

科学研究費助成事業（特別推進研究）公表用資料
〔研究進捗評価用〕

平成23年度採択分
平成26年5月20日現在

研究課題名（和文） **オートファジーの分子機構の解明と細胞生理学への統合**
研究課題名（英文） **Autophagy: Molecular mechanism and its integration into cell physiology**
研究代表者
大隅 良典 (OHSUMI YOSHINORI)
東京工業大学・フロンティア研究機構・特任教授



研究の概要：本研究計画は長年進めて来た酵母のオートファジーの系を駆使して以下の課題を明らかにする計画である。

研究分野：生物学
科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学
キーワード：オートファジー、ATG、タンパク質分解、ユビキチン様タンパク質、膜動態、酵母

1. 研究開始当初の背景

酵母のオートファジーを発見し、初めて遺伝学的解析を進め、オートファジーの膜動態に必須な18個のATG遺伝子を同定した。これらはオートファジーに特有な膜動態に必須な因子をコードしていた。これらは基本的に高等動植物にまで保存されており、ヒトも含めたオートファジー研究は爆発的な展開の契機となった。オートファゴソーム形成機構やオートファジーの広範な生理学的な役割が明らかになりつつあるが、分子レベルでの理解が強く求められている。

2. 研究の目的

これまで26年に亘る酵母のオートファジーに関する研究を基盤にして、本研究は、
1. オートファゴソーム形成に関わる分子機構の全容解明
2. オートファジーの機能を代謝系と関連づけ、細胞増殖・分化への統合を目的とする。

3. 研究の方法

酵母の分子遺伝学を背景に、高感度蛍光顕微鏡によるタンパク質の局在動態解析、タンパク質複合体、膜構造の単離精製、生化学的解析を解析の基盤とする。構造生物学、質量分析によるリン酸化の定量的な解析、メタボローム解析などについては強力な共同研究を進める。

4. これまでの成果

Atgタンパク質群の機能の一層の理解が進んだ。膜伸長に必須な2つの結合反応に関わる8つの因子とその複合体の立体構造解析がほぼ完了し、他のユビキチン様結合反応系の酵素にない特徴が明らかとなった。

Atg12-Atg5 結合体がAtg8の脂質化反応のE2酵素Atg3の構造変化を通じて促進する機構の構造的基盤が明らかとなった。

Atgタンパク質中、唯一の膜タンパク質であるAtg9が直径約40nmの多数の膜小胞として細胞質中に存在することを明らかにした。飢餓により少数のAtg9小胞がPASに集合し、隔離膜、最終的にはオートファゴソームの外膜に移行することから、膜形成の初期段階に重要な役割を持つことを示した。

オートファジーに必須なPI3キナーゼ複合体に特異的な構成的サブユニットを新規に同定した。

飢餓シグナルによって誘導され、以降の他のAtgタンパク質のPAS集積の足場となる5個の因子からなるAtg1キナーゼ複合体（Atg1-Atg13, Atg17-Atg29-Atg31）の形成機構が明らかとなった。Atg13はC-末端側に存在する長い天然変性領域を有しており、その領域でTORキナーゼにより高度にリン酸化を受けている。Atg13がAtg1およびAtg17と結合する部位を構造解析及び遺伝子変異により同定し、それらがリン酸化によって制御される機構を明らかにした。

選択的オートファジーに関わるキナーゼ Hrr25 を同定し、レセプターのリン酸化による制御機構を明らかにした

第二の柱であるオートファジーの生理機能に関しては、立ち上げに時間を要したが、以下のような成果が得られた。オートファジーによってタンパク質のみならず大量の RNA が分解される。その過程に関わる酵素系が明らかになり、生じたヌクレオチドは最終的に塩基として細胞外に分泌されることを明らかにした。

亜鉛飢餓によってオートファジーが誘導されること、その誘導条件及びその機構解明が進んだ。最少合成培地では *atg* 変異株はグルコース枯渇後の diauxic shift 不能となるが、それが鉄イオンの添加によって回復することから、オートファジーによる鉄のリサイクル不全に起因することが明らかとなった。

5. 今後の計画

残された2年足らずの間に、これまでに蓄積してきた知見を総動員して酵母の基礎的な研究から、高等動植物系におけるオートファジー研究にインパクトのある発信を行う。個々の Atg タンパク質とそれらの複合体の構造解析、機能解明をさらに進める。

最も重要な課題は PAS における Atg タンパク質が時空間的に極めて動的に相互作用するネットワークの原理を明らかにすることである。そのために複合体の構造解析を進めるとともに、動的な相互作用を制御するリン酸化部位の同定と関与するキナーゼの網羅的に解析を進め、刻々変化する相互作用の全容を明らかにする。

生理機能の解明は、現在進行している核酸代謝、金属イオンとオートファジーの関係に関する結果を公表するとともに、さらに詳細な解析を進め、関与する遺伝子を特定する。種々の栄養飢餓とオートファジーの関係性を明らかにする。さらに高等動植物細胞を用いてその普遍性を明らかにする。

6. これまでの発表論文等

1. Fujioka Y, Suzuki SW, Yamamoto H, Kondo-Kakuta C, Kimura Y, Hirano H, Akada R, Inagaki F, Ohsumi Y, Noda NN. Structural basis of starvation-induced assembly of the

autophagy initiation complex. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, in press(2014)

2. Araki, Y., Ku WC., Akioka, M., May, AI., Hayashi, Y., Arisaka, F., Ishihama, Y. and Ohsumi Y. Atg38 is required for autophagy-specific phosphatidylinositol 3-kinase complex integrity. *J. Cell Biol.*, 203, 299-313 (2013)
3. Suzuki, K., Akioka, M., Kondo-Kakuta, C., Yamamoto, H., and Ohsumi Y. Fine mapping of autophagy-related proteins during autophagosome formation in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Cell Sci.*, 1, 2534-44 (2013)
4. Sakoh-Nakatogawa, M., Matoba, K., Asai, E., Kirisako, H., Ishii, J., Noda, N. N., Inagaki, F., Nakatogawa, H., and Ohsumi Y. Atg12-Atg5 conjugate enhances E2 activity of Atg3 by rearranging its catalytic site. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 20, 433-439 (2013)
5. Yamamoto, H., Kakuta, S., Watanabe, TM., Kitamura, A., Sekito, T., Kondo-Kakuta, C, Ichikawa. R. Kinjo. M., and Ohsumi Y. Atg9 vesicles are an important membrane source during early steps of autophagosome formation. *J. Cell Biol.*, 198, 219-233. (2012)
6. Noda, N. N., Satoo, K., Fujioka, Y., Kumeta, H., Ogura, K., Nakatogawa, H., Ohsumi Y., and Inagaki, F. Structural basis of Atg8 activation by a homodimeric E1, Atg7. *Mol. Cell*, 44, 462-475, (2011)

他合計 24 報

受賞

2012 京都賞

2013 トムソンロイター引用栄誉賞

ホームページ

<http://www.ohsumilab.aro.iri.titech.ac.jp/>