

研究種目：特別推進研究

研究期間：2007～2011

課題番号：19002015

研究課題名（和文）

オートファジー分子機構とその多様性の解明

研究課題名（英文）

Studies on molecular mechanism and its' diversity in Autophagy

研究代表者 大隅 良典 (OHSUMI YOSHINORI)

東京工業大学・統合研究院・特任教授

研究者番号：30114416

研究代表者の専門分野：分子細胞生物学

科研費の分科・細目：生物学 ・ 細胞生物学・分子生物学

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. 研究計画の概要

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2つの課題を明らかにする計画である。

- (1) オートファジーの膜動態で最も重要なオートファゴソーム形成における Atg タンパク質の作用機構の解明
- (2) オートファジーの多様性の分子基盤の理解

### 2. 研究の進捗状況

酵母におけるオートファゴソーム形成の場として我々が提唱した PAS が、栄養条件にตอบสนองして形成が制御される動的な構造であり、飢餓誘導には Atg17-Atg29-Atg31 の3者複合体と Atg13-Atg1 複合体がその基盤をなすことを明らかにした。オートファジーに必須なユビキチン様結合反応機構及びその機能に関して大きな進展があった。Atg8 の脂質化反応の *in vitro* 再構成系により、Atg8-PE が膜小胞を会合させ、膜の hemifusion を引き起こすことを明らかにした。Atg8 の変異解析によりこの膜の会合と hemifusion 活性が *in vivo* のオートファゴソーム形成に必須であることを示した。現在オートファゴソーム形成のどのステップで PE 化が起こり、いかなる膜構造に局在するかについて解析が進行しつつある。長年の謎であった Atg12 系と Atg8 系との関係に関して、Atg12-Atg5 が Atg8 の脂質化の E3 様の促進活性を持つことを証明した。

オートファジーの選択性、膜形成に関して複数の様式の存在を明らかにすることが出

来た。非醗酵性の炭素源で培養した酵母が増殖停止期に入るとミトコンドリアを選択的に約 300nm の小胞として液胞に取込むことが明らかになった。この過程に必須の遺伝子を全非必須遺伝子破壊株に対して網羅的スクリーニングを行った結果、多数の遺伝子が同定された。中でも最も顕著な欠損を示す遺伝子として ATG32 を同定した。Atg32 はミトコンドリア外膜を一回貫通するタンパク質であり、Atg11、Atg8 と相互作用することにより、ミトコンドリアの特異的に取込むレセプターとして機能していることがあきらかとなった。Lap3 が Apel と同様な Atg11 依存に選択的にオートファジーによって分解されることを明らかにした。リボソームなど細胞質に多量に存在するタンパク質が、選択性は弱いもののオートファゴソームに取込まれ、Atg11 非依存的に分解されることから、新たな選択的分解様式の存在が示唆され、その機構の解析に着手した。

### 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

平成 21 年 4 月より研究室を基礎生物学研究所から東京工業大学に移し、研究スタッフもかなりの入れ替えがあったが、研究の立ち上げに要するラグを最小限にすることができ、ほぼ当初に想定していた進展があったと判断される。酵母の系を用いた最も基礎的な成果をトップジャーナルに掲載することが容易でないが、この4年間で我々の研究室の論文の引用回数は 8000 回を上回っている。

この間に得られ知見を発展することで、残りの期間にオートファジーを巡る基本問題に一定の答えを出すことができると考えている。

#### 4. 今後の研究の推進方策

今後の推進すべき課題を絞り込み、より緊密な協力に基づく研究室の体制を構築することで研究の加速を図る。

昨年度導入した高感度の顕微鏡による Atg タンパク質の細胞内動態、存在様式のデータを徹底的かつ網羅的に再検討し、それに基盤とした Atg タンパク質の作動様式の精緻なモデルを再構築する。

In vitro 再構成系による解析をさらに押し進め、これまでに集積している in vivo データとの結合を図る。

質量分析によるオートファジーの基質の解析など、選択性の問題に新しい解析法を導入する。

#### 5. 代表的な研究成果

[雑誌論文] (計 33 件)

- ① Nakatogawa H, Suzuki K, Kamada Y, and Ohsumi Y. Dynamics and diversity in autophagy mechanisms: lessons from yeast. 査読有 *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 10, 458-467.
- ② Kamada Y, Yoshino K, Kondo C, Kawamata T, Oshiro N, Yonezawa K, and Ohsumi Y. Tor directly controls the Atg1 kinase complex to regulate autophagy. *Mol. Cell Biol.*, 30, 1049-1058 (2010) 査読有
- ③ Yoshimoto K, Jikumaru Y, Kamiya Y, Kusano M, Consonni C, Panstruga R, Ohsumi Y., Shirasu K. Autophagy negatively regulates cell death by controlling NPR1-dependent salicylic acid signaling during senescence and the innate immune response in Arabidopsis. *Plant Cell*, 21, 2914-2927 (2009). 査読有
- ④ Okamoto K, Kondo-Okamoto N, and Ohsumi Y. Mitochondria-anchored receptor Atg32 mediates degradation of mitochondria via selective autophagy. *Dev. Cell*, 17, 87-97 (2009) 査読有
- ⑤ Obara K, Noda T, Niimi K, Ohsumi Y. Transport of phosphatidylinositol 3-phosphate into the vacuole via autophagic membranes in *S. cerevisiae*. *Genes Cells*, 13, 537-547 (2008) 査読有
- ⑥ Kawamata T, Kamada Y, Kabeya Y, Sekito T, and Ohsumi Y. Organization of the pre-autophagosomal structure responsible for autophagosome formation. *Mol. Biol. Cell*, 19, 2039-2050 (2008) 査読有
- ⑦ Hanada T, Noda NN, Satomi Y, Ichimura Y, Fujioka Y, Takao T, Inagaki F, and Ohsumi Y. The Atg12-Atg5 conjugate has a novel E3-like activity for protein lipidation in autophagy. *J. Biol. Chem.*, 37298-37302 (2007) 査読有
- ⑧ Nakatogawa H, Ichimura Y, and Ohsumi Y. Atg8, a ubiquitin-like protein required for autophagosome formation, mediates membrane tethering and hemifusion. *Cell*, 130, 165-178 (2007) 査読有
- ⑨ Suzuki K, Kubota Y, Sekito, T, and Ohsumi Y. Hierarchy of Atg proteins in pre-autophagosomal

structure organization. *Genes Cells*, 12, 209-218 (2007). 査読有

[学会発表] (計 30 件)

多数の国際会議でプレナリーレクチャー及び招待講演を行っている。主なものを下記に記す。

発表者はすべて Yoshinroi Ohsumi

- ① 2010.1.9-1.16 Keystone Meeting, Snowbird, USA, Molecular Machinery for Autophagosome Formation.
  - ② 2009.10.16-10.21 EMBO Meeting, Swiss, Studies on yeast, *S. cerevisiae*, revealed that 18 Atg proteins are essential for starvation-induced autophagy.
  - ③ 2009. 9.24-9.28 5th ISA (International Symposium on Autophagy) 大津, Present knowledge of Atg proteins essential for autophagosome formation.
  - ④ 2009. 8.3-8.11 IUBMB, 招待講演 上海 Protein degradation.
  - ⑤ 2008.8.10-8.14 12th International Congress on Yeasts, Plenary Lecture, Kiev, Ukraine Molecular Dissection of Autophagy – Intracellular Recycling System –
  - ⑥ 2008. 7.14-7.19 The XX International Congress of Genetics, Plenary Lecture, Germany, Molecular Dissection of Autophagy in Yeast
  - ⑦ 2007.12.1-12.5 ASCB Plenary Lecture, Washington DC, USA, Molecular Dissection of Membrane Dynamics during Autophagy.
  - ⑧ 2007.10.20-10.24 IPS (International Proteolysis Society Conference) Greek, Molecular Dissection of Autophagy Process in Yeast.
  - ⑨ 2007.9.18-9.20 EMBO Meeting, Verona, Italy Two conjugation systems required for autophagosome formation.
  - ⑩ 2007.9.5-9.16 Japan Korea Joint Meeting, Seoul, Cellular recycling system-Molecular mechanism of autophagy.
  - ⑪ 2008.1.6-1.11 GRC (Gordon Research Conference) California, USA, Mechanism of autophagosome formation in yeast
  - ⑫ 2007. 8.19-8.24 GRC (Gordon Research Conference) London, Critical Questions on the molecular mechanism of autophagy.
  - ⑬ 2007.4.15-4.20 Keystone Meeting, California, Monterey, USA, Molecular Machinery Necessary for the Membrane Dynamics during Autophagy in Yeast.
- [図書] (計 0 件)  
[産業財産権]  
○出願状況 (計 0 件)  
○取得状況 (計 0 件)