

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659178

研究課題名(和文)オルタナティブ・オートファジーモニターマウスの作出

研究課題名(英文)Producing the monitor mouse of alternative autophagy

研究代表者

荒川 聡子 (Arakawa, Satoko)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・助教

研究者番号：90415159

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円、(間接経費) 780,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、オルタナティブ・オートファジーを可視化できるマウスの作製を行なった。まず、オートリソソームを可視化できるトランスジェニックマウスを作製し、Atg5欠損マウスと交配することによって、オルタナティブ・オートファジーのみを観察できるマウスを作製した。その結果、心臓の弁形成などにオルタナティブ・オートファジーが関与している事が判明した。我々はさらに、オルタナティブ・オートファジーの隔離膜がゴルジ体から形成される事を発見したため、ゴルジ分子の可視化マウスの作製した。また、新たに同定したオルタナティブ・オートファジー関連分子に関しても、可視化マウスの作製に成功している。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this research was producing the transgenic mouse for monitoring Atg 5/Atg7 independent alternative autophagy. Atg5/Atg7 dependent conventional autophagy could be detected by using the GFP-LC3 expressing transgenic mouse. In contrast, the alternative autophagy could not (nature 2009).

First, we produced the transgenic mouse for visualizing autolysosome. Then we mated it with Atg5 knockout mouse and analyzed the Atg5 deficient transgenic mouse. As a result, it was indicated that alternative autophagy was involved in cardiac valve formation. Next, we generated the transgenic mouse for visualizing the Golgi apparatus because we had discovered the isolation membranes were generated from the Golgi apparatus in the alternative autophagy. Furthermore, we produced transgenic mouse that expresses the GFP tagged molecules identified as molecules that were involved in alternative autophagy.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・実験病理学

キーワード：オートファジー モニターマウス

1. 研究開始当初の背景

オートファジーは細胞内の不要なタンパク質やオルガネラを分解するシステムであり、細胞の飢餓や薬剤ストレスなどで誘導される。我々は、オートファジーに必須とされてきた Atg5 や Atg7 に依存しない新たなメカニズムによる「オルタナティブ・オートファジー」を発見した。このオートファジーの生理機能を解析する上で、いつ、どこでオートファジーが働いているのか、その局在解析をすることは必須である。しかし、これまで広く用いられてきた従来のオートファジーマーカーの LC3-GFP はオルタナティブ・オートファジーを同定することはできず、そのためオルタナティブ・オートファジーの存在はこれまで見過ごされてきた。

2. 研究の目的

これまでは生体内におけるオートファジーは全て Atg5 および Atg7 に依存的メカニズムで起きると考えられてきたが、我々はこれらに依存しないオルタナティブ・オートファジーを発見した。従って、これら二つのオートファジーが誘導される細胞を時空間的に解析することが必要である。本研究ではオルタナティブ・オートファジー指標マウスを作成し、その組織特異性を解析できるマウスを作成することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) オルタナティブ・オートファジー誘導時に細胞内局在が変化し、コンベンショナル・オートファジー誘導時には変化しないタンパク質を同定する。

(2) 赤色蛍光タンパク質を融合させた遺伝子を作成し、野生型細胞、及び Atg5 欠損細胞に発現してオルタナティブ・オートファジーのみに反応することを確認する。

(3) 全身に発現するトランスジェニック

マウスを作成する。

(4) 発生の各段階でどの細胞にオルタナティブ・オートファジーが誘導されるか解析する。

4. 研究成果

はじめに、オートリソソームを可視化できるトランスジェニックマウスを作製し、Atg5 欠損マウスと交配することによって、オルタナティブ・オートファジーのみを観察できるマウスを作製した。その結果、心臓の弁形成などにオルタナティブ・オートファジーが関与している事が判明した。我々はさらに、オルタナティブ・オートファジーの隔離膜がゴルジ体から形成される事を発見したため、ゴルジ体の動態を明らかにできるようにゴルジ分子の可視化マウスの作製に成功した。また、新たに同定したオルタナティブ・オートファジー関連分子に関しても、可視化マウスの作製に成功している。

これらのマウスを用いて、分化過程の赤血球を観察したところ、最終分化の直前でオルタナティブ・オートファジーが活性化し、これによってミトコンドリアが除去されることが判明した。実際に、オルタナティブ・オートファジー欠損マウスでは、赤血球にミトコンドリアが残存している。なお、これらの知見をまとめた論文は、**Nature Communications** に受理された。

5. 主な発表論文等

(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 1 件)

査読あり

Honda S, Arakawa S, Nishida Y, Yamaguchi H, Ishii E, and Shimizu S. Ulk1-mediated Atg5-independent macroautophagy mediates elimination of

mitochondria from embryonic
reticulocytes, **Nature Commun.** *in*
press. 2014. doi: 10.1038/ncomms5004.

[学会発表] (計 4件)

(1) Analysis of programmed cell death
during mice development

荒川聡子、吉野育代、辻本賀英、清水重臣
日本分子生物学会 2013年12月5(3-6)日、
神戸

(2) 中心体数の制御機構の解明

荒川聡子、本田真也、渡辺雄一郎、小西昭
充、清水重臣

新学術研究領域「シリア・中心体による生
体情報フローの制御」第二回領域会議 2013
年11月28-29日、名古屋

(3) Analysis of programmed cell death
during interdigital web development

荒川聡子、吉野育代、辻本賀英、清水重臣
第22回日本 Cell death 学会学術集会、
2013年7月19-20日京都

(4) A Cell-Death Inducing Chemical
Targets on the Centrosome

Satoko Arakawa, Yuichiro Watanabe,
Michiko Murohashi, Shinya Honda,
Akimitsu Konishi, Hirofumi Yamaguchi
and Shigeomi Shimizu

The 25th CDB Meeting Cilia and
Centrosomes, from Fertilization to
Cancer, 2013年6月17日(17-18)、神戸

[図書] (計 3件)

(1) Shimizu S, Honda S, Arakawa S,
Yamaguchi H. Alternative
macroautophagy and mitophagy. **Int J**
Biochem Cell Biol. 50:64-66. 2014. doi:
10.1016/j.biocel.2014.02.016

(2) Shimizu S, Yoshida T, Tsujioka M,
Arakawa S. Autophagic cell death and

cancer. **Int J Mol Sci.** 15(2):
3145-3153. 2014.

doi:10.3390/ijms15023145

(3) 荒川聡子、清水重臣. オートファジー細
胞死. 医学のあゆみ Vol.246, No. 5,
364-368. 2013.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計 0件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

<http://www.tmd.ac.jp/mri/pcb/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

荒川 聡子 (ARAKAWA Satoko)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・助
教

研究者番号 : 90415159

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：