

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

2020年度 年次報告書

野田 展生

(公財)微生物化学研究会 微生物化学研究所
部長

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

§ 1. 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。

本年度は *in vitro* 再構成した初期 PAS 液滴に対して下流 Atg 因子群を導入し成熟型 PAS 液滴を再構成するとともに、成熟型 PAS 液滴はオートファジーの進行に必要な酵素反応を行う反応場として機能し得ることを明らかにした。酵母オートファゴソーム膜における脂質分布を解析し、各種リン脂質が脂質二重層両層にほぼ対称性に分布すること、新規合成 PC はオートファゴソーム膜に優先的に取り込まれること、脂質スクランブラーゼ活性が低下した Atg9 変異体発現細胞では、オートファゴソーム膜の細胞質側に偏って分布することを示した。ER と隔離膜の距離を計測するシステムを開発し、Atg2 および Atg1 欠損で隔離膜と ER の距離が離れることを明らかにした。脂質化 Atg8 をナノディスクに再構成して NMR 解析を行うことで、膜上での Atg8 の配向を明らかにし、Atg8 と膜との相互作用が膜の摂動を引き起こし、それが効率的なオートファゴソーム形成を可能にすることを明らかにした。

§ 2. 研究実施体制

(1) 野田グループ

- ① 研究代表者: 野田 展生 (微生物化学研究会微生物化学研究所 部長)
- ② 研究項目
 - ・初期 IM 新生過程の *in vitro* 再構成
 - ・IM 伸展過程の *in vitro* 再構成
 - ・IM 閉鎖過程の *in vitro* 再構成
 - ・Atg および ESCRT 因子群の構造解析

(2) 辻グループ

- ① 主たる共同研究者: 辻 琢磨 (順天堂大学大学院医学研究科 特任助教)
- ② 研究項目
 - ・初期 IM 新生過程の超微分子構築解析
 - ・IM 伸展過程の超微分子構築解析
 - ・IM 閉鎖過程の超微分子構築解析

・Atg および ESCRT 因子群の超微分子構築解析

(3) 鈴木グループ

① 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)

② 研究項目

- ・初期 IM 新生過程のイメージング
- ・IM 伸展過程のイメージング
- ・IM 閉鎖過程のイメージング

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Transmembrane phospholipid translocation mediated by Atg9 is involved in autophagosome formation”, *Journal of Cell Biology*, vol. 220, No. 3, e202009194, 2021