

2024 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。

Atg1 複合体液滴に E3 が液滴に濃縮されるメカニズムが Atg12-Atg17 の特異的相互作用であることを、多様な手法を組みあわせて明らかにした。さらに Atg8 脂質化修飾を受けた膜小胞は液滴内部へ取り込まれることをレプリカ EM で明らかにした。哺乳類のオートファジー始動を担う ULK 複合体のコア構造を AlphaFold で予測し、*in vitro*、*in vivo* の解析で予測された相互作用が実際に重要であることを明らかにした。Atg2-Atg18 複合体による脂質輸送過程を全原子 MD シミュレーションで解析し、Atg2 の cavity 内にリン脂質がタイトに並んで結合すること、Atg18 による PI3P 認識が cavity から膜への脂質移動を促進することを示した。さらに cavity を途中で狭窄する変異体を作成し、多様な手法で解析することで、Atg2 による脂質輸送はブリッジモデルで行われることを示した。蛍光色素 R18 を用いることで、細胞内で ER-隔離膜間の脂質輸送を可視化することに成功、さらに脂質輸送が可逆的であること示した。脂質スクランブラーゼである Atg9 は線虫においてオートファゴソーム形成以外にリソソームの恒常性維持に働くことを示した。

【代表的な原著論文情報】

- 1) *Fujioka, Y., Tsuji, T., Kotani, T., Kumeta, H., Kakuta, C., Fujimoto, T., Nakatogawa, H., *Noda, N.N. Phase separation promotes Atg8 lipidation for autophagy progression. *bioRxiv*, Posted August 30, DOI:10.1101/2024.08.29.610189 (2024).
- 2) Hama, Y., Fujioka, Y., Yamamoto, H., Mizushima, N., *Noda, N.N. The triad interaction of ULK1, ATG13, and FIP200 is required for ULK complex formation and autophagy. *eLife* reviewed preprint, DOI:10.7554/eLife.101531.1 (2024).
- 3) Hao, L., Midorikawa, T., Ogasawara, Y., Hama, Y., Lang, H., Noda, N.N., *Suzuki, K. Reversible one-way lipid transfer at ER-autophagosome membrane contact sites via bridge-like lipid transfer protein Atg2. *bioRxiv*, Posted March 28, DOI:10.1101/2025.03.27.645728 (2025).
- 4) Peng, K., Zhao, G., Zhao, H., Noda, N. N. and *Zhang, H. The autophagy protein ATG-9 regulates lysosome function and integrity. *J. Cell Biol.* in press.