

課題番号	LS121
------	-------

**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 24 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

ミトコンドリアは細胞内でエネルギー産生に機能するのみならず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。本研究計画では、H24 年度にはミトコンドリア膜融合・分裂とその制御の分子機構の詳細理解を行うこと、またマウス遺伝学的解析によるミトコンドリアダイナミクスの生理機能解析を昨年に引き続き発展させること、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。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解析を行ってきた。今年度はさらその研究を推進し、Fis1 は TBC1D15 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(Onoue et al, JCS 2012)。この解析結果から、これまで長らく提唱されてきた、Fis1 は Drp1 をミトコンドリアに局在化させる因子である、との定説に疑義を提案することになった。Drp1 のミトコンドリア分裂点への局在化の機構に関しては、今後更なる解析が必要であると考えている。

さらに我々は、このミトコンドリアの動的形態変化が生体にどのような効果を与えるかについて解析を進めている。今回、我々はミトコンドリア DNA (mtDNA)がミトコンドリア膜構造の変化に伴って動的に構造・分布を変化させることを明らかにした。mtDNA はミトコンドリア分裂・融合バランスの制御の基にその配置が制御されており、それがミトコンドリアの多彩な機能に影響を与えることが分かった。

(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。様々な条件特異的欠損マウスを構築していたが、今年度はその解析を大きく進めることができた。ミトコンドリア分裂は組織によって、また発生あるいは病態に伴って多様な機能を持っていることが明らかになりつ

つある。(I)の分子機構解析から得られた知見・解析系を用いることで、更なる飛躍的な研究発展が期待できると考えており、現在更なる解析を進めつつある。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 7 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 3 件 Kenta Onoue, Akihiro Jofuku, Reiko Ban-Ishihara, Takaya Ishihara, Maeda Maeda, Takumi Koshiba, Takashi Itoh, Mitsunori Fukuda, Hidenori Otera, Toshihiko Oka, Hiroyoshi Takano, Noboru Mizushima, Katsuyoshi Mihara, and <u>Naotada Ishihara</u>. Fis1 acts as a mitochondrial recruitment factor for TBC1D15 that is involved in regulation of mitochondrial morphology. <i>J Cell Sci</i>. 126: 176-85. (2013) Shiori Sekine, Yusuke Kanamaru, Masato Koike, Ayako Nishihara, Masahiro Okada, Hideyuki Kinoshita, Miki Kamiyama, Junichi Maruyama, Yasuo Uchiyama, <u>Naotada Ishihara</u>, Kohsuke Takeda, and Hidenori Ichijo. Rhomboid protease PARL mediates the mitochondrial membrane potential loss-induced cleavage of PGAM5. <i>J. Biol. Chem.</i> 287: 34635–34645 (2012) Hidenori Otera, <u>Naotada Ishihara</u>, and Katsuyoshi Mihara. New insights into the function and regulation of mitochondrial fission. <i>Biochim Biophys Acta</i>. 1833: 1256-68 (2013) (掲載済み一査読無し) 計 2 件 <u>石原直忠</u>, <u>尾上健太</u>, <u>北潔</u> ミトコンドリアの形態・機能とその動的変化 <i>Clinical Neuroscience</i>, 30: 984-987 (2012) <u>尾上 健太</u>, <u>石原 直忠</u> ミトコンドリアの融合と分裂 <i>生体の科学</i> 63: 430-431 (2012) (未掲載) 計 2 件 <u>Naotada Ishihara</u>, Hidenori Otera, Toshihiko Oka, and Katsuyoshi Mihara. Regulation and physiologic function of GTPases in mitochondrial fusion and fission in mammals. <i>Antioxid. Redox Signal.</i> (in press) Yohsuke Ohba, Takeshi Sakuragi, Eriko Kage-Nakadai, Naoko H Tomioka, Nozomu Kono, Rieko Imae, Asuka Inoue, Junken Aoki, <u>Naotada Ishihara</u>, Takao Inoue, Shohei Mitani and Hiroyuki Arai. Arai. Mitochondria-type GPAT is required for mitochondrial fusion. <i>EMBO J.</i> (in press)</p>
<p>会議発表 計 14 件</p>	<p>専門家向け 計 13 件 <u>石原(伴) 玲子</u>, <u>石原 直忠</u>, 哺乳動物細胞におけるミトコンドリア分裂の生理的意義、平成24年度日本生化学会九州支部例会、2012年5月、福岡 Osamu Udagawa, Yui Matsunaga, Hiroshi Shitara, Kenji Miyado, Satoshi Tsukamoto, Katsuyoshi Mihara, Noboru Mizushima, and Naotada Ishihara, Analysis of mitochondrial dynamics in ovarian folliculogenesis in mice、第45回日本発生生物学会・第64回日本細胞生物学会合同大会 神戸 2012年5月、大阪 <u>石原 直忠</u>、ミトコンドリアのダイナミックな構造変化と生命機能 (Keynote Symposium)、第3回 Molecular Cardiovascular Conference II、2012年9月、北海道 <u>石原 直忠</u>、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、日本薬学会九州支部特別講演会、2012年11月、長崎 <u>石原 直忠</u>、ミトコンドリアのダイナミクス：機能・形態の動的変化とその生理的意義(招待講演)、生化学若い研究者の会九州支部、脳科学若手の会九州部会合同セミナー、2012年11月、久留米 <u>石原(伴) 玲子</u>、<u>石原 直忠</u>、哺乳動物細胞におけるミトコンドリアダイナミクスと核様体の関係性(ワークショップ)、第35回日本分子生物学会年、2012年12月、福岡 <u>石原 直忠</u>、ミトコンドリアの融合と分裂によるダイナミックな細胞機能制御(シンポジウム)、第85回日本生化学会大会、2012年12月、福岡 <u>宇田川 理</u>、<u>松永 結</u>、<u>宮戸 健二</u>、<u>三原 勝芳</u>、<u>水島 昇</u>、<u>石原 直忠</u>、マウス卵胞形成におけるミトコンドリア</p>

様式19 別紙1

	<p>ダイナミクスの解析(口頭発表)、第85回日本生化学会大会、2012年12月、福岡</p> <p>尾上 健太、水島 昇、三原 勝芳、石原 直忠、哺乳動物 Fis1 はミトコンドリアの形態制御に機能する TBC1D15 をミトコンドリアヘリクルートする(口頭発表)、第85回日本生化学会大会、2012年12月、福岡</p> <p>石原 孝也、三原 勝芳、水島 昇、石原 直忠、筋組織におけるミトコンドリア分裂の役割、第85回日本生化学会大会、2012年12月、福岡</p> <p>石原(伴) 玲子、石原 孝也、佐々木 成江、三原 勝芳、石原 直忠、哺乳動物細胞におけるミトコンドリアダイナミクスと核様体の関係性、日本ミトコンドリア学会第12回年会、2012年12月、筑波</p> <p>石原 孝也、石原 玲子、一村 紋佳、三原 勝芳、石原 直忠、筋細胞の成熟に対するミトコンドリア分裂の役割、日本ミトコンドリア学会第12回年会、2012年12月、筑波</p> <p>石原 直忠、ミトコンドリアの動的な構造変化とその生理機能、Cardiovascular Thrombosis Seminar (CAT)、2013年2月、東京</p> <p>一般向け 計1件</p> <p>石原 直忠、哺乳類ミトコンドリアの特性～多彩な機能・形態とその変化、筑波大学・J-mit 共催公開シンポジウム、2012年12月、筑波</p>
<p>図書</p> <p>計0件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状況</p> <p>計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(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12月21日に、筑波大学学生会館にて公開講演会にて講演を行い、本研究計画にかかる研究内容とその重要性を紹介した。哺乳動物細胞内のミトコンドリアの最新研究について、また最新の科学技術についてその有用性を広く理解させることを目指した。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載</p> <p>計0件</p>	
<p>その他</p>	<p>第一学習社教科書「高等学校生物」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24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

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	37,000,000	26,000,000	
間接経費	35,700,000	16,800,000	11,100,000	7,800,000	
合計	154,700,000	72,800,000	48,100,000	33,800,000	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 (未収利息を除 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	6,510,391	37,000,000	0	43,510,391	26,350,949	17,159,442	0
間接経費	0	11,100,000	0	11,100,000	11,100,000	0	0
合計	6,510,391	48,100,000	0	54,610,391	37,450,949	17,159,442	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	20,660,840	卓上型超遠心機、LAS4000mini、実験試薬等
旅費	732,135	研究打合せ等
謝金・人件費等	3,608,233	博士研究員人件費
その他	1,349,741	電子顕微鏡解析委託、修理費等
直接経費計	26,350,949	
間接経費計	11,100,000	
合計	37,450,949	

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
遠心機口ター ー式	Beckman	1	543,060	543,060	2012/10/9	久留米大学
水平ローター	Beckman	1	777,000	777,000	2012/10/31	久留米大学
超低温フリーザー	Panasonic	1	1,858,500	1,858,500	2012/12/5	久留米大学
微量高速冷却遠心 機他	tomy	1	651,000	651,000	2012/12/4	久留米大学
LAS4000mini	GE	1	3,660,000	3,660,000	2013/1/8	久留米大学
温度制御付・液相酸 素測定システム	Hansatech	1	897,750	897,750	2013/1/9	久留米大学
密閉式超音波破碎装 置Bioruptor一式	cosmobio	1	1,365,672	1,365,672	2013/2/6	久留米大学
卓上型超遠心機	Beckman	1	3,748,500	3,748,500	2013/3/7	久留米大学