

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

2021年度  
年次報告書

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

## § 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 液滴への下流 Atg 因子の導入実験を継続し、PAS 液滴が Atg8-PE 結合体の産生に重要な反応場として働くことを明らかにした。Atg8 の脱脂質化酵素 Atg4 の新規変異体を取得し、PE 化反応依存的な Atg8 の PAS 蓄積を明らかにした。Atg2 の予測構造をもとに変異体解析を行い、Atg2 による小胞体-隔離膜間の脂質輸送の詳細モデルを提唱した。オートファゴソーム形成への新規合成脂質の寄与を調べるため、新規合成されたホスファチジルセリン (PS) およびホスファチジルイノシトール (PI) を細胞内で可視化するための系をクリック反応を利用して構築中である。再構成実験で同定した脂質化 Atg8 の膜摂動活性が、酵母に加えて哺乳類でも効率的なオートファジーに重要であることを示した。植物 ATG12-ATG3 複合体の結晶構造を決定し、Atg12 結合モチーフを提唱した。

## § 2. 研究実施体制

### (1) 北大・野田グループ

- ① 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)
- 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

### (2) 微化研・野田グループ

- ① 主たる共同研究者:野田 展生 ((公財)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

### (3) 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

### (4) 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) “Membrane perturbation by lipidated Atg8 underlies autophagosome biogenesis”, Nat. Struct. Mol. Biol., vol. 28, pp.583-593, 2021
- 2) “Atg12-Interacting Motif Is Crucial for E2-E3 Interaction in Plant Atg8 System.”, Biol. Pharm. Bull., vol. 44, pp. 1337-1343, 2021