

## 【若手研究(S)】

### 生物系 (生物学)



#### 研究課題名 哺乳類細胞を用いたオートファゴソーム形成機構の解析

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授 **みずしま のぼる**  
**水島 昇**

研究分野：生物学

キーワード：タンパク質分解、細胞構造・機能

#### 【研究の背景・目的】

オートファジーはリソソームを分解の場とする細胞質成分の大規模分解系である(図1)。この分解系はすべての真核生物に備わっており、飢餓時の細胞内アミノ酸プールの維持、恒常的な細胞内浄化、初期胚発生、抗原提示、細胞内微生物除去など多くの生理的重要性をもっている。しかし生理的・病態生理的研究が進む一方で、オートファゴソーム形成の分子機構はまだ不明な点が多い。これまで出芽酵母を用いた解析が精力的に進められてきたが、哺乳類でも全 Atg ホモログの同定やノックアウト・ノックダウン細胞作製など整備が終わり、系統的にオートファゴソーム形成を分子レベルで解剖できる段階に来ている。また、哺乳類細胞には、酵母より大型のオートファゴソームをもつなどの実験上の利点もあり、さらには独自の分子機構が存在する可能性もある。そこで、本研究課題では、哺乳類 Atg 因子の機能阻害変異体などを利用することで、オートファゴソーム形成過程を生化学的・形態学的にさらに解剖し、オートファゴソーム膜の起源や隔離膜伸長の分子機構を明らかにすることを目指す。

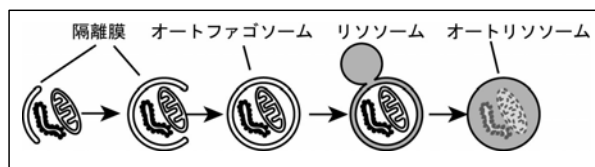


図1. オートファジーの模式図

#### 【研究の方法】

1. オートファゴソーム形成始動に関わる ULK1 複合体の解析

酵母および哺乳類細胞において(m)TOR がオートファジー抑制に重要であることが知られている。最近私たちは、オートファジーに必須な ULK1-Atg13-FIP200 複合体が富栄養条件下で mTORC1 複合体と結合すること、さらに ULK1 が mTOR の新規基質となりうることを見いだした。ULK1-Atg13-FIP200 複合体は約 3 MDa からなる巨大複合体を形成し、その一部は隔離膜に局在する。そこで、この複合体の解析および ULK1 の基質の同定などを通じて哺乳類オートファゴソーム形成初期過程を解析する。

2. オートファゴソーム形成の形態学的および生

化学的 dissection

哺乳類 Atg 因子は5つのモジュールに分類することが可能であり、それぞれのモジュールについて、ノックアウト細胞あるいはノックダウン細胞(オートファジー不能の表現型を確認したもの)が現在解析可能な状況にある。そこで、これらを生化学的および形態学的に解析することによって Atg 因子間の関連を明らかにし、オートファゴソーム形成の素過程への分離を行う。さらに前駆体・中間体の特定とその分子構成の解析を試みる。

#### 【期待される成果と意義】

オートファゴソーム形成の分子機構を明らかにすることによって、近年知られつつあるオートファジーの多様性や基質特異性への理解が深まると考えられる。さらに、オートファジー活性の新しい測定方法や人為的制御方法への開発へとつながることが期待される。また、最近これら Atg 因子が、エンドサイトーシスやウイルス複製などのオートファジー以外の経路でも機能していることが示唆されているため、これらの経路の理解にも貢献すると考えられる。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Hosokawa N, Hara T, \*Mizushima N et al. Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-Atg13-FIP200 complex required for autophagy. *Mol. Biol. Cell* 20: 1981-1991 (2009)
- Itakura E, Kishi C, Inoue K, Mizushima N. Beclin 1 forms two distinct phosphatidylinositol 3-kinase complexes with mammalian Atg14 and UVRAG. *Mol. Biol. Cell* 19: 5360-5372 (2008)
- Hara T, Takamura A, Kishi C, Iemura S, Natsume T, Guan JL, Mizushima N. FIP200, a ULK-interacting protein, is required for autophagosome formation in mammalian cells. *J. Cell Biol.* 181: 497-510 (2008)

#### 【研究期間と研究経費】

平成21年度－25年度

80,400千円

ホームページ等

<http://www.tmd.ac.jp/med/phy2/phy2-J.html>