酵素 リゾフォスファチッドアシル転移酵素 コリンリン酸転移酵素 フォスフォリパーゼ A _{II}	キヌレニンヒドロキシラーゼ グリセロールリン酸アシル転移酵素 リゾレシチンアシル転移酵素 フォスファチッドフォスファターゼ スクレオシド 2 リン酸キナーゼ
	アデニル酸キナーゼ スクレオシドリン酸キナーゼ	スクレオシド 2 リン酸キナーゼ
内 膜	チトクロム a ₁ , a ₃ チトクロム c ₁ NADH デヒドロゲナーゼ フェロキレーターゼ 酸化的リン酸化系酵素	チトクロム b コハク酸デヒドロゲナーゼ β-ヒドロキシブチル酸デヒドロゲナーゼ カルニチンパルミチル転移酵素
	リンゴ酸デヒドロゲナーゼ グルタミン酸デヒドロゲナーゼ ピルビン酸デヒドロゲナーゼ アコニターゼ 脂肪酸酸化酵素 フォスフォピルビン酸カルボキシラーゼ ピルビン酸カルボキシラーゼ	イソクエン酸デヒドロゲナーゼ α-ケトグルタル酸デヒドロゲナーゼ クエン酸合成酵素 フマラーゼ Fatty acyl CoA 合成酵素 トランスアミナーゼ (アスパラギン酸) オルニチンカルバモイル転移酵素

ミトコンドリアは、好氣的細胞におけるエネルギー生産の場であって、呼吸酵素、リン酸化に関与する酵素、トリカルボン酸サイクルの酵素、脂肪酸酸化に関与する酵素などが局在している粒子である。表 1 は、これらの酵素がミトコンドリア内のどの部位に存在しているかを肝臓のミトコンドリアを例にとって示したものである。呼吸酵素やリン酸化に関与する酵素は、内膜つまりクリステに局在し、容易に可溶化することができない。内膜

を構成する三分体型基本粒子のどの部位にこれらの酵素が存在しているかは興味ある問題であるが、確立した結論は得られていない。コハク酸デヒドロゲナーゼをのぞくトリカルボン酸サイクルの酵素や脂肪酸酸化系の酵素は、マトリクスに存在するという考えがたつよく、これらの酵素はミトコンドリアをこわすとただちに溶出してくる、いわゆる可溶性酵素である。

図 2 はミトコンドリア内の可溶性酵素、不溶性酵素、およびそのほかの構成成分のだいたいの比率を図示したものである。可溶性タンパク質と膜にかく結合している不溶性タンパク質との含有比は、器官によりかなり異なることがわかる。表 2 は、

サツマイモ塊根組織から切片をつくり、これを 30°C に 2 日間インキュベートしたときの、インキュベート前後の切片組織のミトコンドリア内の可溶性タンパク質と不溶性タンパク質との含有比を示したものである。この表から、インキュベート後の組織のミトコンドリアでは、不溶性タンパク質の含有比が増加していることがわかる。このように、ミトコンドリア内の諸成分の含有比率は、器官が異なったり、環境が変化したりすると大きく変化

図 2 ミトコンドリアの組成

表 2 サツマイモ塊根組織のミトコンドリアの可溶性および不溶性タンパク質の含量⁽¹⁾

	組織 1g 当りのミトコンドリアのタンパク質の量 (μg)		全ミトコンドリアタンパク質に対する不溶性タンパク質含量比 (%)
	可溶性タンパク質	不溶性タンパク質	
新鮮な組織	20.0	27.9	58.2
切片にして 30°C で 2 日間インキュベートした組織	32.2	60.0	65.1

し、一定ではない。

膜に結合している不溶性タンパク質のうち、その約半分は特別な酵素作用をもたない構造タンパク質とよばれているタンパク質である。このタンパク質は分子量が約 23,000 で、C 末端アミノ酸や N 末端アミノ酸の分析結果などからみると均一なタンパク質である。構造タンパク質は、NADH, ATP, リンゴ酸デヒドロゲナーゼなどと 1:1 の比率で結合する。こうした生物学的機能の面からみても、構造タンパク質は均一なタンパク質であると考えられる。しかしながら、アクリルアミドゲル電気泳動などでは、構造タンパク質は数種のタンパク質に分かれる。これらのタンパク質を分画してその性質を比較してみると、きわめて類似している。アミノ酸組成やペプチドマップなどで共通性が多く、わずかな点で異なっているにすぎない。したがって、ミトコンドリアには、構造がわずかに異なる数種の構造タンパク質が存在し、これらの構造タンパク質は生物学的機能の点ではほとんど同じ性質で、補酵素、酵素タンパク質、リン脂質などと特異な複合体をつくっているものと考えられる。そして、この構造タンパク質が中心となって膜の構造をつくりあげているものと解される。

3. ミトコンドリアの DNA

前に述べたように、葉緑体とミトコンドリアはそれぞれ核の DNA とは異なる特有の DNA をわずかながら含んでいる。ミトコンドリアにおける DNA の存在は、電子顕微鏡写真、³H-チミンによるラベル、分離した DNA の物理的性質の差などにより証明されている。図 3 (A) に例示したように、ミトコンドリアの DNA は核の DNA と密度が異なり、CsCl の密度勾配遠心分離

図 3 酵母のミトコンドリア DNA の CsCl 密度勾配遠心図⁽²⁾

表 3 呼吸酵素およびリン酸化の酵素の分子量

酵 素	分 子 量
NADH デヒドロゲナーゼ	1,000,000
コハク酸デヒドロゲナーゼ	200,000
チトクロム <i>b</i>	28,000
チトクロム <i>c</i> ₁	40,000
チトクロム <i>c</i>	12,000
チトクロム <i>a</i>	70,000
小計	
Coupling factor site I	60,000
site II	60,000
site III	60,000
小計	
D-β-ヒドロキシブチル酸デヒドロゲナーゼ	60,000
α-グリセリン酸デヒドロゲナーゼ	60,000
Acyl-CoA デヒドロゲナーゼ	60,000
フラボプロテイン	60,000
トランスヒドロゲナーゼ	60,000
小計	
合計	
	1,830,000

法を用いて核の DNA と区別することができる。

Tetrahymena や *Neurospora* などの下等生物のミトコンドリアの DNA は 分子量が $4\sim 7\times 10^7$ であるが、これら一部の例外をのぞいては、だいたい $0.9\sim 1.1\times 10^7$ で、環状の二重らせん構造をもつ分子である。ミトコンドリア 1 個当り数分子の DNA が含まれているが、特殊な例をのぞいては、これらの DNA 分子は互いに相同な分子であるという考えがよい。したがって、ミトコンドリアの DNA が遺伝的に支配しうるタンパク質の総量は、分子量にして約 600,000 前後に相当する量のタンパク質にすぎない。つまり、平均分子量を 25,000 と仮定すると、20~25 種のタンパク質の構造を遺伝的に制御しているにすぎない。表 3 は呼吸酵素、リン酸化に関与する酵素、および膜にたく結合しているその他の酵素の分子量を示したもので、これらの酵素のみで分子量は約 1,830,000 になる。このことからわかるように、ミトコンドリアの DNA は、呼吸酵素やリン酸化に関与する酵素などの呼吸機能の基本となる酵素群すらも全面的に遺伝的に支配することはできないわけである。ミトコンドリアには、前述したように、構造タンパク質、トリカルボン酸サイクルの酵素、脂肪酸酸化系の酵素など、数多くの種類のタンパク質が存在している。したがって、ミトコンドリアの DNA が遺伝的に制御しているタンパク質は、ミトコンドリア内に存在する諸タンパク質のうちごくわずかに限られているものと考えられる。

アカパンカビや酵母などでは、細胞質遺伝をする呼吸欠損変異株が古くより見いだされている。Mitchell と

Mitchell⁽³⁾ はアカパンカビの変異株について、また Ephrussi⁽⁴⁾ は酵母の変異株について生化学的研究を進め、これらの細胞質遺伝をする呼吸欠損菌では、チトクロム類などが欠けていることを明らかにした。Reich と Luck⁽⁵⁾ によると、アカパンカビ (*N. crassa*) の細胞質遺伝をする呼吸欠損変異株である *mi-1* 株 (通称 *poky* 株) のミトコンドリアの DNA は、1.698 および 1.702 g/cm³ の密度の 2 種類の DNA をもつ。一方、*N. sitophilus* の野生株の場合には、上記の 2 種の DNA ほかに、さらに 1.692 g/cm³ の密度の DNA を含む。*N. crassa* *mi-1* 株を母系とした両者のかけ合わせの子孫は、すべて呼吸欠損菌であると同時に、そのミトコンドリアの DNA はまったく *N. crassa* *mi-1* のものと同じで、1.692 g/cm³ の密度の DNA は見いだされない。また、Mounolou ら⁽²⁾ は、図 3 に示したように、細胞質遺伝をする酵母の呼吸欠損変異株 *petite ρ⁻* 株のミトコンドリアの DNA は、野生株の DNA と密度が異なることを見いだしている。

以上のような事実より、ミトコンドリアの DNA は *poky* 株や *petite ρ⁻* 株などの呼吸欠損菌で変異している細胞質遺伝子の本体であることは明らかである。そして、ミトコンドリアの DNA はミトコンドリア内の諸タンパク質のうち、ごく限られたタンパク質のみを遺伝的に制御しているにすぎないといえ、呼吸機能をもつミトコンドリアを形成するうえで欠くことのできない重要な遺伝情報の持主である。

一方、ミトコンドリアの DNA は、核の DNA の場合と同じように、“semiconservative” に複製される⁽⁶⁾。この複製には、ミトコンドリアに存在する特有の DNA ポリメラーゼが関与しているという数多くの報告もみられる。また、ミトコンドリアの DNA は数種の例外をのぞいて、正常の条件のもとでは細胞分裂時のみ増加し、核の DNA が複製されるよりも少し早期に複製されるらしい^(6,7)。これらの結果を総合すると、ミトコンドリアの DNA は新たにミトコンドリアが形成されるさいに複製して、新しいミトコンドリアにわたされるらしい。普通の場合には、細胞分裂のさいにミトコンドリアも増加し、ミトコンドリアの DNA は核の DNA が複製される時期よりも少し早期に複製増加する。したがって、後に述べるように、ミトコンドリアが分裂して増加すると考えると、以上の DNA の増加をよく説明することができる。

4. ミトコンドリアにおけるタンパク質合成系

ある種の生物組織では、*in vivo* で ¹⁴C-アミノ酸を与

表 4 ミトコンドリアのリボソームと r-RNA

ミトコンドリア	沈 降 定 数 (S)		文献
	リボソーム	r-RNA	
アカバシカビ	73~81	17~19, 25	13, 14
<i>Aspergillus nidulans</i>	—	15.5, 23.5	15
酵 母	—	12.7, 12.8, 22.4	16
ラ ッ テ 肝	55	—	17, 18
<i>Xenopus</i>	60	13, 21	19
Hamster BHK 21 cell	—	17, 27	20

えると、 ^{14}C -アミノ酸はミクロソームのタンパク質へのとりこみの速度におとらぬ速度でミトコンドリアのタンパク質へもとりこまれる。このことから、ミトコンドリア内でもタンパク質が合成されるのではないかとみなされていた。1960年代の初期より、種々の生物のミトコンドリアを用いて、*in vitro* で ^{14}C -アミノ酸がタンパク質にとりこまれることが証明された。このようにして、ミトコンドリア内には固有のタンパク質合成系があり、前節で述べたミトコンドリアの DNA のもつ重要な遺伝情報は、このミトコンドリア内のタンパク質合成系によって発現されるにちがいないと考えられるようになった。

すでに、種々の生物のミトコンドリアで DNA 依存 RNA 合成酵素の存在が認められており^(8~10)、ミトコンドリアの DNA と hybridize する m-RNA の存在も報告されている⁽¹¹⁾。ミトコンドリアでの RNA 合成は、バクテリアの DNA 依存 RNA 合成酵素の阻害剤である rifamycin でつよく阻害されるが、核での RNA 合成は阻害されないという⁽¹²⁾。すなわち、ミトコンドリアにはそれ特有の DNA 依存 RNA 合成酵素が存在する。

さらに、ミトコンドリアには、細胞質のリボソームとは異なるリボソームが存在することが、電子顕微鏡写真や生化学的方法などによって確認されている。表 4 は、ミトコンドリアのリボソームとその RNA の性質を示したものである。これらの沈降定数は、一般の高等生物の細胞質のリボソームや r-RNA と異なり、どちらかといえばバクテリアのそれらに近い。また、細胞質のリボソームによるタンパク質合成を阻害する cycloheximide は、ミトコンドリアでのタンパク質合成を阻害しないし、chloramphenicol はミトコンドリアでのタンパク質合成を阻害し、細胞質のリボソームでの合成は阻害しない。

図 4 はその一例で、サツマイモ塊根組織の切片を 30°C においたときにおこる細胞質での急速なタンパク質合成(ペルオキシダーゼ活性の増加)と、ミトコンドリアでの合成(チトクロムオキシダーゼ活性の増加)とに対する chloramphenicol と cycloheximide の影響を示し

図 4 サツマイモ塊根組織の切片のインキュベート中のペルオキシダーゼおよびチトクロムオキシダーゼ活性の増加におよぼす抗生物質の影響

(A) Chloramphenicol の影響

(B) Cycloheximide の影響

○—○ 対照区, △---△ 抗生物質処理区

ペルオキシダーゼ活性は 1 g の組織当りの活性単位 $\times 10^{-4}$, チトクロムオキシダーゼ活性は 1 g の組織当りの 550 m μ の吸収の 1 分当りの減少量で示した。

たものである⁽²¹⁾。バクテリアのタンパク質合成系は chloramphenicol で阻害され、cycloheximide では阻害されない。

一方、アカバシカビのミトコンドリアには、少なくとも 18 種の t-RNA が存在することが認められている。そして、アカバシカビが 2 種類ずつもっている asparatyl t-RNA 合成酵素および phenylalanyl t-RNA 合成酵素のうち、それぞれ 1 種類ずつはミトコンドリアの t-RNA のみに特異的に作用する⁽²²⁾。このようなミトコンドリア内には特有の t-RNA が存在し、ミトコンドリア内でアミノ酸が活性化されるという数多くの報告がみられる。

以上のように、ミトコンドリアのなかには特有のタンパク質合成系があり、ミトコンドリアの DNA の遺伝情

報の発現に関与しているらしい。ミトコンドリアのタンパク質合成系はバクテリアのそれに種々の点で類似していて、高等生物の細胞質でのタンパク質合成系と異なるということは注目すべきであろう。

5. ミトコンドリアのタンパク質の遺伝支配

前に述べたように、ミトコンドリアの DNA が遺伝的に制御しうるタンパク質はせいぜい 20 数種程度にすぎない。しかも、ミトコンドリアの r-RNA がミトコンドリアの DNA と hybridize するという証拠も報告されている。したがって、ミトコンドリアの DNA が遺伝的に制御しているタンパク質は、ミトコンドリア内のタンパク質のうちのごく少数にすぎない。その他の大部分のタンパク質は核の遺伝子の支配のもとにおかれているにちがいない。では、どのタンパク質がミトコンドリア内の遺伝子の支配をうけているのであろうか。

アカパンカビの呼吸欠損菌のうち、細胞質遺伝子の変異株である mi-1 (poky) 株では、チトクロム *a*, *a*₃ および *b* がきわめて少なく、チトクロム *c* は野生株よりもむしろ多い⁽³⁾ (表 5 参照)。酵母の細胞質遺伝をする呼吸欠損菌 petite *ρ*⁻ 株でも、チトクロム *a*, *a*₃ および *b* が欠けていることがわかっている⁽²⁴⁾。一方、同じ呼吸欠損菌のなかでも、核の遺伝子の変異株である cy 株では、チトクロム *a*, *a*₃ および *b* などの含量は野生株とはほとんど同じであるが、チトクロム *c* の含量に異常がみられる⁽²⁵⁾。野生株には一次構造が異なる 2 種類のチトクロム *c* があり、iso-1-チトクロム *c*, iso-2-チトクロム *c* とよばれている。cy 株のうちのある株 (cy₁ 株) では、iso-1-チトクロム *c* の合成能が欠けており、他の数種類の cy 株では両方のチトクロム *c* が極端に少ない⁽²⁶⁾。チトクロム *c* はチトクロム *a*, *a*₃, *b* などとちがって可溶性のタンパク質で、以上の遺伝学的研究からみて、膜とたく結合しているチトクロムはミトコンドリアの遺伝

表 5 アカパンカビ呼吸欠損菌 poky 株の呼吸酵素含量⁽²³⁾

	野生株の含量を 100 としたときの含量
チトクロム <i>c</i>	1,500
チトクロム <i>b</i>	—
チトクロム <i>a</i> + <i>a</i> ₃	—
チトクロムオキシダーゼ	13
コハク酸オキシダーゼ	10
脂 肪 酸	1,500
コハク酸デヒドロゲナーゼ	111
カタラーゼ	119

表 6 リンゴ酸デヒドロゲナーゼのミカエリス定数に対する野生株および変異株の構造タンパク質の影響⁽²³⁾

加えた物質	ミカエリス定数, <i>K_m</i> (mM)				
	野生株の MDH*	変異株の MDH*			
		24**	10**	20**	7**
対 照	0.72	1.1	2.1	2.9	1.4
野生株のミトコンドリア	2.5	100	140	250	660
野生株のミトコンドリアの膜	2.5	25	50	100	250
野生株の構造タンパク質	0.75	3.3	7.0	10	33
mi-1 株の構造タンパク質	500	6.0	3.0	3.0	1.4
mi-3 株の構造タンパク質	40	4.0	1.7	1.2	4.5

* MDH: リンゴ酸デヒドロゲナーゼ

** 変異株の株番号

子の支配下にあり、可溶性のチトクロムは核の遺伝子の支配をうけていると考えられる。

Woodward と Munkres^(23,27) は、アカパンカビの細胞質遺伝子の変異株である呼吸欠損菌 mi-1 株のミトコンドリアの構造タンパク質をしらべたところ、野生株のタンパク質の 3 個のトリプトファンのうち 1 個がシステインに変わっていることを見いだした。このように、アミノ酸 1 個が置き換わっている変異株の構造タンパク質は、表 6 に示したように、リンゴ酸デヒドロゲナーゼに対する生化学的影響が変化している。同じようなことは、同じ細胞質遺伝子の変異株である呼吸欠損菌 mi-3 の構造タンパク質についてもみられる。おそらく、これらの変異株の構造タンパク質は、リン脂質やチトクロムなどとの相互作用においても変化しているにちがいない。表 5 に示した poky 株でのチトクロム *a*, *a*₃, *b* などの欠損も、構造タンパク質の変化が原因している可能性もある。Woodward と Munkres の研究は、構造タンパク質の純度に疑問もあるが、いずれにせよ、ミトコンドリアの DNA が構造タンパク質を遺伝支配していることは明らかであろう。

表 6 に示されているように、アカパンカビの変異株のなかにはリンゴ酸デヒドロゲナーゼの性質が野生株のとは異なるものが見つかった。野生株の酵素にくらべると、ミカエリス定数や構造タンパク質による影響のうけ方などが変化している。これらの変異株は核の遺伝子の変異株である。

以上のような変異株の研究から、構造タンパク質、チトクロム *a*, *a*₃, *b* などの膜につよく結合しているタンパ

ク質はミトコンドリアの遺伝子の支配をうけており、チトクロム *c*、リンゴ酸デヒドロゲナーゼなどのトリカルボン酸サイクルの酵素など、いわゆる可溶性の酵素は核の遺伝子の支配をうけていることが示唆されている。

一方、*in vitro* でミトコンドリアに ^{14}C -アミノ酸を与えてタンパク質を合成させ、 ^{14}C -アミノ酸がとりこまれるタンパク質をしらべると、それは主として構造タンパク質である^(28,29)。アクリルアミドゲル電気泳動によって構造タンパク質を分けると、 ^{14}C -アミノ酸のとりこみの程度にはタンパク質の間の差異がみられる⁽²⁹⁾。

しかし、いずれにせよ、チトクロム *c* やトリカルボン酸サイクルの酵素などの可溶性タンパク質には ^{14}C -アミノ酸はとりこまれない。こうした *in vitro* でのタンパク質合成の実験結果は、前述の変異株を用いて得られたタンパク質の遺伝支配に関する結論をつよく支持している。

Linnane ら^(30,31) は抗生物質を用いて同じ結論を得ている。酵母をミトコンドリアでのタンパク質合成を選択的に阻害する chloramphenicol の存在で生育させると、チトクロム *a*, *a*₃, *b* などの形成がおさえられ、内膜やクリステの形成も不完全であるが、チトクロム *c* は正常ないしそれよりやや多めに形成される。一方、細胞質のリボソームでのタンパク質合成を阻害する cycloheximide は、チトクロム *a*, *a*₃, *b* などの形成に影響を与えない。

以上のような種々の研究のほかにも、ミトコンドリア内のリボソームの形成、リン酸化に関与する酵素であるアデノシントリフォスファターゼや DNA ポリメラーゼなどの形成に核の遺伝子が関与するという報告もみられる。いずれにせよ、ミトコンドリアの DNA が遺伝的に制御しているタンパク質は構造タンパク質とチトクロム *a*, *a*₃, *b* などで、可溶性タンパク質などその他の大部分のタンパク質は核の遺伝子によって支配されているものと考えられる。

6. ミトコンドリアの形成の機構

以上のように、ミトコンドリアの DNA が遺伝支配しているのは膜にかたく結合している少数種のタンパク質のみである。これらのタンパク質はミトコンドリアのなかのタンパク質合成系を通じてつくられ、ミトコンドリアの構造の形成に重要な役割をもっている。

一方、明らかに、核の遺伝子によって制御されている多種多様のタンパク質がミトコンドリア内に存在している。これらのタンパク質はなんらかの機構でミトコンドリアの構造の内部に組みこまれる必要がある。したがっ

て、これらのタンパク質がどこでつくられ、ミトコンドリアの内部へいかにしてとり入れられていくかが当面する大きな課題の1つである。

この問題に立入る前に、ミトコンドリアがいったい細胞のどの部分からつくられてくるのかを述べる必要がある。しかしながら、現在までのところ、ミトコンドリアが細胞のどの部分からつくられるかについては種々の説があり、確実な証拠をもつ定説は確立していない。これらの説のなかで、つぎの2つが比較的有力な説と考えられている。

1) ミトコンドリアの膜は、前に述べたように、生物の基本膜の一種であり、他の生体膜との類似性から、ミトコンドリアは細胞膜や核膜がくびれてつくられるとする考えがある。この考えを支持する電子顕微鏡写真も報告されている。バクテリアのメゾソームが呼吸酵素系を多く含んでいることなどから、細胞膜がくびれてミトコンドリアが形成されると考える人も多い。また核膜がくびれてミトコンドリアの膜がつくられるという考えは、核の遺伝子によるミトコンドリアのタンパク質の遺伝的な支配を説明するうえで有利と考えられる。しかしながら、これらの場合には、ミトコンドリアの遺伝子がどのように新しいミトコンドリアにうけつがれるかを説明しにくい。

2) ミトコンドリアはそれ自体が分裂して増加するという考えがより有力のように思われる。電子顕微鏡写真で、中央が膜でしきられ2つの部分に分かれていて、分裂寸前と思われるようなミトコンドリアがしばしば観察される。Luck⁽³²⁾ は、このミトコンドリアが分裂によって増加するという説を生化学的方法を用いて支持する結果を報告している。彼はアカパンカビのコリン要求株にまず ^{14}C -コリンを与え、 ^{14}C でミトコンドリアの脂質をラベルし、その後に ^{12}C -コリンを多量に与えて増殖させた。そして、 ^{14}C -脂質のミトコンドリア間の分布状況をしらべたところ、すべてのミトコンドリアに均等に ^{14}C が分布していることを見いだした。前述のような DNA の複製などに関する生化学的研究からみても、ミトコンドリアは分裂して増加するという考えはきわめて有力な考えといえよう。

さて、このようにミトコンドリアが自ら分裂して増加すると考えると、核の遺伝子によって制御されているタンパク質がミトコンドリアの内部にどのようにとり入れられるかがますます問題となる。Kadenbach⁽³³⁾ は、 ^{14}C -アミノ酸を *in vitro* でミクロソームに与え、タンパク質にとりこませ、このミクロソームとミトコンドリ

アをインキュベートすると、ミクロソームの ^{14}C -タンパク質がミトコンドリアへ移行することを見いだした。また、González-Cadavid と Campbell⁽³⁴⁾ によると、ラッテ肝では細胞中の全チトクロム *c* の約 1/10 がミクロソーム分画に存在しており、ラッテに ^{14}C -リジンを注射すると、このミクロソームのチトクロム *c* がミトコンドリア中のチトクロム *c* よりもつよく ^{14}C でラベルされるという。したがって、ミトコンドリア内の核の遺伝子支配のタンパク質は細胞質のリボソーム上で合成され、なんらかの機構でミトコンドリアの内部にとり入れられるにちがいない。チトクロム *c* は分離したミトコンドリアの外膜を通して内部に入りえないので、おそらくミトコンドリアの特殊な時期——たとえば分裂のさい——にとり入れられるのかもしれない。

以上を要約すると、ミトコンドリアは分裂して増加し、ミトコンドリアの DNA もこの間に複製されて両方のミトコンドリアに分布する。このさい、核の遺伝子によって制御されているタンパク質がなんらかの機構で導入される。一方、ミトコンドリア内の遺伝子支配のタンパク質は、ミトコンドリア内のタンパク質合成系によってつくられ、ミトコンドリアの構造形成に関与する。しかし、これらのより詳細な機構は不明な点が多く、今後の生化学的研究の発展がのぞまれる。とくに、構造形成にさいしてのリン脂質の役割やその形成の経過についての研究はほとんどなく、今後この方面の研究の蓄積も期待される。

7. ミトコンドリアの形成の調節

第3節で述べたように、ミトコンドリアの DNA の複製は細胞分裂のさいに行なわれる^(6,7)。多くの場合に、細胞当りのミトコンドリアの数は、一定の条件のもとではある組織についてはだいたい一定である。植物の根では、分裂直後の細胞のミトコンドリアはクリステが少なく、細胞の伸長肥大に伴ってクリステが多くなるらしい⁽³⁵⁾。このような事実から推論して、ミトコンドリア

表 7 ダイコクネズミの心臓・肝臓およびウシの肝臓のミトコンドリアの構造の比較⁽³⁶⁾

ミトコンドリア	ダイコクネズミ 心臓	肝臓	ウシ 肝臓
外膜の長さ(μ)*	2.83	2.62	3.32
クリステの長さ(μ)*	7.37	1.99	0.86
クリステの数*	34	12	6
チトクロム <i>a</i> の濃度**	0.66	0.18	0.08

* 1 個のミトコンドリアの長さあるいは数。
** ミトコンドリアのタンパク質 1 g 当りの μ mole 数。

図 5 サツマイモ塊根組織の切片のインキュベート中のミトコンドリアの数およびタンパク質合成能の増加^(38,39)

- (A) ミトコンドリアの数の増加
 - ミトコンドリアの数
 - △—△ チトクロムオキシダーゼ活性
- (B) タンパク質合成速度の増加
 - ^{14}C -ロイシンのミトコンドリアのタンパク質へのとりこみ速度 (dpm/0.05 g の組織/時)。
 - △—△ ^{14}C -ロイシンの上清のタンパク質へのとりこみ速度 (dpm/0.01 g の組織/時)。
 - 組織切片の ^{14}C -ロイシンの吸収速度 (dpm/10⁻⁴g の組織/時)。
 - チトクロムオキシダーゼ活性 (4OD_{550mμ}/1g の組織/分)。

の形成は細胞の分裂・生長と密接な関係をもっているものと考えられる。
ミトコンドリアの種々のタンパク質の含量比が器官によって異なることは、すでに第2節で述べた。表7は動物の器官によるミトコンドリアの構造のちがいを示したもので、クリステの量が器官、動物の種類によりかなり異なることがわかる。

以上のように、ミトコンドリアの形成は分裂・生長・分化などの細胞の内的要因によってつく影響を受ける。この細胞の内的要因は核の遺伝情報の発現の状態の反映とも考えられるから、ミトコンドリアの形成と核の遺伝情報の発現との間にどのような関連がなり立っているかが、今後の大きな課題となってくる。

一方、古くより、酵母でミトコンドリアが酸素により誘導形成されることが知られている。酵母を無酸素のもとで育てるとミトコンドリアはみられず、プロミトコンドリアとよばれる粒子が観察される。このプロミトコンドリアは呼吸酵素をほとんど含まず、酸化的リン酸化に関与するアデノシン三リン酸合成酵素、コハク酸デヒドロゲナーゼなどのみを含む。そして、酸素の存在下に移すと、チトクロム類の合成が誘導され、ミトコンドリアへと変化する。動物細胞の場合でも、酸素が少ないときにはチトクロム類が少なく、酸素を多くするとこれらのチトクロムの生成が誘導される⁽³⁷⁾。また、前に述べたように、サツマイモの塊根組織の切片を 30°C でインキュベートすると、ミトコンドリア内のタンパク質の組成が変わる⁽⁴⁾。図 5 はこのインキュベート中にミトコンドリアが増加し、ミトコンドリアのタンパク質の合成速度が増加することを示したものである。

このように、ミトコンドリアの形成は外的要因によっても重大な影響を受ける。したがって、内的要因による影響とともに、外的要因がいかにミトコンドリアの形成に影響を及ぼすかも今後の重要な課題の 1 つとなってくる。しかも、このような内的および外的要因の変化によるミトコンドリアの形成の変化は呼吸活性の変動を誘起しているので、今まで細胞の呼吸活性の調節が主として細胞内の ADP の量の点のみから討論されてきたが、今後、上述のようなミトコンドリアの形成の調節を通じての呼吸活性の調節を重要視せざるをえなくなるであろう。したがって、今後ミトコンドリアの形成の機構に関する研究とともに、ミトコンドリアの形成の調節機構についても、生化学的研究が進められるべきである。

文 献

- 1) 坂野勝啓, 旭 正: 未発表.
- 2) J. C. Mounolou, H. Jakob and P. P. Slonimski : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **24**, 218 (1966).
- 3) H. K. Mitchell and M. B. Mitchell : *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **38**, 442 (1952).
- 4) B. Ephrussi: "Nucleo-cytoplasmic Relations in Microorganisms", Clarendon Press, Oxford (1953).
- 5) E. Reich and D. J. L. Luck : *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **55**, 1600 (1966).
- 6) T. E. Evans : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **22**,

- 678 (1966).
- 7) D. Smith, P. Tauro, E. Schweizer and H. O. Halvorson : *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **60**, 936 (1968).
- 8) E. Wintersberger : *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, **336**, 285 (1964).
- 9) G. F. Kalf : *Biochemistry*, **3**, 1702 (1964).
- 10) D. J. L. Luck and E. Reich : *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **52**, 931 (1964).
- 11) S. Comorosan, A. Gaspar and D. Sandru : *Biochim. Biophys. Acta*, **166**, 394 (1968).
- 12) Z. G. Shmerling : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **37**, 965 (1969).
- 13) M. R. Rifkin, D. D. Wood and D. J. L. Luck : *Fed. Proc.*, **58**, 1025 (1967).
- 14) H. Kuntzel and H. Noll : *Nature*, **215**, 1340 (1967).
- 15) M. Edelman, I. M. Verma and U. Z. Littauer : *J. Mol. Biol.*, **49**, 67 (1970).
- 16) P. J. Rogers, B. N. Preston, E. B. Titchener and A. W. Linnane : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **21**, 405 (1967).
- 17) T. W. O'Brien and G. F. Kalf : *J. Biol. Chem.*, **242**, 2172 (1967).
- 18) T. W. O'Brien and G. F. Kalf : *J. Biol. Chem.*, **242**, 2180 (1967).
- 19) R. F. Swanson and I. B. Dawid : *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **66**, 117 (1970).
- 20) D. T. Dubin and R. E. Brown : *Biochim. Biophys. Acta*, **145**, 538 (1967).
- 21) T. Asahi and R. Majima : *Plant & Cell Physiol.*, **10**, 317 (1969).
- 22) W. E. Barnett and D. H. Brown : *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **57**, 452 (1967).
- 23) D. O. Woodward and K. D. Munkres : "Organizational Biosynthesis", ed. by H. J. Vogel, J. O. Lampen and V. Bryson, Academic Press, New York, 1967, p. 489.
- 24) F. Sherman and P. P. Slonimski : *Biochim. Biophys. Acta*, **91**, 1 (1964).
- 25) F. Sherman : *Genetics*, **49**, 39 (1964).
- 26) F. Sherman, H. Taber and W. Campbell : *J. Mol. Biol.*, **13**, 21 (1965).
- 27) D. O. Woodward and K. D. Munkres : *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **55**, 872 (1966).
- 28) D. B. Roodyn : *Biochem. J.*, **85**, 177 (1962).
- 29) D. Halder, K. Freeman and T. S. Work : *Nature*, **211**, 9 (1966).
- 30) A. W. Linnane, D. R. Biggs, M. Huang and G. D. Clark-Walker : "Aspects of Yeast Metabolism", ed. by A. K. Mills, Blackwell Scientific Publication, Oxford, 1968, p. 217.
- 31) D. G. Clark-Walker and A. W. Linnane : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **25**, 8 (1966).
- 32) D. J. L. Luck : *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **49**, 233 (1963).
- 33) B. Kadenbach : *Biochim. Biophys. Acta*, **134**, 430 (1966).
- 34) N. F. González-Cadavid and P. N. Campbell : *Biochem. J.*, **105**, 427 (1967).
- 35) 旭 正 : 生化学, **41**, 643 (1969).
- 36) 小田琢三 : "細胞生物学", 中原和郎他編, 朝倉書店, 1967, p. 146.
- 37) D. A. Pious : *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **65**, 1001 (1970).
- 38) K. Sakano and T. Asahi : *Agr. Biol. Chem.*, **33**, 1433 (1969).
- 39) T. Asahi, Y. Honda and I. Uritani : *Plant Physiol.*, **41**, 1179 (1966).