

野田 展生

公益財団法人微生物化学研究会 微生物化学研究所
主席研究員

オートファジーの膜動態解明を志向した構造生命科学

§ 1. 研究実施体制

(1) 野田グループ

- ① 研究代表者: 野田 展生 (公益財団法人微生物化学研究会微生物化学研究所、主席研究員)
- ② 研究項目
 - ・*In vitro* 解析による Atg8-PE 結合体の脱結合反応制御因子の探索
 - ・X線解析と *in vitro* 解析による Atg8 ホモログの構造機能差異の解析
 - ・X線解析と機能解析による Atg101-Atg13 間相互作用基盤およびその役割の解明

(2) 稲垣グループ

- ① 主たる共同研究者: 稲垣 冬彦 (北海道大学大学院先端生命科学研究院、特任教授)
- ② 研究項目
 - ・Atg8 の脂質化を担う Atg3 および Atg12-Atg5 結合体の NMR 解析

(3) 中戸川グループ

- ① 主たる共同研究者: 中戸川 仁 (東京工業大学大学院生命理工学研究科、准教授)
- ② 研究項目
 - ・ヌクレオファジーレセプター Atg39 および ER ファジーレセプター Atg40 の分子機能と細胞内動態の解析
 - ・Atg8 に結合する新規タンパク質の同定と解析

§ 2. 研究実施の概要

オートファジーは真核細胞に普遍的に保存された細胞内分解システムである。オートファジーの最大の特徴は、オートファゴソームの新生を伴う点であり、基本的にオートファゴソームで包み込んだものすべてを分解の場であるリソソームへと輸送し、分解する。オートファジーはこの特徴を利用し、蛋白質からオルガネラ、そして病原性細菌まで、種類もサイズも多様な対象を時には選択的に分解することで、生体を病気から守っている。オートファゴソーム形成は18種類の主要 Atg 因子群が担っており、それらが多様な相互作用を形成することで、オートファゴソーム形成を担うと考えられる。本研究課題では、構造生物学的手法、生化学的手法および細胞生物学的手法を組み合わせ用い、依然謎に包まれたオートファゴソームの形成機構を分子レベルで解明することを研究目標としている。平成27年度は主に以下の研究を実施した。

1) X線解析と *in vitro* 解析による Atg8 ホモログの構造機能差異の解析

高等生物では Atg8 のホモログが複数種存在しており、オートファジーにおいて異なる機能を担っていることが示唆されている。線虫 Atg8 ホモログ2種類の構造を決定した結果、両者はオープン型とクローズ型の互いに異なる構造を取っていることが明らかとなった。さらに哺乳類 Atg8 ホモログとの構造比較の結果、すべてのホモログがオープン型、クローズ型のどちらかに分類されることがわかった。機能解析を進めた結果、クローズ型 Atg8 は膜の凝集と融合を、オープン型 Atg8 は膜の凝集のみを引き起こす活性を有すること、その結果オートファジーにおいて異なる機能を担うことを明らかにした(文献1)。

2) X線解析と機能解析による Atg101-Atg13 間相互作用基盤およびその役割の解明

出芽酵母以外のほとんどの生物種においてオートファゴソーム形成に必須の役割を担う Atg101 について、Atg13 との複合体として結晶構造を決定した。その結果、Atg101 は HORMA 構造を有し、同じく HORMA 構造を有する Atg13 とヘテロ二量体を形成することで Atg13 の構造を安定化することが明らかとなった。さらに哺乳類細胞を用いた詳細な解析の結果、Atg101 は独自のループ構造を用いて Atg8 などの下流の因子群をオートファゴソーム形成の場にリクルートすること、その結果オートファジーが始動することを明らかにした(文献2)。

3) オートファジーによる核および小胞体の分解の目印 Atg39 および Atg40 の分子機能と細胞内動態の解析

窒素源飢餓条件下の出芽酵母細胞において、核由来の二重膜小胞および小胞体の断片がオートファジーで選択的に分解されることを明らかにし、それぞれの経路においてレセプター(分解標的に局在し、形成途中のオートファゴソーム膜に局在する Atg8 と結合して標的をオートファゴソームに効率良く取り込ませる分子)として機能するタンパク質 Atg39, Atg40 を同定した。さらに、Atg39 依存的な核由来小胞の分解は、窒素飢餓時の細胞の生存に重要であることを明らかにした。また、Atg40 は哺乳類の ER ファジーレセプターである FAM134B(ヒトの感覚神経障害の原因遺伝子産物として知られていた)の機能的ホモログであることが示唆された(文献3)。

文献1 Wu et al., Mol. Cell 60, 914-929 (2015)

文献2 Suzuki et al., Nat. Struct. Mol. Biol. 22, 572-580 (2015)

文献3 Mochida et al., Nature 522, 359-362 (2015)