

藤木 幸夫

九州大学大学院理学研究院・教授

## オルガネラーホメオスタシスと代謝調節・高次細胞機能制御

### § 1. 研究実施の概要

生命体の基本単位は細胞であり、真核細胞は非常に緻密に分化した膜構造に基づく生命活動を行っている。代謝活動も各オルガネラが代謝を機能分担し、オルガネラーホメオスタシス(合成系と分解系のバランス)は、各細胞が必要とする代謝により支配されている。本課題研究は、脂質代謝等を担い生命体に必須なペルオキシソームの形成と分解の分子制御機構と、その破綻により起こる代謝障害の全貌解明により、「代謝が調節するオルガネラーホメオスタシスと高次細胞機能制御」の基本原則を導き出し、それに基づく細胞機能制御基盤技術を確立することを目的としている。具体的には、代謝活動が支配するペルオキシソーム動態ネットワークと遺伝子発現ネットワークの解明を目指して、以下に述べる種々の検討を行った。この課題研究の推進により、形態形成・脳中枢神経系の形成と障害の理解や食糧・有用タンパク質生産など、医学・農学の応用領域へも大きく貢献することができる。

### § 2. 研究実施体制

#### (1)「藤木」グループ

① 研究分担グループ長: 藤木 幸夫 (九州大学大学院、教授)

#### ② 研究項目

「代謝が支配するオルガネラーホメオスタシスと高次細胞機能制御」

1. ペルオキシソーム誘導制御系の解析
2. メタボローム解析系の確立と試料解析
3. ペルオキシソーム動態制御系の解析
4. 脳・神経形成や器官形成異常のメカニズムの解明
5. ペルオキシソームの誘導と分解系の解析

(2)「阪井」グループ

① 研究分担グループ長:阪井 康能 (京都大学大学院、教授)

② 研究項目

「代謝が支配するオルガネラ-ホメオスタシスと高次機能発現 (真核微生物)」

1. オルガネラ形成障害とペルオキシソーム内外におけるレドックス動態の解明
2. ペルオキシソーム形成障害細胞におけるメタボローム解析
3. 酵母系を利用したペルオキシソーム誘導制御系の解析
4. 酵母を利用したペキシファジー・オートファジーを支配する代謝レドックス制御系の解析
5. 植物病原菌の病原性発現におけるペルオキシソーム代謝と動態の解析

### § 3. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(4-1)に対応する)

本課題研究では、代謝と細胞内代謝環境がどのようにして生命現象の基本単位・細胞機能の担い手であるオルガネラのホメオスタシスを制御し、さらにオルガネラの高次細胞機能を発現しているのか、これらの分子機序について明らかにすることを目的としている。ペルオキシソームを対象に、代謝と細胞内代謝環境によるペルオキシソーム-ホメオスタシスの制御機構を時間的、空間的の両面からの追究している。

藤木グループは哺乳動物ペルオキシソーム系を主として対象とし、共同研究者阪井のグループは酵母を中心とした真核微生物系・ペルオキシソーム分解系を中心に、ペルオキシソームホメオスタシス研究を推進している。以下、具体的研究内容と成果を記す。

1) ペルオキシソーム誘導制御系の解析

a) ペルオキシソーム誘導制御の分子機構を明らかにすべく、抗高脂血剤などいわゆるペルオキシソーム増殖剤 (PP)や 4-phenylbutyrate 等による哺乳動物細胞におけるペルオキシソームの増殖・誘導系をいくつかの細胞株において確立した。その結果、Fao 細胞や CHO 細胞におけるペルオキシソームの誘導・増殖を形態学的、ペルオキシシン Pex11p $\alpha$ など被誘導性構成タンパク質レベルで観察系の確立に成功、さらには誘導機序の解明も含め誘導阻害剤のスクリーニング系の確立も始めている。

b) ペルオキシソームマトリクスに局在する acyl-CoA oxidase (AOx) ならびに D-bifunctional protein (D-BP) は、極長鎖脂肪酸の $\beta$ -酸化、とくに docosahexaenoic acid (DHA, C22;  $\Delta$ 6)合成の最終段階においてその反応の中心的役割を担う。AOx または D-BP 単独酵素欠損症患者由来の線維芽細胞では、極長鎖脂肪酸の蓄積、DHA 合成量の低下とともに、ペルオキシソーム数の減少、肥大化等の形態異常が認められる。そこで、DHA 存在下これら患者線維芽細胞を培養したところ、ペルオキシソームの伸長化に続き、顆粒状化及びペルオキシソーム数の増加等の形態回復が起こることを見出した。以上の結果から、DHA はペルオキシソームの分裂に重要な役割を果た

しているものと推察された。現在、脂肪酸代謝物によるオルガネラ形態制御機構の解明のため、ペルオキシシン Pex11p による増殖系との関連性も含め詳細な検討を進めている。

## 2) メタボローム解析系の確立と試料解析

ペルオキシソームでの代謝情報を網羅的に理解する一環として、ヒト健常人およびペルオキシソーム機能障害患者由来線維芽細胞を用いて脂質代謝能について検討し、ツェルバーガー症候群 *PEX10* 障害患者細胞では極長鎖脂肪酸の著しい上昇と DHA (docosahexaenoic acid) などの低下が認められることを先に報告している。これらの網羅的解析を目的として、質量分析機によるリポドーム(メタボローム)解析法を確立すべく、本 CREST 研究代表者、田口 良教授との共同研究として進めている。今年度、同様の解析系を当該研究室でほぼ確立することができた。

### ・ ツェルバーガー症候群患者由来線維芽細胞のリポドーム解析

ヒト健常人およびペルオキシソーム機能障害患者由来線維芽細胞のリン脂質組成を LC/MS により網羅的に解析を行った。その結果、患者由来細胞において、プラスマローゲン型ホスファチジルエタノールアミン(pl-PE)の顕著な低下、およびそれに反比例したジアシル型ホスファチジルエタノールアミン(PE)の増加が観察された。また、極長鎖脂肪酸を有するホスファチジルコリン(PC)の増加が観察された。高度不飽和脂肪酸(PUFA)を有するリン脂質の測定を行ったところ、患者由来細胞において DHA および EPA (eicosapentaenoic acid) を有するリン脂質が低下していることが明らかとなった。このように、極長鎖脂肪酸やプラスマローゲンのリポドーム(メタボローム)解析法を確立することができた。

## 3) ペルオキシソーム動態制御系の解析

ペルオキシソーム形成因子(*PEX* 遺伝子産物、ペルオキシシン)のオルガネラ形成過程における生化学的機能、とくにペルオキシソーム生合成初期過程(膜形成)やペルオキシソームタンパク質輸入装置を明らかにし、さらにはこれら装置のメタボライト等による動態、機能調節機構の解明を目指している。

a) マトリックスタンパク質の輸送機構：ペルオキシソーム局在化シグナル PTS2 タンパク質の PTS2 受容体 Pex7p を介したペルオキシソームへの無細胞輸送系の確立に成功、PTS1 受容体 Pex5p および Pex7p は ATP 非依存的にインポートされること、Pex5p と Pex7p は化学量論的にそれぞれ異なった様式でペルオキシソーム膜上タンパク質輸送装置複合体間を遷移することなど、その基本的分子機構をほぼ明らかにした(図1 藤木論文リスト:1)。また、Pex5p のペルオキシソームからのリサイクリングを活性化する新規因子をラット肝臓シトゾールから精製、同定した(Miyata & Fujiki, 論文投稿中)。この因子は AAA-ATPase ファミリーの Pex6p と相互作用し、正常なマトリックスタンパク質の輸送に必要であり、この因子を介したペルオキシソーム形成制御機構の解明に取り組んでいる。また、Pex10p がユビキチンリガーゼとして、Pex5p のシトゾール-ペルオキシソーム間のリサイクリングの調節に関わっていることも、最近見出している。さらに、Pex5p の膜上ドッキング因子 Pex14p の構造と機能制御機構の解明へ向け、N-末端領域(アミノ酸配列 25-70)の結晶構造、とくに Pex5p の WXXXF/Y モチーフとの結合部位を昨年度明らかにした(*PNAS* 2009)。現在、Pex14p の N-末端領域(アミノ酸配列 20-70)の詳細な明らかにすべく、その発現・精製と結晶化を試みている。その単量体-2量体間変換の分子形状を明らかにした(藤木論文リスト:2)。

b) ペルオキシソーム膜の形成機構：膜形成因子 Pex19p が、新規合成されたペルオキシソーム膜タンパク質と細胞質中で複合体を形成、経時的にペルオキシソーム膜上の Pex3p に標的化する経路(Class I: Pex19p- and Pex3p-dependent membrane protein import pathway)(図1参照)に加えて、

昨年度この Pex3p の輸送機構を追究、他の PMP と同様にシトゾールで翻訳後 Pex19p と複合体を形成、膜上 Pex16p へ局在化する新規経路を見出した (Class II: Pex19p- and Pex16p-dependent membrane protein import pathway) (*JCB* 2008)。今年度は、Pex26p (Pex1p-Pex6p 複合体の膜上リクルート因子)や Fis1(ダイナミン様タンパク質 1、dlp1 の膜上ドッキング因子)などペルオキシソーム C 末アンカータンパク質 (C-TA) の輸送経路について同様にセミインタクト細胞系を用いて検討したところ、C-TA は細胞質で Pex19p と複合体を形成した後、膜上 Pex3p へ標的化される経路、すなわち Class I pathway によることを見出した。近年、小胞体やミトコンドリア外膜に局在する C-TA は他の膜タンパク質の輸送経路とは異なる、C-TA に特化した経路によって輸送されていることが報告されたが、ペルオキシソーム C-TA は他の PMP と生合成経路を共有しているという点で、それらとは異なる特異的輸送と考えられる。

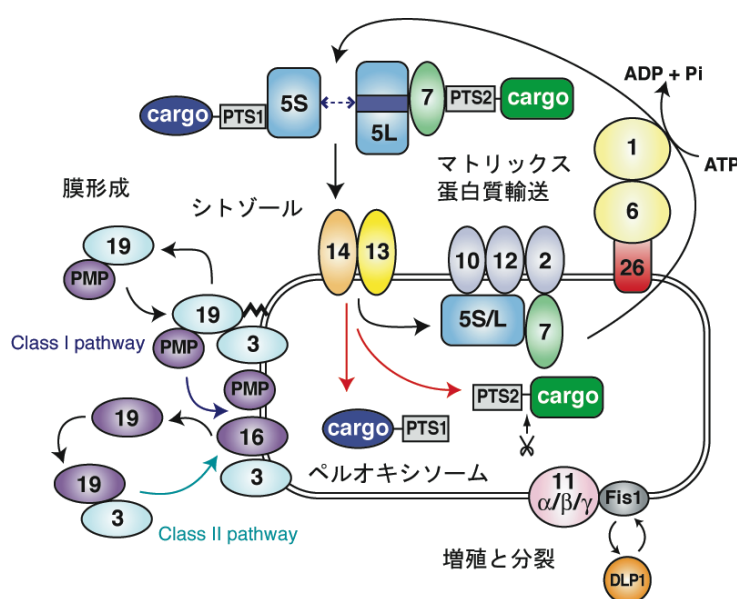


図1. 哺乳類ペルオキシソーム形成の分子基盤

PTS1 タンパク質は PTS1 受容体, Pex5p[2 種のアイソフォーム, S 型と L 型(S 型内部に 37 アミノ酸の挿入配列)が存在]により運ばれるが, PTS2 タンパク質は Pex5pL-Pex7p-PTS2 カargo 複合体として輸送され、膜透過装置を経てペルオキシソーム内へ局在化される。一方、AAA ATPase ペルオキシソーム複合体 Pex1p-Pex6p は Pex26p によりペルオキシソーム膜へリクルートされ、Pex5p のリサイクルを仲介する。Pex3p, Pex16p, Pex19p はペルオキシソーム膜アセンブリーに必須である。3 種の Pex11p アイソフォーム、ダイナミン様タンパク質 1(DLP1)および Fis1 はペルオキシソームの増殖・分裂制御に関わる。

c) ペルオキシソームの形態制御機構: ペルオキシソームの形態制御因子として、ダイナミン様タンパク質 DLP1、その膜上レセプター Fis1、加えてペルオキシソームの分裂に必須な Pex11p との 3 者複合体の協奏的作用によりペルオキシソームの形態・伸長分裂が制御されていることを、先に明らかにしている。現在、これらの複合体と相互作用する調節因子の探索を目的として、Pex11p や Fis1 結合タンパク質の同定、さらにはそれらの因子の機能・動態の解明へ向けて推進している。

d) ペルオキシソームの形成・動態制御機構解明へ向けた新規変異細胞の分離: DNA 変異剤として ICR191 を用いて分離した新規な表現型を呈する数種の CHO 変異細胞株につき、遺伝子型-表現型の相関を含めた解析を進めている。

#### 4) 脳・神経形成や器官形成異常のメカニズムの解明

a) エーテルリン脂質プラスマローゲンの生合成不全は神経疾患を呈し、患児は生後早期に死に至るなど、プラスマローゲンは機能的に非常に重要なリン脂質である。プラスマローゲンは全 7 段階の反応を経て合成されるが、ペルオキシソームはプラスマローゲン生合成経路のうち初期 2 段階反応を、dihydroxyacetonephosphate acyltransferase (DHAPAT) および alkyl-dihydroxyacetone phosphate synthase (ADAPS) により担う。すなわち、DHAPAT の代謝産物である acyl-dihydroxyacetone phosphate の脂肪酸が ADAPS によって長鎖アルコールへと置換されること

によりエーテル結合を有する alkyl-dihydroxyacetone phosphate (alkyl-DHAP)が生成され、その後、小胞体において、sn-2 位への脂肪酸の転移、sn-3 位へのエタノールアミンの付加、ビニルエーテル結合の形成を経て完了される。我々は昨年度、CHO 細胞よりペルオキシソーム形成は正常であるものの、プラスマローゲン合成酵素 ADAPS に変異を有する ZPEG251 の分離に成功するとともに、小胞体での生合成終了後、post-Golgi compartments へ ATP 依存的にプラスマローゲンが輸送されることを明らかにしている(BBA-MCR 2008)。今年度は、プラスマローゲンの生合成の調節に関して、非常に興味深い次のことを明らかにした:i) ペルオキシソーム膜蛋白質である fatty acyl-CoA reductase1 (Far1)が、プラスマローゲン合成中間産物である alkyl-DHAP 産生に必須な長鎖アルコールを産生する酵素である； ii)プラスマローゲンの生合成は生合成経路の中間産物ではなく、最終産物であるプラスマローゲンによって調節される； iii)この調節は、細胞内プラスマローゲン量依

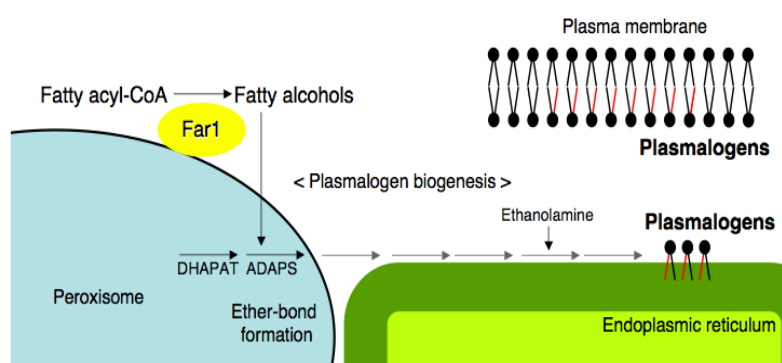


図2. プラスマローゲンの生合成と細胞内輸送

スタシスに関するまったく新しい発見として非常に高い評価を得た。

存的な Far1 の安定性制御を介した活性調節によって達成されている(図2、藤木論文リスト:3；年間掲載論文のトップ1%に与えられる“Paper of the Week”に選出、公表された)。これらの知見は、リン脂質ホメオ

b) ペルオキシソーム病において代表的な障害、脳・神経系形成異常の原因解明に向けて、グリオーマ細胞に PTS1 receptor Pex5p や Pex14p のドミナントネガティブ体を発現させたところ、ペルオキシソームの形成障害を起こし、細胞自身の形態異常も観察された。ついで、これら 2 種の細胞株の樹立に成功、詳細な細胞生物学的検証と並行して脂質解析を行ったところ、これら細胞株ではプラスマローゲン PE の減少および極長鎖脂肪酸の蓄積が観察された。さらには、これらペルオキシソーム形成・機能障害性グリオーマ細胞株をフィーダー細胞としてラット海馬神経初代培養細胞と共培養することにより、神経形成への影響を現在検討している。

c) 共同研究者阪井グループが開発したレドックス変化を検知できる蛍光分子プローブ(レドックスフロール)を用いて、ペルオキシソーム形成障害性・欠損性変異細胞(CHO 変異細胞)および正常細胞とのレドックス状態を検討したところ、変異細胞では細胞質が非常に還元的状態になっていることを全く予期せぬ結果として見出した(図4、論文改訂版投稿中)。これは、ペルオキシソーム形成障害性疾患の統合的理解に繋がるものと考えられ、研究代表者グループと共同研究者阪井グループとの共同研究の特筆すべき成果として挙げておきたい。詳細は下記項目6)を参照されたい。

##### 5) ペルオキシソームの誘導と分解系の解析

動物細胞ではほとんど不明のペルオキシソーム分解系の分子機構を明らかにすべく種々の検討のなかで、CHO 細胞を飢餓条件下で培養後、再度通常培地に戻した際、速やかなペルオキシソーム特異的なオートファジーと思われる現象(リソゾームでの分解)が起きることを、初めて形態学的お

よび生化学的に見出した。その特異的分解には、LC3(Atg8)およびペルオキシソーム形成因子 Pex14p の関与を見出した(*BBA-MCR* 2008)。この過程は、ほ乳動物細胞におけるペルオキシソームのホメオスタシス維持の一機構と推察される。さらに詳細を検討したところ、LC3-II と Pex14p の相互作用はペルオキシソームのマトリックスタンパク質の輸送を担う Pex5p により阻害されることを、in vivo および in vitro の系で見出した。Ub-結合因子 p62 など他の因子の関わりも含め、レポータータンパク質を活用しつつ詳細な分子機構の検討している。阪井グループも酵母系でのペルオキシソームの合成ならびに分解の重要因子として Pex14p を見出していること(下記項目 10)は非常に意義深いことであり、真核生物に普遍的なペルオキシソーム動態制御機構として捉えることに期待を抱かせる。

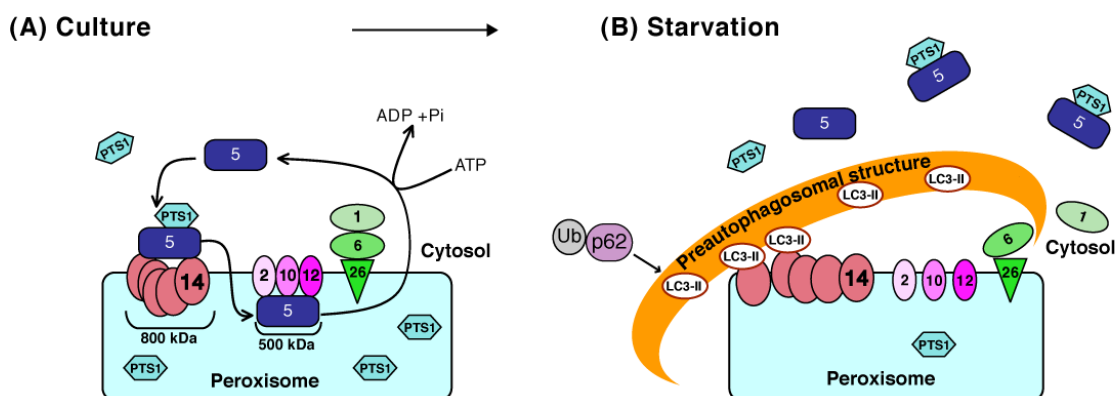


図3. 哺乳類ペルオキシソームの分解機構

PTS1 レセプター Pex5p は栄養条件下でペルオキシソーム膜上の Pex14p と結合することによりインポート活性が高い状態にある。一方、飢餓条件下ではプレオートファゴソーム上の LC3-II が Pex14p と相互作用によりインポート活性が低下、ペルオキシソームはプレオートファゴソームの形成によりオートファジーによる分解を受ける。

#### 6) オルガネラ形成障害とペルオキシソーム内外におけるレドックス動態の解明

前年度までに生理的レベルでのレドックス変化を検知できる蛍光分子プローブ(レドックスフロー)を開発し、それを用いて、1) ペルオキシソーム内が細胞質に比べ還元的であること、2) ペルオキシソーム形成不全細胞の細胞質は健常株と比較して還元的になっていること、3) トリコスタチン A と呼ばれる薬剤がペルオキシソーム形成不全細胞の細胞質レドックス状態をより健常株に近づけること、を見出していたが、藤木グループが樹立した複数の CHO 細胞株についても本プローブ導入により同様の現象を見出した(図4)。本プローブがレドックス状態の変化に応じ分子内ジスルフィド結合の数を増減させることを生化学的方法で明示し、細胞内にある本プローブが示す FRET 値から、レドックス状態を(グルタチオンを標準物質とした)酸化還元電位で数値化することにも成功し、前年度までの結果と合わせて報文(改訂版)を、現在、投稿中である(Yano et al., 論文投稿中)。

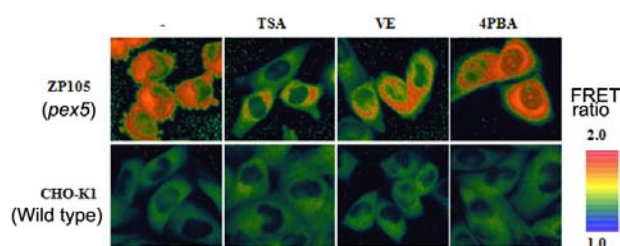


図4. 健常 CHO 細胞とペルオキシソーム形成不全 CHO 細胞でのレドックス解析

レドックスフローで可視化した細胞内レドックス状態。FRET value が大きい、すなわち赤い色ほど還元状態であることを示す。TSA、トリコスタ



チン A 添加細胞； VE、ビタミン E 添加細胞； 4PBA、4-フェニルブチレート添加細胞。

本プローブを用いた解析により、酵母細胞におけるグルタチオン代謝・再生のための新たなメタボリックフローが見出された。すなわち、酵母細胞を窒素源飢餓条件においた場合、細胞質が一過的に還元化することを見出し、液胞内のグルタチオン分解酵素 Ggt1 や推定液胞膜アミノ酸トランスポーターである Ers1 がこの還元化に関与することを見出した。今後は、これら、レドックスフローにより得られた結果について、別の生化学的手法や遺伝子発現解析により検証していく予定である。

#### 7) ペルオキシソーム形成障害細胞におけるメタボローム解析

上記項目に記述したレドックスフローの解析進展から、ペルオキシソーム形成とリンクした重要な研究課題として、レドックス関連代謝産物のメタボロミクスが求められるようになった。しかしながら従来の一般的なサンプル抽出、分離法では、主要なレドックス関連代謝産物であるグルタチオンの酸化型/還元型の検出はかろうじてできていたものの、その定量は予想値とは大きく異なり、困難であることが判明した。そこで、本年度後半において、サンプル抽出、分離条件などを、再検討することにより、酸化型/還元型のグルタチオン比をより正確に測定することが現在、可能となりつつある。また同様に検出、定量が難しいとされていた NAD/NADH、NADP/NADPH といった他のレドックス関連代謝産物についても、正確な測定に向けて、現在、検討中である。これまでに行った手法の改良により、ペルオキシソーム形成不全細胞において還元型グルタチオンの存在量が酸化型に比して増加していることを見出した。このことは現在進行中の網羅的なメタボローム解析においても確認されたが、興味深いことに、この網羅的なメタボローム解析においてグルタチオンの還元化に寄与するいくつかの鍵物質の量がペルオキシソーム形成不全により変動することも明らかになりつつある。また予備的ではあるが、過酸化脂質が還元化の原因である可能性を示す結果も得られつつあり、新たに確立したレドックス関連メタボロミクス技術により藤木グループと共通の CHO 細胞株を対象として行い、将来の統合的なペルオキシソーム疾患の代謝理解を企図している。

#### 8) 酵母系を利用したペルオキシソーム誘導制御系の解析

メタノール資化性酵母において、代謝の流れと連動したペルオキシソーム酵素の遺伝子発現制御機構を明らかにするため、転写制御に関わる因子の探索とその機能解析に加え、メタノール誘導時のメタボローム解析を行った。メタボローム解析については、酵母代謝産物の抽出条件についても上記項目に述べたように最適化し、LC-MS/MS 解析によりいくつかのターゲット代謝産物の定量が可能となった。今後、メタノール誘導時の主要な代謝産物の経時変化を追跡し、ペルオキシソーム酵素の遺伝子の転写活性化との関連性を調べる。メタノール誘導時には、毒性の代謝中間体としてホルムアルデヒドと過酸化水素が生じるが、グルタチオン合成やその他の抗酸化酵素系を制御する転写因子 Yap1 と Skn7 が、酸化ストレスだけでなくペルオキシソーム内代謝によって生成されたホルムアルデヒドによっても活性化を受け、細胞内グルタチオン代謝と細胞内レドックス維持に重要な役割を果たしていることを明らかにした(阪井論文リスト:2)。またホルムアルデヒド誘導性遺伝子発現に関わる因子として、何らかの転写因子の核外輸送を担う Msn5 を、メタノール誘導時に働く転写因子として Hap2 を同定した。さらに、異種遺伝子発現のための新規プロモーター・宿主の開発も進めており、本年度はヒト由来のカタラーゼ、出芽酵母のアルファマンノシダーゼの発現に成功した(阪井論文リスト:4,6)。

#### 9) 酵母を利用したペキシソファジー・オートファジーを支配する代謝レドックス制御系の解析

前年度までにペルオキシソーム形成誘導時においてもオートファジーが誘導されることを見出し、その過程で Ald6 の液胞内への輸送を見出していた。このオートファジー経路 (Lag-phase autophagy, LPA と命名) は、細胞内におけるアミノ酸プールの減少を感知して誘導され、効率的なタンパク質合成ならびにペルオキシソーム形成を行うために必要な経路であり、Atg11, Atg17, 分子群の支配下にある新奇タイプのオートファジーであることを明らかにした (阪井論文リスト:3)。

また、ペルオキシソーム誘導過程においては液胞形態制御も重要であることを見出し、その鍵因子としての Atg8 の機能解析を行った (Tamura et al., 論文投稿中)。

#### 10) 植物病原菌の病原性発現におけるペルオキシソーム代謝と動態の解析

植物病原菌の感染プロセスにおいて、ペルオキシソーム代謝機能の欠損は、感染器官細胞のメラニン合成を顕著に低下させる。このメラニン合成に、ペルオキシソーム内の脂肪酸  $\beta$  酸化反応が重要な役割を果たしていることを、*MFE1* 遺伝子の同定および機能解析により明らかにした。また、*ATG26* 遺伝子が、前年度までに、本菌の病原性および選択的ペルオキシソーム分解 (ペキシソファジー) に関与していることを明らかにしていたが、本年度は、ペキシソファジー欠損株では、胞子細胞壁の integrity に何らかの欠陥があることを明らかにし、ペキシソファジーと感染プロセスにおける細胞壁ダイナミクスとの関連についての端緒を得た (阪井論文リスト:5)。これらの成果については、*Plant Cell* 誌に発表するとともに、京都新聞・日刊工業新聞にその成果が取り上げられた。(阪井論文リスト:1; 新聞報道参照)。また、新たに、病原菌の感染プロセスにおけるペキシソファジーの進行が、ペルオキシソーム合成を支配する遺伝子の一つである *PEX14* 遺伝子への挿入変異により阻害されることを発見した。この結果は、共同研究先の藤木グループ研究で見出された、哺乳類細胞ペルオキシソーム分解における Pex14 の重要性と一致しており、Pex14 が真核生物のペルオキシソーム分解に普遍的に機能する鍵因子である可能性を示しており、来年度は藤木グループの哺乳類細胞系における Pex14 の機能解析の結果と併せながら、研究を進める予定である。

## § 4. 成果発表等

### (4-1) 原著論文発表

#### ● 論文詳細情報

「藤木」グループ

1. Miyata, N., Hosoi, K., Mukai, S., and Fujiki, Y.: In vitro import of peroxisome-targeting signal type 2 (PTS2) receptor Pex7p into peroxisomes. *Biochim. Biophys. Acta – Mol. Cell Res.* **1793**: 860-870 (2009).  
DOI: 10.1016/j.bbamcr.2009.02.007
2. Su, J.R., Takeda, K., Tamura, S., Fujiki, Y., and Miki, K.: Monomer-dimer transition of the conserved N-terminal domain of the mammalian peroxisomal matrix protein import receptor, Pex14p. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **394**: 217-221 (2010).  
DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.02.160



3. Honscho, M., Asaoku, S., and Fujiki, Y.: Posttranslational regulation of fatty Acyl-CoA reductase 1, Far1, controls ether glycerophospholipid synthesis. **J. Biol. Chem.** **285**: 8537-8542 (2010).  
DOI: 10.1074/jbc.M109.083311 (“Paper of the Week”として選出、掲載された。)

「阪井」グループ

1. Asakura, M., Ninomiya, S., Sugimoto, M., Oku, M., Yamashita, S., Okuno, T., Sakai, Y., and Takano, Y.: Atg26-mediated pexophagy is required for host invasion by the plant pathogenic fungus *Colletotrichum orbiculare*. **Plant Cell** **21**: 1291-1304 (2009).  
DOI: 10.1105/tpc.108.060996
2. Yano, T., Yurimoto, H., and Sakai, Y.: Activation of the oxidative stress regulator PpYap1 through conserved cysteine residues during methanol metabolism in the yeast *Pichia pastoris*. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** **73**: 1404-1411 (2009).  
DOI: 10.1271/bbb.90109
3. Yamashita, S., Yurimoto, H., Murakami, D., Yoshikawa, M., Oku, M., and Sakai, Y.: Lag-phase autophagy in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. **Genes Cells** **14**: 861-870 (2009).  
DOI: 10.1111/j.1365-2443.2009.01316.x
4. Watanabe, Y., Noda, N.N., Honbou, K., Suzuki, K., Sakai, Y., Ohsumi, Y., and Inagaki, F.: Crystallization of *Saccharomyces cerevisiae* alpha-mannosidase, a cargo protein of the Cvt pathway. **Acta Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.** **65**: 571-573 (2009).  
DOI: 10.1107/S1744309109014833
5. Takano, Y., Asakura, M., and Sakai, Y.: Atg26-mediated pexophagy and fungal phytopathogenicity. **Autophagy** **5**: 1041-1042 (2009).  
DOI: 10.4161/auto.5.7.9316
6. Yata, T., Nishikawa, M., Nishizaki, C., Oku, M., Yurimoto, H., Sakai, Y., and Takakura, Y.: Control of hypoxia-induced tumor cell adhesion by cytophilic human catalase. **Free Radic. Biol. Med.** **47**: 1772-1778 (2009).  
DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.09.027