

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

2022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

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)

辻 琢磨 (順天堂大学 大学院医学研究科 特任助教)

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。

Atg8 脂質化反応を担う E1 (Atg7), E2 (Atg3), E3 (Atg12-Atg5-Atg16) は酵素としての機能だけが着目されてきた。In vitro 再構成系の解析により、これら酵素は酵素活性とは別に脂質化 Atg8 とともに機能することでオートファゴソーム形成過程と類似した膜形態変化を引き起こすことを見出した。さらに脂質化 Atg8 とこれら酵素群は弱い相互作用ネットワークを形成し、膜上で網目状構造を形成することを明らかにした。哺乳類細胞を用いてオートファジー初期過程の解析に着手した結果、酵母 PAS と同様、ER 上に局在した複数のオートファジー因子が液滴の挙動を示すことが明らかとなった。オートファジー特異的阻害剤の開発を目指し、ヒト ATG5-ATG16L1 複合体を標的とした PPI 阻害ペプチドを開発した。本ペプチドは ATG5 に対してナノモルオーダーの親和性を示し ATG16L1 との結合を阻害すること、プロテアーゼへの高い耐性と良好な細胞膜透過性を示すこと、細胞毒性を示さない濃度でオートファジー活性を特異的に阻害することが明らかとなった。

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Targeting the ATG5-ATG16L1 protein-protein interaction with a hydrocarbon-stapled peptide derived from ATG16L1 for autophagy inhibition”, J. Am. Chem. Soci., vol. 144, pp.17671-17679, 2022
- 2) “Development of new tools to study membrane-anchored mammalian Atg8 proteins”, Autophagy, vol. 17, pp.1-20, 2022
- 3) “The UFM1 system regulates ER-phagy through the ufmylation of CYB5R3”, Nat. Commun., vol. 13, pp.7857, 2022