

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2016～2020

課題番号：16H06375

研究課題名（和文）オートファジーの生理機能の総合的理解

研究課題名（英文）Molecular mechanism and physiological understanding of Autophagy

研究代表者

大隅 良典 (Ohsumi, Yoshinori)

東京工業大学・科学技術創成研究院・荣誉教授

研究者番号：30114416

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 145,200,000円

研究成果の概要（和文）：オートファジーの研究は大きな広がりを見せているが、まだ生化学的な実証性が弱いという欠点がある。本研究はオートファジーにより、何が何時、如何に分解されるが明らかにすることを目的とした。多くの知見を蓄積してきた酵母の系の優位性を生かして、分解ターゲット、分解産物の正確な把握と代謝に対する影響に関して、新たな手法の確立と、新たな視点を与えた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

オートファジー研究は、今日哺乳動物における生理的役割に関して目覚ましい展開を見ているが、その分子レベルの理解に関しては、多くのことがブラックボックスとして残されている。本研究は30年以上の酵母の系での実績と、系の優位性を生かし、分解基質、分解過程、分解産物の解析を通じて、今一度高等動植物のオートファジー研究に新しい視点を与えることを目指してきたが、一定の成果をあげることができたと考えている。

研究成果の概要（英文）：Research on autophagy has been widespread, but it still has the drawback of weak biochemical verification. The purpose of this study was to clarify what, when and how cytoplasmic component are degraded by autophagy. Taking advantage of the yeast system, which has accumulated a lot of knowledge, we have established a new method and gave a new perspective on the accurate grasp of degradation targets and final degradation products and their effects on cell metabolism.

研究分野：分子細胞生物学

キーワード：オートファジー 分解基質 RNA分解 酵母 ATG

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

オートファジーは細胞の自己構成成分の液胞/リソソームにおける分解過程として、全ての細胞が持つ基本的な機能であり、細胞の栄養飢餓応答、細胞内の品質管理、恒常性維持に重要な役割を担っている。近年その機構解明と共に生理機能の解明が進み非常に大きな領域に発展し、病態との関連にまで関心が広がっている。しかしオートファジーによる分解の現場の理解はまだまだ乏しく、生理生化学的な研究が必要である。

2. 研究の目的

代表者の 30 年に亘る研究の集大成として、条件制御が容易で様々な生理的、生化学的な研究が可能な酵母の系の利点を生かして、研究の原点であるオートファジーにより、何時、何が、どのように分解されるかを、確立した手法を基盤として明らかにすることを目的としている。

3. 研究の方法

- (1) 様々なオートファジー誘導条件、種々の栄養 (N, C, S, Pi, 金属イオンなど) 飢餓下の誘導性、構成的オートファジー、ストレス誘導性のオートファジーの様式を系統的に解析
- (2) オートファジーによる分解産物の同定とその生理的意義の解明
- (3) オートファジーによる細胞質タンパク質分解の解析法の確立
酵母の利点である液胞、さらにはオートファジックボディの単離精製が可能であり、より直接的なオートファジー基質のプロテオーム解析
- (4) 液胞ペプチダーゼ欠損株の構築とそれを用いた液胞内に蓄積するペプチド解析による分解基質の同定
- (5) オートファジーによる RNA 分解、mRNA, tRNA の選択性とその生理的意義の解明
- (6) オートファジーによる膜分解の機構の解明

4. 研究成果

- (1) 酵母においても、いかなる生理的条件がオートファジーを誘導するかについては未解明のことが多い。必須元素の欠乏がオートファジーを誘導するかを網羅的に検討した結果、亜鉛の飢餓が強くバルクオートファジーを誘導することを見いだした。この誘導は転写因子 Zap1 の制御にはよらず、Torc1 の不活化に依存していた。細胞中に多量に存在する Zn 結合タンパク質が非選択的にオートファジーで分解され、亜鉛が遊離されて細胞質に供給されることにより、Zn 欠乏下の増殖が保証されていることが明らかとなった。植物においても Zn 飢餓によってオートファジーが誘導されることも共同研究で明らかとなった。

(Kawamata et al. JBC., 2017)

- (2) コア ATG 遺伝子の破壊株はいずれも、栄養培地ではグルコース枯渇に伴う発酵から呼吸増殖の切り替え、ダイオキシシフトが正常に起こるのに対し、最小培地では起きないことを見出した。実際、野生株ではこのダイオキシシフト時に強くオートファジーが誘導されることが明らかになって、*atg* 変異株にさまざまな栄養を添加した結果、鉄の添加によって、ダイオキシシフトが回復することが明らかになった。呼吸増殖に必要なミトコンドリア機能に必要な鉄イオンが、オートファジーによって鉄結合タンパク質が分解され、液胞内に遊離した鉄イオンが液胞から Smf 3、Fet5 輸送体によって細胞質にリサイクリングされることが明らかとなった。オートファジーのタンパク質分解を通じて細胞内イオンの恒常性に寄与することを示した。

(Horie et al. JBC., 2017)

- (3) 炭素源の飢餓によって如何にオートファジーが誘導されるかについては不明な点が多い。

グルコース増殖細胞は、急激な炭素源飢餓によって、オートファジーを誘導できないが、非発酵性のグリセロール培養細胞は、炭素源飢餓に応答してバルクオートファジーが誘導されることが分かった。炭素源飢餓が誘導するオートファジーは、グルコースカタボライト抑制によって負に制御されていることが明らかとなった。

(Adachi et al. JBC., 2017)

- (4) 増殖に伴う炭素源の変化により、何時、いかなるオートファジーが誘導されるか明らかにするために、初発のグルコース濃度を下げた最小培地を用いることで、グルコース発酵、グルコース欠乏、ダイオキシックシフト、エタノール増殖、エタノール枯渇の各条件下に起こるオートファジーを精査することが可能となった。その結果、グルコース枯渇時にマイトファジーがおこること、エタノール増殖時に、バルクオートファジーとERファジーが誘導され、エタノール枯渇に伴ってバルクオートファジーが強く誘導されることが明らかとなった。エタノールを利用する呼吸増殖時の増殖はオートファジー不能 *atg* 変異株では遅く、エタノール枯渇期からの呼吸培地での増殖の再開にラグを生じる。このように増殖に伴う炭素源の変動にともなって、異なる様式のオートファジーが誘導されることを示すことに成功した。

(Iwama et al. JBC., 2019)

- (5) オートファジーによるタンパク質の分解の最終産物はアミノ酸であると考えられている。オートファジー不能変異株をグルコース最小培地からエタノール培地に移すと増殖の再開に長時間のラグを生じる。この現象に関わるオートファジー分解物を解析した結果、この呼吸増殖能の獲得にセリンのリサイクリングは関わることを明らかになった。その原因がミトコンドリアの1炭素代謝を介した、ミトコンドリア開始 Met-tRNA のフォルミル化修飾の異常によることが明らかになった。結果として *atg* 変異株はミトコンドリアの翻訳系の不全をきたす。オートファジーによるタンパク質分解によって生じるアミノ酸の生理的影響は、個々のアミノ酸のミトコンドリア機能への影響を検討する必要性を示している。

(May Al et al. Nat Comm., 2020)

- (6) オートファジーによる mRNA 分解に関して、液胞酵素 Rny 1 欠損株が液胞内に蓄積する mRNA の RNAseq による網羅的解析を行なった。mRNA の分解がランダムではなく、より分解を受けるもの、むしろ分解されにくいものと広い分布を持ち選択性があることを明らかにした。遺伝子オントロジー解析により、分解されやすい mRNA には、リボソームタンパク質やアミノ酸合成系の遺伝子、逆に分解され難いものは、プロテインキナーゼなど発現制御に関わる遺伝子の mRNA が多いことが示された。リボソームプロファイリングにより分解されやすい mRNA は転写効率が飢餓下にも維持されており、分解が翻訳効率の維持と相関することがわかった。mRNA の分解が *atg24* に強く依存することから、ポリソームに結合した形でオートファゴソームに取り込まれることが分かり、新たな発現制御機構として今後の展開が期待される。

(Makino et al. Nat Comm., 2021)

微生物化学研究所・野田展夫氏とも共同研究を継続し、これまで長年研究を進めながらも構造解析が困難であった、Atg 2、Atg 9 の構造が明らかになり、それぞれが脂質輸送活性、スクラ

アンブラーゼ活性を有することを明らかにした。隔離膜形成の残されていた最大の疑問、脂質供給機構の解明に大きな前進がみられた。

(Osawa, T et al, Nature Struct. Mol Biol, 2019, Matoba, K, et al. Nature Struct. Mol. Biol. 2020)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 14件）

1. 著者名 Osawa T, Kotani T, Kawaoka T, Hirata E, Suzuki K, Nakatogawa H, Ohsumi Y, Noda NN*.	4. 巻 26
2. 論文標題 Atg2 mediates direct lipid transfer between membranes for autophagosome formation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nat. Struct. Mol. Biol.	6. 最初と最後の頁 281-288
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41594-019-0203-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Harada K**, Kotani T**, Kirisako H, Sakoh-Nakatogawa M, Oikawa Y, Kimura Y, Hirano H, Yamamoto H, Ohsumi Y, Nakatogawa H*.,	4. 巻 8
2. 論文標題 Two distinct mechanisms target the autophagy-related E3 complex to the pre-autophagosomal structure	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e43088
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.43088	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Iwama R, Ohsumi Y.	4. 巻 294
2. 論文標題 Analysis of autophagy activated during changes in carbon source availability in yeast cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Biol. Chem.	6. 最初と最後の頁 5590-5603.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA118.005698	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Iwama R, Ohsumi Y.	4. 巻 294
2. 論文標題 Analysis of autophagy activated during changes in carbon source availability in yeast cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Biol. Chem.	6. 最初と最後の頁 5590-5603
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA118.005698	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kotani T, Kirisako H, Koizumi M, Ohsumi Y, Nakatogawa H.	4. 巻 115
2. 論文標題 The Atg2-Atg18 complex tethers pre-autophagosomal membranes to the endoplasmic reticulum for autophagosome formation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. USA	6. 最初と最後の頁 10363-10368
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1806727115	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Liu XM, Yamasaki A, Du XM, Coffman VC, Ohsumi Y, Nakatogawa H, Wu JQ, Noda NN.	4. 巻 7
2. 論文標題 Lipidation-independent vacuolar functions of Atg8 rely on its noncanonical interaction with a vacuole membrane protein	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 eLIFE	6. 最初と最後の頁 e41237
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.41237.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamaguchi M, Satoo K, Suzuki H, Fujioka Y, Ohsumi Y, Inagaki F, Noda NN.	4. 巻 430
2. 論文標題 Atg7 activates an autophagy-essential ubiquitin-like protein Atg8 through multi-step recognition	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Mol. Biol.	6. 最初と最後の頁 249-257
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmb.2017.12.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Adachi A, Koizumi M, Ohsumi Y.	4. 巻 292
2. 論文標題 Autophagy induction under carbon starvation conditions is negatively regulated by carbon catabolite repression	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Biol. Chem.	6. 最初と最後の頁 19905-19918
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.M117.817510	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Horie T, Kawamata T, Matsunami M, Ohsumi Y.	4. 巻 292
2. 論文標題 Recycling of iron via autophagy is critical for the transition from glycolytic to respiratory growth	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Biol. Chem.[Faculty of 1000]	6. 最初と最後の頁 8533-8543
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.M116.762963	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kawamata T, Horie T, Matsunami M, Sasaki M, Ohsumi Y.	4. 巻 292
2. 論文標題 Zinc starvation induces autophagy in yeast	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Biol. Chem.[editor 's pick up]	6. 最初と最後の頁 8520-8530
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.M116.762948	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Horie T, Kawamata T, Ohsumi Y.	4. 巻 3
2. 論文標題 Recycling of trace metals by the bulk autophagy in the budding yeast, <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Adv. Nutr. Hum. Metab.	6. 最初と最後の頁 e1602
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto H, Fujioka Y, Suzuki SW, Noshiro D, Suzuki H, Kondo-Kakuta C, Kimura Y, Hirano H, Ando T, Noda NN & Ohsumi Y	4. 巻 38(1)
2. 論文標題 The intrinsically disordered protein Atg13 mediates supramolecular assembly of autophagy initiation complexes	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Dev. Cell	6. 最初と最後の頁 86-99
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.devcel.2016.06.015.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamasaki A, Watanabe Y, Adachi W, Suzuki K, Matoba K, Kirisako H, Kumeta H, Nakatogawa H, Ohsumi Y, Inagaki F, Noda NN*	4. 巻 16(1)
2. 論文標題 Structural basis for receptor-mediated selective autophagy of aminopeptidase I aggregates	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Cell Rep.	6. 最初と最後の頁 19-27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2016.05.066. Epub	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fujiki Y, Teshima H, Kashiwao S, Kawano-Kawada M, Ohsumi Y, Kakinuma Y, Sekito T.	4. 巻 591(1)
2. 論文標題 Functional identification of AtAVT3, a family of vacuolar amino acid transporters, in Arabidopsis.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 FEBS Lett.	6. 最初と最後の頁 5-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.12507. Epub	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

[学会発表] 計27件(うち招待講演 26件/うち国際学会 26件)

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Lessons from yeast : Molecular dissection of autophagy
3. 学会等名 NOBEL AROSS CHINA (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Recycling System : Essential For Life And Also For Society
3. 学会等名 the 49th St. Gallen Symposium, Switzerland (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Looking back on my 30 years ' of yeast autophagy research
3. 学会等名 30th KSMCB, Korea (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Lecture on Autophagy
3. 学会等名 The WLA 2nd annual Forum is organized by Shanghai Municipal Government (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Looking back on 30 years of autophagy research What have we learned from yeast?
3. 学会等名 9th International Symposium on Autophagy (9th ISA) in Taiwan (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Lecture on Autophagy
3. 学会等名 The 'Healthy Moscow ' Assembly, Moscow (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Lessons from Yeast - as a Cellular Recycling System
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Laboratory Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Lessons from Yeast - Autophagy : Intracellular Recycling System
3. 学会等名 Lindau Nobel Laureate Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Molecular details of degradation via autophagy in yeast-50
3. 学会等名 International Symposium "Proteins: From the Cradle to the Grave" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Lessons from Yeast - Autophagy as a Cellular Recycling System -
3. 学会等名 SIOP2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Lessons from Yeast - Autophagy as a Cellular Recycling System -
3. 学会等名 the CBIS conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Looking back on 30 years of autophagy research - dynamic equilibrium of the cell -
3. 学会等名 FAOPS (Federation of Asia Oceania Physiological Sciences) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Looking back on my 28 years of autophagy studies
3. 学会等名 the George E. Palade Lecture, Yale Univ. USA (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Lessons from Yeast - Autophagy as a Cellular Recycling System -
3. 学会等名 ISA(International Symposium on Autophagy), Nara, Japan (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Molecular mechanism and physiological roles of autophagy
3. 学会等名 Yeast 2017, Prague, Czech Republic (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Molecular mechanism and physiological roles of autophagy
3. 学会等名 The first Chinese Conference on Autophagy, Dairen, China (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Looking back on a half-century research career
3. 学会等名 ConBio2017, Looking back on a half-century research career, Yokohama, Japan (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Looking back on my 28 years of autophagy research
3. 学会等名 Nobel Prize Dialog, Yokohama, Japan
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Looking back on my 27 years of autophagy research
3. 学会等名 CSHL meeting, Asia (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Molecular Machinery of Autophagy, Intracellular Recycling System
3. 学会等名 Rosenstiel Award, Brandies Univ. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 27 Years' Progress and Future Perspectives of Autophagy Research in Yeast
3. 学会等名 Wiley Prize, Rockefeller Univ. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Looking back on my 27 years of autophagy research
3. 学会等名 SINO-JAPAN Autophagy Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 27 Years' Progress and Future Perspective in Autophagy Research in Yeast
3. 学会等名 KSBMB 2016, Korea (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 27 Years' Progress and Future Perspective in Autophagy Research in Yeast
3. 学会等名 Paul Janssen Award Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Molecular Machinery of Autophagy, Intracellular Recycling System
3. 学会等名 Milstein Lecture, Cambridge, MRC,UK (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Looking back on my 27 years of autophagy research
3. 学会等名 ICY16, Awaji, Japan (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yoshinori Ohsumi
2. 発表標題 Autophagy- an intracellular recycling system-
3. 学会等名 The Nobel Prize Lecture (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

オートファゴソームに脂質を供給する仕組みを解明～オートファジーにまつわる数十年来の謎が明らかに～
https://www.titech.ac.jp/news/pdf/tokyotechpr20190322_osumi_rHoeker.pdf
 オートファジーは凝集体でなく液滴状態のたんぱく質を分解する 細胞内の「ゴミ」は溜まる前の処理が大事
<https://www.titech.ac.jp/news/2020/046184.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	堀江 朋子 (川俣朋子) (Horie Tomoko) (70435527)	東京工業大学・科学技術創成研究院・助教 (12608)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------