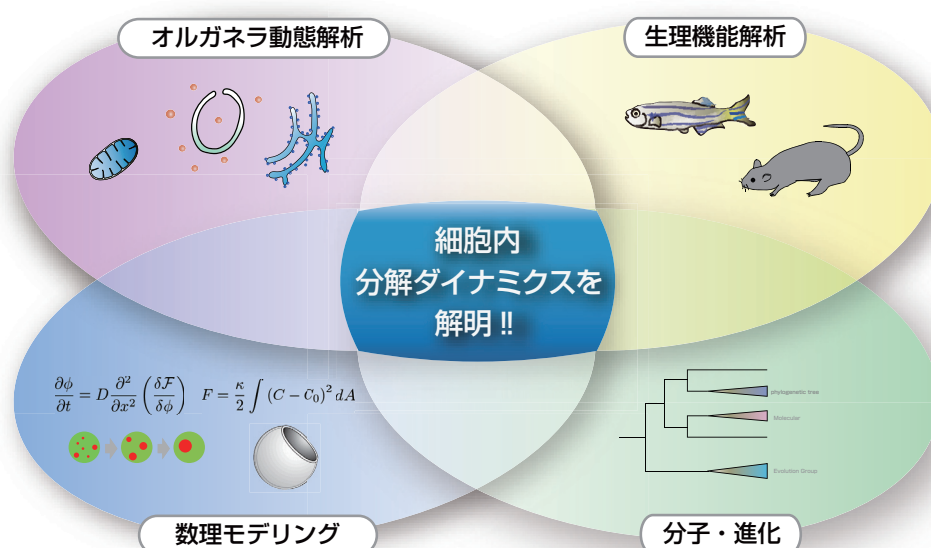
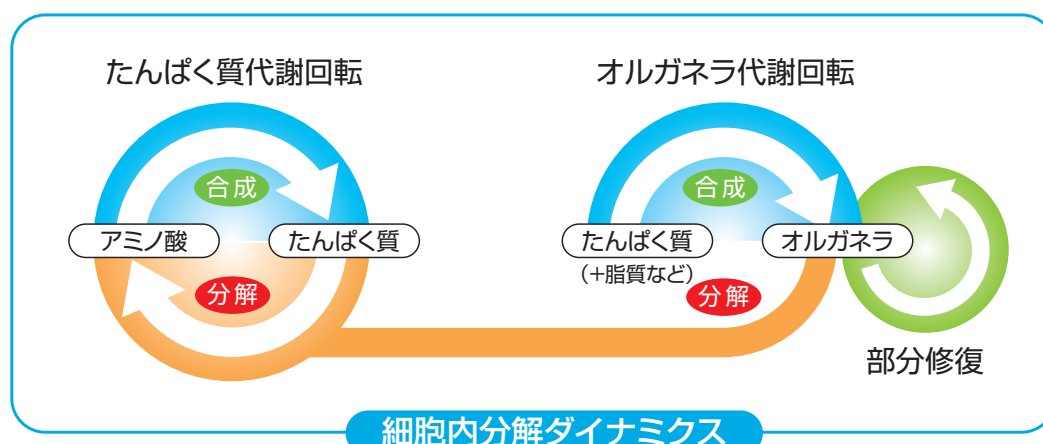


研究領域名	細胞内分解ダイナミクス
戦略目標	細胞外微粒子により惹起される生体応答の機序解明と制御
概 要	細胞内ではたんぱく質やオルガネラなどの合成と分解が絶えず起こっており、このダイナミックな代謝回転は、細胞恒常性、分化、環境適応などに重要です。主要な分解経路のひとつであるオートファジーは多くの真核生物に備わっているシステムで、たんぱく質だけでなくオルガネラのようなより大きな標的も分解します。オートファジーは基本的には非選択的な分解系ですが、一部の標的については選択的に分解することもできます。しかし、オートファジーによる分解の体系的および定量的理解はいまだ不十分です。オートファジーは老化やヒト疾患とも関係しているため、これまで以上に深い理解が求められています。 本プロジェクトでは、オートファジーによるたんぱく質とオルガネラの分解を中心に、オートファジーの革新的定量解析法開発、新規オルガネラ単離技術開発、脊椎動物での細胞内分解の意義の包括的理解、数理・物理学的手法を用いたオートファジー過程のモデル化、分子進化的視点に基づいたオートファジー機構の理解を目指します。これらの技術開発や解析は、細胞生物学、細胞生理学を中心とした幅広い基礎研究分野への波及効果とともに、細胞内代謝回転が関連する疾患の理解や治療戦略への展開が期待されます。



研究総括

水島 昇

東京大学 大学院
医学系研究科 教授

ヒト全遺伝子を対象とした網羅的探索による新規オートファジー遺伝子の発見 ー効率的なゲノム編集技術 CRISPR (クリスパー) 法を用いたスクリーニングー

雑誌名 *The Journal of Cell Biology*

論文タイトルと情報 Genome-wide CRISPR screen identifies TMEM41B as a gene required for autophagosome formation

DOI番号:10.1083/jcb.201804132 URL: <http://jcb.rupress.org/content/217/11/3817>

著者 Keigo Morita, Yutaro Hama, Tamaki Izume, Norito Tamura, Toshihide Ueno, Yoshihiro Yamashita, Yuriko Sakamaki, Kaito Mimura, Hideaki Morishita, Wataru Shihoya, Osamu Nureki, Hiroyuki Mano, and Noboru Mizushima* (*corresponding author)

- 概要
- ◆オートファジーの活性を測定できる蛍光プローブとCRISPR-Cas9ゲノム編集法を組み合わせることで、ヒト全遺伝子を対象としたオートファジー関連遺伝子の網羅的スクリーニング法を確立しました。
 - ◆この方法により、出芽酵母などで発見されていた既知のオートファジー関連遺伝子に加えて、オートファジーに必須である新規遺伝子TMEM41Bを発見しました。
 - ◆TMEM41B は出芽酵母には存在しないため、本発見を契機として、ヒトのオートファジーの分子機構がさらに明らかされることが期待されます。

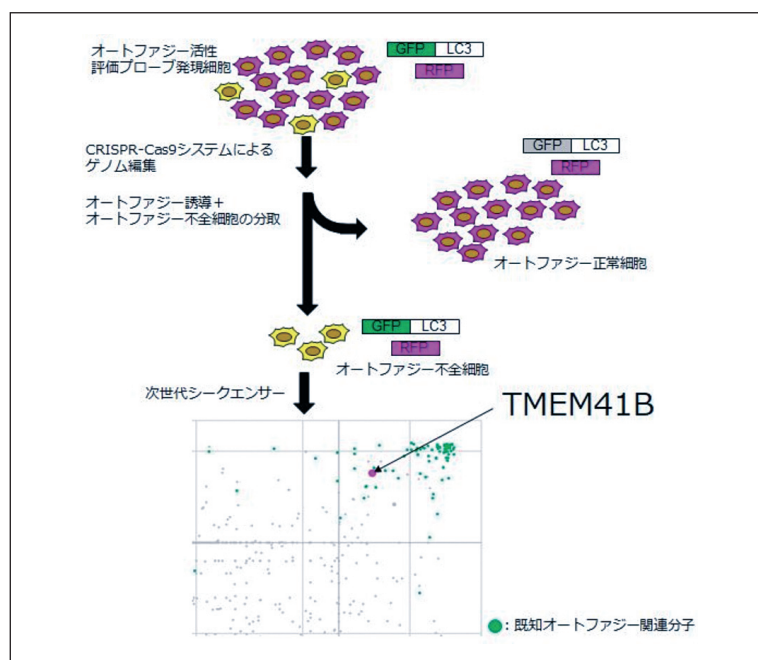


図1:ゲノムワイドスクリーニングの模式図

オートファジー活性評価プローブ発現細胞に対し、CRISPR-Cas9システムによるゲノム編集を施す。オートファジー誘導時に応答しない細胞集団（オートファジー不全細胞）を分取し、次世代シーケンサーで解析すると、数多くの既知オートファジー関連分子に加えてTMEM41Bが新規に同定された。

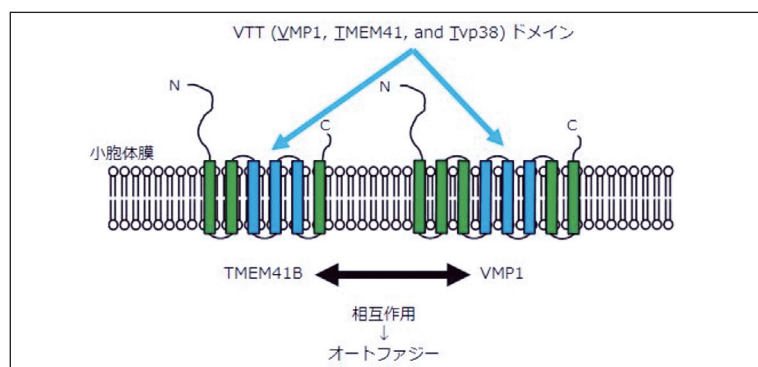


図2: TMEM41BとVMP1はともに小胞体上に局在する複数回膜貫通たんぱく質である

共通するドメイン (PfamではSNARE-Assocドメインとされていたが、今回VTT (VMP1, TMEM41, and Tvp38: 出芽酵母の遺伝子) ドメインと名づけた。TMEM41BとVMP1は相互作用しながらオートファゴソーム形成を担っている。

【問い合わせ先】 東京大学 大学院医学系研究科 分子生物学分野

〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1 TEL: 03-5841-2862 FAX: 03-3815-1490

URL: <http://square.umin.ac.jp/molbiol/> <https://www.jst.go.jp/erato/mizushima/>

オートファジー遺伝子の縮小進化 ～ユビキチン様ATG12結合系の共有結合から非共有結合への進化～

雑誌名 *Nature Structural & Molecular Biology*

論文タイトルと情報 Evolution from covalent conjugation to non-covalent interaction in the ubiquitin-like ATG12 system

DOI番号: 10.1038/s41594-019-0204-3 URL: <https://www.nature.com/articles/s41594-019-0204-3>

著者 Yu Pang*, Hayashi Yamamoto*, Hirokazu Sakamoto, Masahide Oku, Joe Kimanthi Mutungi, Mayurbhai Himatbhai Sahani, Yoshitaka Kurikawa, Kiyoshi Kita, Nobuo N. Noda, Yasuyoshi Sakai, Honglin Jia**, and Noboru Mizushima** (*equally contributed, **corresponding author)

概要

- ◆ オートファジーを起こすためには、ATGたんぱく質群のうち、ATG12とATG5がユビキチン様の共有結合によって連結しなければならないことが知られていました。
- ◆ 今回マラリア原虫やトキソプラズマのような寄生虫、一部の酵母では、ATG12とATG5が非共有結合によって結合していることを発見し、高度に保存されているオートファジー遺伝子も進化の過程で大きく変化し得ることを明らかにしました。
- ◆ 共有結合によるたんぱく質の連結は、たんぱく質のユビキチン化などにおいて広く見られますが、本研究成果は、共有結合性複合体の一部は、より単純な非共有結合性複合体へと進化し得ることを示しました。

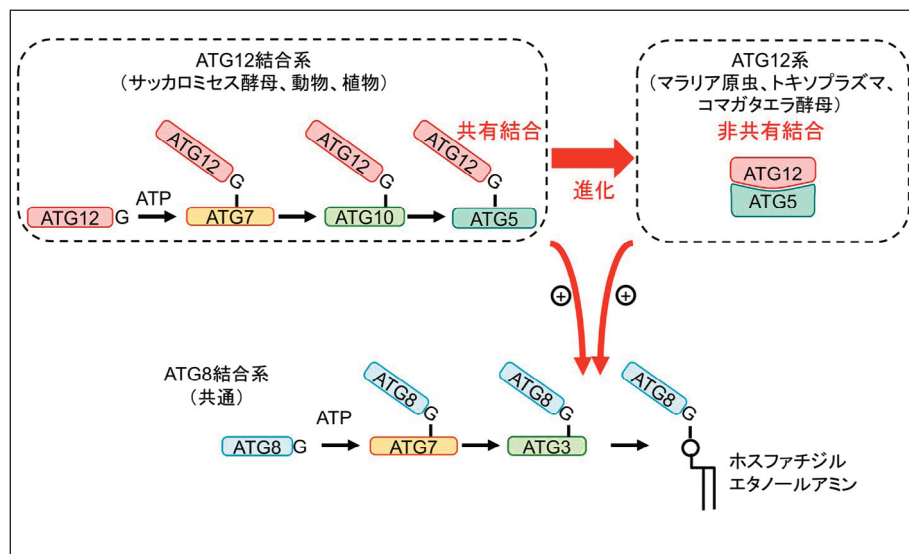


図1：ATG12結合の共有結合から非共有結合への進化

サッカロミセス酵母、動物、植物などで見られるエネルギー（ATP）を必要とするATG12共有結合システムは、エネルギーを必要とせず単純な非共有結合性のたんぱく質複合体形成へと進化している。ATG8のリン脂質修飾を促進するという機能はどちらのシステムも持っている。

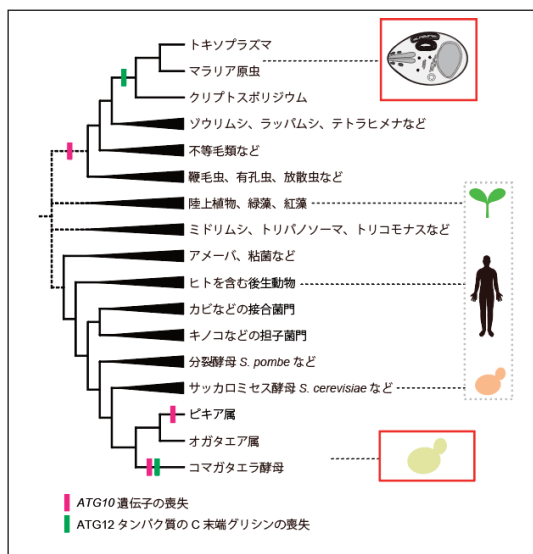


図2：主要な真核生物におけるATG12結合システムの進化の概略

ATG12とATG5の共有結合があることがこれまでわかっていたサッカロミセス酵母、ヒトを含む動物、植物（破線四角）と、今回明らかになったATG12とATG5の結合が非共有結合になったもの（実線四角）をハイライトした。

オートファジーによる小胞体分解の新規受容体の発見

雑誌名	<i>Molecular Cell</i>
論文タイトルと情報	Intrinsically disordered protein TEX264 mediates ER-phagy DOI番号: 10.1016/j.molcel.2019.03.033 URL: https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.03.033
著者	Haruka Chino, Tomohisa Hatta, Tohru Natsume, Noboru Mizushima* (*corresponding author)
概要	◆細胞内の分解メカニズムであるオートファジーの生理的意義の解明に向け、哺乳類細胞を用いてオートファゴソーム膜たんぱく質LC3Bに結合するたんぱく質を網羅的に解析し、選択的に分解されるものを探索しました。 ◆その結果、細胞小器官の一つである小胞体に存在する膜貫通たんぱく質TEX264を同定し、これがオートファジーによる小胞体の選択的分解に寄与していることを明らかにしました。 ◆今回同定したTEX264の今後の研究により、オートファジーによる小胞体の品質管理の生理的重要性や細胞内の恒常性維持機構への関与、さらにはオートファジーによる小胞体品質管理の破綻と疾患との関連の解明につながることが期待されます。

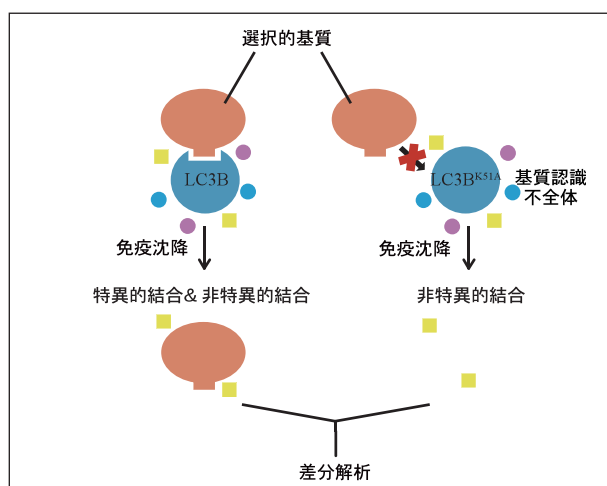


図1：新規選択的基質の網羅的探索のためのスクリーニング
野生型（正常）LC3Bと、LC3Bの選択的基質認識部位変異体（LC3BK51A）に結合するたんぱく質を質量分析法によって網羅的に同定し、両者の差分析を行った。野生型LC3Bに結合し、変異体に結合しないたんぱく質を新規の選択的基質の候補とした。

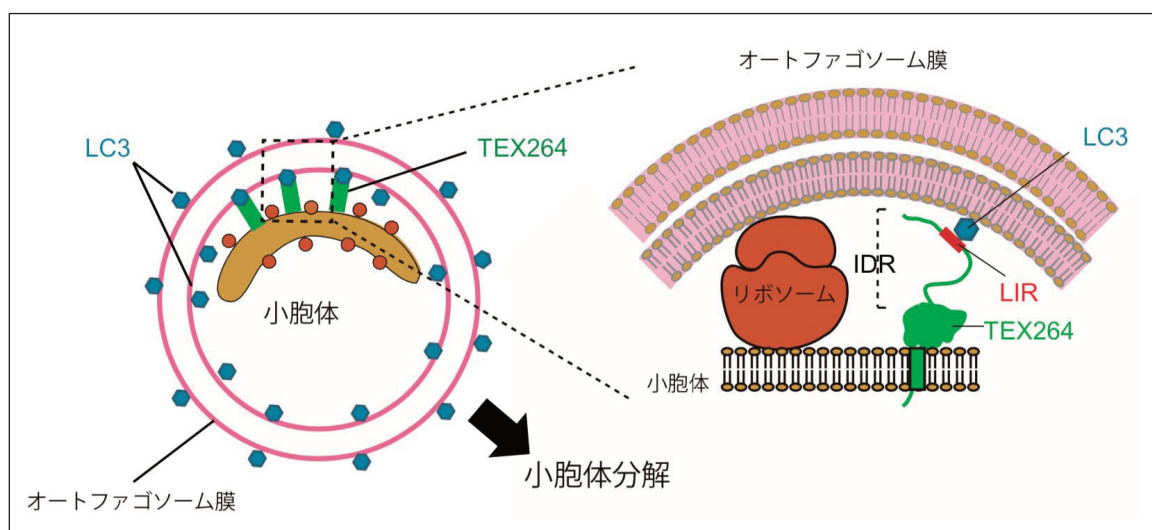


図2：小胞体オートファジーの新規受容体TEX264

TEX264は小胞体膜貫通たんぱく質でカルボキシ末端のLC3結合部位（LIR）を介してオートファゴソーム膜上のLC3と結合し、小胞体をオートファゴソーム上に誘導する受容体として機能する。長い天然変性領域は、リボソームによって隔てられた小胞体膜とオートファゴソーム膜を連結するのに重要である。