




審査結果の要旨

報告番号	甲 第 1242 号	氏名	宮園 佳宏
審査担当者	主 査	山本宏一	
	副主査	溝口亮志	
	副主査	古賀靖敏	
<p>主論文題目 : Uncoupled mitochondria quickly shorten along their long axis to form indented spheroids, instead of rings, in a fission-independent manner</p> <p>(脱共役直後のミトコンドリア長軸方向収縮による形態変化はリング状ではなく、分裂非依存性の球体陥凹である)</p>			

審査結果の要旨 (意見)

本研究は、細胞内外のストレス環境に応じて生じる培養細胞ミトコンドリアの形態変化解析を目的として、膜電位低下刺激である脱共役剤 CCCP 投与によるミトコンドリア形態変化を対象に、蛍光ラベルした培養細胞ミトコンドリアの蛍光顕微鏡によるライブイメージング観察、およびその同一部位の三次元微細構造を FIB/SEM により解析した 3D-CLEM 法によるものである。CLEM 法は、ライブイメージング下に変形する瞬間の同一部位を電顕下に観察できる画期的顕微観察技法であり、その同一部位の三次元電顕観察と形態解析が本研究の特筆すべき特徴である。結果として、脱共役剤 CCCP 投与による同様の実験系において、従来の光顕観察によりリング状と理解されてきた形態変化が、実際はリング状ではなく、陥没を伴う皿状ないしは壺状であることが明確に示された。さらに、このようなミトコンドリア形態変化が、膜電位低下後すみやかに、融合・分裂非依存的に生じることが明らかとなり、この膜動態が物理的エネルギー安定化に関与する可能性が示唆された。これらの成果はミトコンドリアの正常形態維持機構の解明に繋がり、また、ミトコンドリアにおける新たなストレス応答機構の可能性を見出した点において学術的に意義深く、博士の学位に相応しいと判定する。

論文要旨

ミトコンドリア膜電位低下はミトコンドリアの断片化を誘導し、形態は紐状からリング状へ変化すると報告されている。リング状ミトコンドリアの形態は従来の光学顕微鏡観察や電子顕微鏡による一断面の切片から認知され、細胞の機能不全を示す指標と見なされてきた。しかしながら、その形態変化の過程やその三次元的評価の詳細は不明なままであった。そこで本研究では、Live-Imaging に FIB/SEM tomography 法 (3D 電顕) を組み合わせた Live-imaging・3D 電顕相関観察法 (CLEM 法) を開発し、脱共役剤 CCCP (carbonylcyanide m-chlorophenyl-hydrazone) に誘導されるミトコンドリア膜電位低下後におけるミトコンドリア膜の動的変化と微細構造を同一のミトコンドリアについて経時的に且つ、3 次元的に詳細に検討した。我々の観察結果は従来の説とは異なり、形態変化にはミトコンドリアの断片化が関わらないこと、そして、三次元像において光顕で観察されたリング状ミトコンドリアに貫通した穴は無く、その代わりにほとんどが陥没構造を伴う壺状の形態を呈する事を示した。これらの膜電位低下に伴う急激な動的変化はミトコンドリアの形態を維持する機構の破綻に関与するものであると考えられ、エネルギー的に安定な物理学的変化として収束する形態変化であることが示唆された。