

平成 21 年 4 月 24 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2006～2010

課題番号：18076002

研究課題名（和文）オートファジーによる選択的細胞内分解のメカニズム

研究課題名（英文）Mechanism of intracellular degradation through selective autophagy

研究代表者

阪井 康能 (SAKAI YASUYOSHI)

京都大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：60202082

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・ペルオキシソーム・液胞・ペキソファジー・酵母

1. 研究計画の概要

オートファジーには特定のタンパク質やオルガネラを標的とする選択的な経路がある。この選択的オートファジーは細胞内構成分子のリサイクリングだけでなく、細胞外環境変化への適応機構として生理的な重要性を有していると考えられている。

本研究では選択的オートファジー経路を支える分子機構を明らかにすること、その高次生理機能を明らかにすることを目的としている。特に、炭素源代謝に重要な役割を持つオルガネラ、ペルオキシソームの形成・分解に関与するオートファジーの分子機構・生理機能の解明を酵母・植物病原性カビを対象に行う。

2. 研究の進捗状況

(1) メタノール資化性酵母 *Pichia pastoris* の液胞膜局在タンパク質 Vac8 がミクロペキソファジーと呼ばれるペルオキシソーム分解機構に特有の液胞膜変形に機能し、Atg タンパク質群複合体の形成の基となる因子 Atg11 の液胞膜局在に必須であることを見出した。

(2) 液胞膜形態制御に関与する因子として *Pichia pastoris* の Atg8 タンパク質、および出芽酵母 *S. cerevisiae* のフォスファチジルイノシトール 3-リン酸化酵素複合体 (PI3K) を見出した。PI3K が液胞膜変形により脂肪滴を液胞へ取り込むミクロオートファジーに必要であることも見出した。

(3) *Pichia pastoris* において、ペルオキシソーム形成時（メタノール培養時）にもオートファジーが重要な働きを持つことを見出した。本酵母をグルコース培地からメタノ-

ール培地へと移すと、生育停止期間 (lag phase) を経て再び増殖を開始するが、この lag phase にオートファジーの誘導が観察され、アミノペプチダーゼ 1 前駆体やアルデヒドデヒドロゲナーゼが優先的に液胞へ輸送されていた。また Atg タンパク質 (Atg1, Atg17) を欠損するとこの lag phase が長くなり、増殖が遅延することも見出した。

(4) ペルオキシソームの特異的分解経路であるペキソファジーの高次生理機能については、全く不明であったが、本研究から、ウリ類炭そ病菌 *Colletotrichum orbiculare* が植物体内に侵入する際にペルオキシソーム分解が必須であることを発見した。本菌が植物細胞へ侵入する際には Atg26 タンパク質を用いてペルオキシソームを分解する。Atg26 は本研究グループによってペルオキシソーム分解特異的な機能を持つ Atg タンパク質として、初めて先に同定されたものであり、選択的なオルガネラ分解の生理的重要性が明確に示されたことになる。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

オートファジーによるオルガネラ特異的分解は、近年になってミトコンドリア、核、小胞体などについて報告が多くなされているようになったが、その分子機構が詳細に明らかになったものは少なく、しかもその生理機能が不明なものが多い。本研究での成果は、Atg タンパク質と液胞膜局在タンパク質との関連を見出すという分子機構解明も重要であるが、さらにペルオキシソームの形成・分解の両方の局面でオートファジーが誘導される現象を見出したこと、またこれらのオー

トファジー機構が、細胞の生育停止期間調節や植物病原菌の感染など重要な生理機能を持つことを見出した点で意義のあるものと考えている。

4. 今後の研究の推進方策

ペルオキシソーム生成・分解時におけるオートファジー誘導という現象が明らかとなりその生理的意義も見出されたことから、今後はその際の膜動態を制御する分子機構の解明を目指す。特に、オートファジー誘導時の液胞膜変形に関与する分子機構については *Pichia pastoris* を対象とした研究がモデルケースとなっているため引き続き新規因子の解析を進める。またペルオキシソームだけでなく脂肪滴のオートファジーによる分解機構の存在が見いだされつつあるので、その分子機構解明と生理機能の解明にも取り組む予定である。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

- ① Sakai Y., Oku M., van der Klei I.J., and Kiel J.A.K.W., Pexophagy: autophagic degradation of peroxisomes., *Biochim. Biophys. Acta*, **1763**, 1767-1775, 2006, 査読有.
- ② Oku M., Hattori, T., Ano Y., Yamashita S.I., and Sakai Y., Role of Vac8 in formation of the vacuolar sequestering membrane during micropexophagy., *Autophagy*, **2**, 272-279, 2006, 査読有
- ③ Asakura M., Ninomiya S., Sugimoto M., Oku M., Yamashita S.I., Okuno T., Sakai Y., and Y. Takano, Atg26-mediated pexophagy is required for host invasion by the plant pathogenic fungus *Colletotrichum orbiculare.*, *Plant Cell*, in press, 2009, 査読有.

[学会発表] (計2件)

- ① Sakai Y., Roles of Atg26 in Methanol-Induced Autophagy and Plant Pathogenicity, Keystone Symposia 'Autophagy in Health and Disease', April 15-19th, 2007, Monterey, California, USA,
- ② Sakai Y., Autophagy at the lag phase of methylotrophic growth in *Pichia pastoris.*,

The international Congress on Yeasts, Session "Organelles and Autophagy", August 11-15th, 2008, Kyiv, Ukraine

[その他]

ホームページ

<http://www.isa5.kais.kyoto-u.ac.jp/>

(今年度に主催する国際学会「第5回オートファジーに関する国際会議」についてのホームページ)