

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 25 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を生産するのみならず、様々な細胞制御、さらには個体レベルで代謝や病態等においても重要な機能を果たす 2 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いるが、この変化が様々な生命機能制御や病態に関与することが近年明らかになりつつある。本研究計画ではこのミトコンドリアの動的変化に注目して解析を行ってきている。H25 年度はこれまでの研究を総括し且つ新たなミトコンドリア研究を創出すべく細胞及び個体での研究を行った。

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  
 これまでに GTPase 蛋白質群の解析を中心にミトコンドリアの融合と分裂を制御する GTPase 群の解析を進めてきた。一方、ミトコンドリアは細菌の共生を起源とするオルガネラであり、内部に自身の DNA (mtDNA)を保持している。細胞内で数千コピー以上ある mtDNA は、Tfam などの DNA 結合蛋白質との結合を介して核様体と呼ばれる構造を形成しており、これまでに様々な種の生物で mtDNA の構造が解析されてきているが、一方ヒトも含めた哺乳動物においてはその動的な変化に関して十分には理解されていなかった。そこで今回 mtDNA の動的変化の基盤的理解を進めた。ミトコンドリア形態制御因子の改変系と生細胞観察系を組み合わせることで、mtDNA 核様体は動的に分布変化していること、また核様体の近くでミトコンドリアが分裂すること、またミトコンドリアの分裂を抑制すると核様体が集合し極めて大きな核様体を形成することがわかった。これらの結果から、mtDNA の配置はミトコンドリア膜の動的変化によって制御されていることが明らかとなった。さらにこの核様体の凝集によって、ミトコンドリア内膜のクリステ構造形成が活性化すること、その結果ミトコンドリアからの細胞死シグナルの放出が遅延し細胞死が起きにくくなることを見出した。このように生細胞の詳細な顕微鏡解析を行うことで、mtDNA とミトコンドリア膜は相互に動的に相関しながらその構造が維持されていることを明らかにすることができた。

(II) ミトコンドリア膜構造制御の生理機能  
 ミトコンドリアの分裂に関与する因子である Drp1 を欠損した細胞及びマウスを構築することでその機能解析を進めてきた。組織によってまた発生時期によってミトコンドリアの構造は大きく変化するが、その中でいくつかの組織では Drp1 がその制御に極めて重要な機能を持つことを見出した。その一例は心筋であり、そ

様式19 別紙1

の組織形成時にはミトコンドリアの形態が大きく変化していることが知られていたが、今回ミトコンドリアの分裂因子の発現が発生時期において大きく変化すること、またミトコンドリアの形態変化が心筋線維の形成に必須な機能を持つことが分かった。

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 5 件  R. Ban-Ishihara, T. Ishihara, N. Sasaki, K. Mihara, and N. Ishihara. Dynamics of nucleoid structure regulated by mitochondrial fission contributes to cristae reformation and release of cytochrome c. <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i>. 110: 11863-11868 (2013)  Y. Ohba, T. Sakuragi, E. Kage-Nakadai, N.H. Tomioka, N. Kono, R. Imae, A. Inoue, J. Aoki, N. Ishihara, T. Inoue, S. Mitani, H. Arai. Mitochondria-type GPAT is required for mitochondrial fusion. <i>EMBO J</i>. 32: 1265-1279 (2013)  K. Onoue, A. Jofuku, R. Ban-Ishihara, T. Ishihara, M. Maeda, T. Koshiba, T. Itoh, M. Fukuda, H. Otera, T. Oka, H. Takano, N. Mizushima, K. Mihara, N. Ishihara. 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)  N. Ishihara, H. Otera, T. Oka, K. Mihara. Regulation and physiologic function of GTPases in mitochondrial fusion and fission in mammals. <i>Antioxid. Redox Signal.</i>, 19: 389-399 (2013)  H. Otera, N. Ishihara, K. Mihara. New insights into the function and regulation of mitochondrial fission. <i>Biochim Biophys Acta</i>. 1833: 1256-68 (2013)</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 2 件  石原 孝也、石原 直忠、細胞と組織におけるミトコンドリアの形態制御機構と役割、<i>生体の科学</i>(in press)  石原 直忠、オルガネラと疾患・ミトコンドリア、<i>医学のための生命科学</i>(in press)</p>
<p>会議発表 計 20 件</p>	<p>専門家向け 計 20 件  Reiko Ban-Ishihara, Takaya Ishihara, Katsuyoshi Mihara, and Naotada Ishihara Mitochondrial fission controls size and distribution of mitochondrial nucleoids, contributing to inner membrane cristae structures. Cell Symposia, Mitochondria: from Signaling to Disease, May 2013, Lisbon  石原直忠、ミトコンドリアの動的な形態制御とその機能 (特別講演)、第 15 回ブレインサイエンス研究会、2013 年 6 月、福岡  石原(伴)玲子、石原孝也、石原直忠、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(シンポジウム講演)、第 65 回日本細胞生物学会大会、2013 年 6 月、名古屋  石原孝也、石原(伴)玲子、一村紋佳、三原勝芳、石原直忠、筋組織におけるミトコンドリア分裂の役割、第 65 回日本細胞生物学会大会、2013 年 6 月、名古屋  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、第 65 回日本細胞生物学会大会、2013 年 6 月、名古屋  石原孝也、石原(伴)玲子、一村紋佳、三原勝芳、石原直忠、筋細胞におけるミトコンドリア分裂の役割、第 86 回日本生化学会大会、2013 年 9 月、横浜  宇田川 理、石原 直忠、マウス卵子形成期のミトコンドリアダイナミクスの解析、第 86 回日本生化学会大会、2013 年 9 月、横浜  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、第 86 回日本生化学会大会、2013 年 9 月、横浜  阿部 雄一、本庄 雅則、石原 直忠、三原 勝芳、Ronald J.A. Wanders、藤木 幸夫、ペルオキシソーム形態異常による細胞内リン脂質代謝への影響解析、第 86 回日本生化学会大会、2013 年 9 月、横浜  Reiko Ban-Ishihara, Takaya Ishihara, Tadato Ban, Maki Maeda, Katsuyoshi Mihara, and Naotada Ishihara, Roles of mitochondrial fission in cultured cells and in mice development. (Invited talk of NI), The 4th International Symposium on Dynamics of Mitochondria (DynaMito), Oct 2013, Okinawa</p>

様式19 別紙1

	<p>Reiko Ban-Ishihara, Takaya Ishihara, Narie Sasaki, Katsuyoshi Mihara, and Naotada Ishihara, Dynamics of nucleoid structure regulated by mitochondrial fission contributes to cristae reformation and release of cytochrome c (Selected talk of RBI), The 4th International Symposium on Dynamics of Mitochondria (DynaMito), Oct 2013, Okinawa</p> <p>Taeko Sasaki, Kaho Yamada, Ryoko Yui, Toshiya Suzuki, Naotada Ishihara, Reiko Ishihara, Tetsuya Higashiyama and Narie Sasaki, Identification and characterization of mitochondrial RCC1-like protein in human, The 4th International Symposium on Dynamics of Mitochondria (DynaMito), Oct 2013, Okinawa</p> <p>Yohsuke Ohba, Takao Inoue, Takeshi Sakuragi, Naoko H. Tomioka, Asuka Inoue, Naotada Ishihara, Eriko Kage-Nakadai, Junken Aoki, Shohei Mitani and Hiroyuki Arai, Mitochondria-type GPAT is required for mitochondrial fusion, The 4th International Symposium on Dynamics of Mitochondria (DynaMito), Oct 2013, Okinawa</p> <p>Reiko Ban-Ishihara, Takaya Ishihara, Narie Sasaki, Katsuyoshi Mihara, and Naotada Ishihara, Dynamics of nucleoid structure regulated by mitochondrial fission contributes to cristae reformation and release of cytochrome c, International Symposium on Mitochondria, Nov, 2013, Tokyo</p> <p>石原 直忠、哺乳動物ミトコンドリアのダイナミクスとその機能、生物物理学会北海道支部の支部講演会、2013年10月、札幌</p> <p>石原直忠、ミトコンドリアのダイナミックな構造変化による細胞機能と発生・分化の制御(シンポジウム講演)、第36回日本分子生物学会年会、2013年12月、神戸</p> <p>Tadato Ban, Naotada Ishihara, Elucidating molecular mechanism of membrane fusion protein OPA1 in mitochondria using in vitro reconstitution(Workshop talk of TB)、第36回日本分子生物学会、2013年12月、神戸</p> <p>細田将太郎、石原直忠、ミトコンドリア融合と分裂のバランス制御の分子機構、第36回日本分子生物学会、2013年12月、神戸</p> <p>佐々木妙子、山田佳歩、由比良子、鈴木俊哉、石原直忠、石原(伴)玲子、東山哲也、佐々木成江、ヒト培養細胞を用いたミトコンドリア核様体分配機構の解析、第36回日本分子生物学会、神戸、2013年12月</p> <p>大場陽介、櫻木健司、井上飛鳥、石原直忠、中臺枝里子、青木淳賢、三谷昌平、新井洋由、ミトコンドリア型 GPAT はミトコンドリアの融合に必要である、第36回日本分子生物学会、神戸、2013年12月</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書 計0件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状況  計1件</p>	<p>(取得済み) 計1件 特許 第5308651号 「Drp1欠損非ヒト哺乳動物」、登録日 H25年7月5日、発明者 三原勝芳、石原直忠、野村政壽</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p><a href="http://www.lsi.kurume-u.ac.jp/protein_biochemistry/index.html">http://www.lsi.kurume-u.ac.jp/protein_biochemistry/index.html</a></p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>2013年10月11日、11月15日 福岡県立明善高校学校理数科(SSH事業) 研究体験実習(講義及び研究室での研究体験)</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計2件</p>	<p>西日本新聞 H25年7月2日朝刊記事「ミトコンドリア遺伝子 細胞死の発生を抑制」 西日本新聞 H25年8月16日朝刊筑後版記事「技きらり ミトコンドリアの謎に挑む」</p>
<p>その他</p>	<p>NHK 高校講座生物基礎 作成協力(平成26年3月)(放送日未定)</p>

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成25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	93,000,000	26,000,000	0	0
間接経費	35,700,000	27,900,000	7,800,000	0	0
合計	154,700,000	120,900,000	33,800,000	0	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	17,159,442	26,000,000	0	43,159,442	43,159,442	0	0
間接経費	0	7,800,000	0	7,800,000	7,800,000	0	0
合計	17,159,442	33,800,000	0	50,959,442	50,959,442	0	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	32,395,206	共焦点スキャナユニット、実験試薬等
旅費	1,389,440	学会参加等
謝金・人件費等	8,047,822	博士研究員人件費
その他	1,326,974	電子顕微鏡解析委託等
直接経費計	43,159,442	
間接経費計	7,800,000	
合計	50,959,442	

## 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
高速冷却遠心機	Beckman	1	2,016,000	2,016,000	2013/9/26	久留米大学
siRNAライブラリー	GE	1	9,555,000	9,555,000	2013/12/26	久留米大学
共焦点スキャナ ユニット	Yokogawa	1	12,127,500	12,127,500	2014/1/27	久留米大学