

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 23 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	ミトコンドリア膜動態による生命機能制御の分子基盤理解
研究機関・ 部局・職名	久留米大学・分子生命科学研究所・教授
氏名	石原 直忠

1. 当該年度の研究目的

ミトコンドリアは真核細胞内のエネルギー産生において中心的な機能を持つのみならず、アポトーシス・酸化ストレスなど様々な細胞制御にも関与しているため、生命科学・医学の幅広い領域で大きく注目を集めている。特に、二重膜構造のオルガネラであるミトコンドリアは、細胞内でその構造をダイナミックに変化させており、それが様々な生命機能・病態に関与することが分かりつつある。本研究計画 H23 年度は、ミトコンドリア形態制御因子と結合する新規関連因子を同定しその詳細理解を行うこと、ミトコンドリアの品質管理に関わる細胞内分解システムについての分子機構解析を行うこと、またマウス遺伝学的解析によりマウス個体におけるミトコンドリアダイナミクスの生理機能解析を行うこと、などを目指して研究を行ってきた。

2. 研究の実施状況

(I) ミトコンドリア膜構造制御の分子機構

哺乳動物では3つの GTPase 群といくつかの関連因子がミトコンドリアの形態制御に関与することが知られているが、それらの詳細理解は進んでいない。我々はこれまでに哺乳動物細胞を用いて生化学的解析系及び細胞生物学的解析系を独自に構築し、また関連因子を哺乳動物から同定し解析を行ってきた。特に近年、ミトコンドリアの分裂に機能する GTPase・Drp1 のミトコンドリアへの局在化に関わると考えられてきた外膜因子 Fis1 が、Drp1 とは独立に機能するのではないかと考えられるようになってきつつある。我々はミトコンドリア分裂反応の機能詳細を解明する目的で、Fis1 に結合する因子群を同定したところ、Fis1 は Drp1 とは別の GTPase 複合体をミトコンドリアに局在化させる機能を介してミトコンドリアダイナミクスを制御していることを明らかにした。

さらに我々は、ミトコンドリアタンパク質の分解機構の解析を行った。パーキンソン病の病因因子である Parkin は機能不全ミトコンドリアに局在化しその分解を促進することが知られている。この時、Parkin により様々なミトコンドリア外膜タンパク質がユビキチン・プロテアソーム系により分解されることを見出した。これはオートファジー依存的なミトコンドリア全体(内膜やマトリックスも含む)の分解とは独立におこる。これらの結果から、ミトコンドリアの機能不全時には、ミトコンドリアの各コンパートメントは異なる複数の経路で分解されることが明らかになった。

(II) ミトコンドリア膜構造制御の生理機能

我々はこれまでに分裂因子 Drp1 を欠損した細胞及びマウスを構築しその生理機能を解析してきた。今

様式19 別紙1

年度は様々な条件特異的欠損マウスを構築し、その解析を進めた。現在、哺乳動物個体内でのミトコンドリア分裂の生理機能解析をさらに進展させている。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 4 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 2 件 Saori R. Yoshii, Chieko Kishi, <u>Naotada Ishihara</u>, and Noboru Mizushima. Parkin mediates proteasome-dependent protein degradation and rupture of the outer mitochondrial membrane. <i>Journal of Biological Chemistry</i> 286: 19630-19640 (2011) 表紙, "Paper of the week", "F1000", "2011 The Best of JBC" Anoop Kumar G. Velikkakath, Taki Nishimura, Eiko Oita, <u>Naotada Ishihara</u>, and Noboru Mizushima. Mammalian Atg2 proteins are essential for autophagosome formation and important for regulation of size and distribution of lipid droplets. <i>Molecular Biology of the Cell</i> 23:896-909 (2012) (掲載済み一査読無し) 計 2 件 尾上健太,前田(石原)真希,石原孝也,石原直忠、明らかになりつつあるミトコンドリアの融合と分裂の分子機構とその生理機能、細胞工学 30: 1147-1152 (2011) 石原直忠、融合と分裂によるミトコンドリアの形態制御の分子機構と生理機能、生化学 83: 365-373 (2011) (未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 8 件</p>	<p>専門家向け 計 8 件 尾上健太、石原直忠、Fis1 は新規ミトコンドリア形態制御因子の局在化に機能する(シンポジウム、企画)、日本顕微鏡学会第67回学術講演会 福岡 2011年5月16日~18日 石原直忠、松永結、前田真希、尾上健太、三原勝芳、水島昇、ミトコンドリアの融合と分裂を制御する GTPase 群の分子機構とその生理機能(シンポジウム) 平成 23 年度日本生化学会九州支部例会 久留米 2011年5月21日 Kenta Onoue, Maki Maeda-Ishihara, <u>Naotada Ishihara</u>, Regulation and Roles of Mitochondrial Dynamics in Mammal(招待講演)、The 5th Biennial Meeting of Society for Free Radical Research-Asia (SFRR-Asia), 8th Conference of Asian Society for Mitochondrial Research and Medicine (ASMRM), and 11th Conference of Japanese Society of Mitochondrial Research and Medicine (J-mit), Kagoshima, 31 August - 4 September, 2011 Kenta Onoue, Maki Maeda-Ishihara, <u>Naotada Ishihara</u>, Molecular mechanism and roles of mitochondrial fission proteins in mammalian cells、Mitochondrial Dynamics: from mechanism to Disease, Sardinia, Italy, 11-15, September, 2011 石原直忠、尾上健太、前田(石原)真希、ミトコンドリア分裂因子 Drp1 の細胞と個体における生理機能(シンポジウム)、第 82 回日本生化学会大会 京都 2011年9月21日 石原直忠、ミトコンドリアの形態制御の分子機構とその個体での役割(招待講演)、千里ライフサイエンスセミナー「生命科学を支えるオルガネラ研究の新展開」千里 2011年9月30日 <u>Notada Ishihara</u>, Mitochondrial dynamics: GTPases regulating mitochondrial fusion and fission (招待講演)、熊本大学グローバル COE リエゾラボ研究会、2011年12月7日 尾上健太、石原直忠、Fis1 は新規ミトコンドリア形態制御因子の局在化に機能する、第 34 回日本分子生物学会年会 横浜 2011年12月15日 一般向け 計 0 件</p>
<p>図書 計 0 件</p>	

様式19 別紙1

<p>産業財産権 出願・取得状 況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>http://www.lsi.kurume-u.ac.jp/protein_biochemistry/index.html</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>2012年3月9日に、久留米市内の高校生(男子5名女子6名)及び教員(2名)を本研究所に招待し、講演(研究内容紹介)及び実習を行った。哺乳動物細胞サンプルの作成手法を学び、また実際に細胞内のミトコンドリア観察を行うことで、最新の科学技術に触れその有用性を理解する機会とした。</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計0件</p>	
<p>その他</p>	<p>第一学習社、高等学校教科書「新生物基礎」の制作に協力し写真を提供した。</p>

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	119,000,000	56,000,000	0	63,000,000	0
間接経費	35,700,000	16,800,000	0	18,900,000	0
合計	154,700,000	72,800,000	0	81,900,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未取利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	55,620,623	0	0	55,620,623	49,110,232	6,510,391	0
間接経費	16,500,000	0	0	16,500,000	16,500,000	0	0
合計	72,120,623	0	0	72,120,623	65,610,232	6,510,391	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	41,003,075	顕微鏡、ミクロトーム、実験試薬等
旅費	849,697	研究成果発表旅費(生化学会、MitoDyn国際会議)
謝金・人件費等	6,253,712	博士研究員人件費等
その他	1,003,748	英文校正、修理費、凍結胚作製等
直接経費計	49,110,232	
間接経費計	16,500,000	
合計	65,610,232	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
凍結ミクロトーム	Leica	1	6,090,000	6,090,000	2011/5/30	久留米大学
共焦点顕微鏡	Zeiss	1	25,725,000	25,725,000	2011/11/8	久留米大学
恒温振とう機	Taitec	1	945,525	945,525	2012/2/27	久留米大学