

2023 年度年次報告書

細胞内現象の時空間ダイナミクス

2020 年度採択研究代表者

野田 展生

北海道大学 遺伝子病制御研究所
教授

多階層高次構造体群が駆動するオートファジーダイナミクス

主たる共同研究者:

鈴木 邦律 (東京大学 大学院新領域創成科学研究科 准教授)

野田 展生 ((公財)微生物化学研究会 微生物化学研究所 特任研究員)

研究成果の概要

オートファゴソーム新生過程は約 20 種類の主要 Atg 因子が担っており、それらは超分子複合体群や非膜オルガネラである PAS を形成する。そして小胞体 (ER) や液胞などのオルガネラと連携してオートファゴソームの新生に働く。すなわちオートファゴソーム新生は多階層高次構造体群が連携して進行するイベントである。本研究では、これら高次構造体群の構造、ダイナミクス、機能発現、さらにはその制御のメカニズムを、*in vitro* 再構成系および細胞系という2つの相補的な系を統合的に用いて解析することで、オートファゴソーム新生機構の全貌を明らかにするとともに、高次構造体群間のコンタクトの実体や脂質輸送機構、液-液相分離の役割などの解明を通して、他の細胞内現象にも共通する基本原理を解明することを目指す。

昨年度までに明らかにした脂質化 Atg8-E1-E2-E3 による脂質膜成形活性について、これら因子群が *in vitro* の膜上で形成する網目状構造体を可視化するとともに、酵母隔離膜上への局在を確認し、新たな隔離膜成形メカニズムとして報告した。隔離膜は ER exit site と相互作用した上で脂質の供給を受ける。隔離膜と ER exit site の相互作用を画像解析により見積るシステムを開発した。酵母マイトファジーに働く新規因子 Atg44 について結晶構造を決定し、特徴的な両親媒性構造を明らかにするとともに、Atg44 が *in vitro* で単独で脂質膜分裂活性を有することを発見、新規ミトコンドリア分裂因子としてマイトファジーに働くというモデルを提唱した。哺乳類の選択的オートファジー基質である p62 ボディに ULK1 が濃縮し p62 を直接リン酸化すること、そのリン酸化により KEAP1 は p62 ボディへと隔離され、酸化修飾非依存的に NRF2 が活性化されることを見出した。オートファジーにより液胞内に輸送された膜構造体が Atg15 の作用により直接分解されることを示した。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Alam, J. M., Maruyama, T., Noshiro, D., Kakuta, C., Kotani, T., Nakatogawa, H. and *Noda, N. Complete set of the Atg8-E1-E2-E3 conjugation machinery forms an interaction web that mediates membrane shaping. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 31, 156-169 (2024).
- 2) Fukuda, T., Furukawa, K., Maruyama, T., Yamashita, S., Noshiro, D., Song, C., Ogasawara, Y., Okuyama, K., Alam, J. M., Hayatsu, M., Saigusa, T., Inoue, K., Ikeda, K., Takai, A., Chen, L., Lahiri, V., Okada, Y., Shibata, S., Murata, K., Klionsky, D. J., *Noda, N. N. and *Kanki, T. The mitochondrial intermembrane space protein mitofissin drives mitochondrial fission required for mitophagy. *Mol. Cell* 83, 2045-2058 (2023).
- 3) Ikeda, R., Noshiro, D., Morishita, H., Takada, S., Kageyama, S., Fujioka, Y., Funakoshi, T., Komatsu-Hirota, S., Arai, R., Ryzhii, E., Abe, M., Koga, T., Motohashi, H., Nakao, M., Sakimura, K., Horii, A., Waguri, S., *Ichimura, Y., *Noda, N. N. and *Komatsu, M. Phosphorylation of phase-separated p62 bodies by ULK1 activates a redox-independent stress response. *EMBO J.* 42, e113349 (2023).
- 4) *Watanabe, Y., Iwasaki, Y., Sasaki, K., Motono, C., Imai, K., *Suzuki, K. Atg15 is a vacuolar phospholipase that disintegrates organelle membranes. *Cell Rep.* 42, 113567 (2023).
- 5) Shi, Y., *Suzuki, K. Quantitative analysis of the spatial distance between autophagy-related membrane structures and the endoplasmic reticulum in *Saccharomyces cerevisiae*. *Autophagy* 23,

1-8 (2024).