

平成24年度科学研究費助成事業（特別推進研究）自己評価書 〔追跡評価用〕

◆記入に当たっては、「平成24年度科学研究費助成事業（特別推進研究）自己評価書等記入要領」を参照してください。

平成24年4月24日現在

研究代表者 氏名	大隅 良典	所属研究機関・ 部局・職	基礎生物学研究所・分子細胞生物学 研究部門・教授
研究課題名	オートファジーを支える膜動態の解析に基づく細胞内膜形成機構の解明		
課題番号	15002012		
研究組織 (研究期間終了時)	研究代表者 大隅 良典（基礎生物学研究所・分子細胞生物学研究部門・教授）		

【補助金交付額】

年度	直接経費
平成15年度	76,000 千円
平成16年度	82,000 千円
平成17年度	96,000 千円
平成18年度	76,000 千円
総計	330,000 千円

1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか

特別推進研究によってなされた研究が、どのように発展しているか、次の(1)～(4)の項目ごとに具体的かつ明確に記述してください。

(1) 研究の概要

(研究期間終了後における研究の実施状況及び研究の発展過程がわかるような具体的内容を記述してください。)

研究の歴史的概略

代表者は1996年、東京大学教養学部生物学教室に独立した研究室を持ったことを契機に、液胞の分解コンパートメントとしての機能の解明を研究の柱とすることを決めた。光学顕微鏡下に酵母のオートファジーを発見し、電子顕微鏡によってその過程を記述した。酵母の系の優れた特性を生かし、この領域に初めて遺伝学的アプローチを試み、1993年に世界に先駆けて多数のオートファジー不能変異株を多数分離し、多数のATG遺伝子の同定に成功した。以来一貫してオートファジーの分子機構の解明を進めてきた。

1996年(平成8年)に基礎生物学研究所教授として研究を大きく展開できる機会を得た。酵母を用いたオートファジーの分子機構の解明を中心に据えながら、オートファジー研究で先行していた哺乳動物系との関連と基礎生物学研究所の特性に鑑み吉森保氏(現大阪大学、医学部教授)を助教授に迎え、野田健司氏(現大阪大学歯学部教授)、半年後に鎌田芳彰氏(現基礎生物学研究所助教)を助手として研究室を立ち上げた。一年後に水島昇氏(現東京医科歯科大学医学部教授)がポスドクとして参加し、その後助手となった。当時、木原章雄氏(現北海道大学薬学部教授)をはじめ、複数のポスドクが参画し、総研大の大学院生も多数迎えることができ、短期間に多くの成果を上げることができた。それらの実績が評価され、平成15年から本特別推進研究「オートファジーを支える膜動態の解析に基づく細胞内膜形成機構の解明」が開始された。

本研究計画は研究室でスタートした哺乳類、高等植物のオートファジーの研究を出身者が展開する研究室に委ね、酵母の系の優位性を最大限に活用して分子機構の解明を計ることを目的とした。

研究の継続を考えて最終年度を前に前年度申請を行い、4年間の成果を評価して頂き、平成19年度から特別推進研究「オートファジー分子機構とその多様性の解明」を立ち上げた。再度最終年度を待たずに前年度申請を行い、平成23年から特別推進研究「オートファジーの分子機構の解明と細胞生理学への統合」の課題を採択いただき、現在も研究を継続して進めている。定年に伴う研究室の移動後も研究が3年間、継続できることが重要であるという判断から、基礎生物学研究所を辞して、平成21年4月より東京工業大学フロンティア研究機構に特任教授として異動して現在に至っている。従って今回の追跡調査の対象となった研究の最も主要な課題は現在も継続中である。

この20数年に亘って膨大な知見と、研究を進める手段、材料が蓄積し、当初に掲げたオートファジーの分子機構の謎に分子レベルで迫ることができる時期を迎え、まさに今後数年が正念場であると考えている。

1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか（続き）

(2) 論文発表、国際会議等への招待講演における発表など（研究の発展過程でなされた研究成果の発表状況を記述してください。）

論文発表

1. Kabeya, Y., Kawamata, T., Suzuki, K., and Ohsumi, Y. Cis1/Atg31 is required for autophagosome formation in *Saccharomyces cerevisiae*. **Biochem. Biophys. Res. Comm.**, 356, 405-410 (2007)
2. Fujiki, Y., Yoshimoto, K., and Ohsumi, Y. An Arabidopsis homolog of Yeast *ATG6/VPS30* is essential for pollen germination. **Plant Physiology**, 143, 1132-1139 (2007)
3. Yamada, Y., Suzuki, N., N., Hanada, T., Ichimura, Y., Kumeta, H., Fujioka, Y., Ohsumi, Y., and Inagaki, F. The crystal structure of *ATG3*, an autophagy-related ubiquitin carrier protein (E2) enzyme that mediates Atg8 lipidation. **J. Biol. Chem.**, 282, 8036-8043 (2007)
4. Adachi, W., Suzuki, N., N., Fujioka, Y., Suzuki, K., Ohsumi, Y., and Inagaki, F. Crystallization of *Saccharomyces cerevisiae* aminopeptidase 1, the major cargo protein of the Cvt pathway. **Acta Crystallograph, Sect. F. Struct. Biol. Cryst. Commun.** 63, 200-203 (2007)
5. Satoo, K., Suzuki, N., N., Fujioka, Y., Mizushima, N., Ohsumi, Y., and Inagaki, F. Crystallization and preliminary crystallographic analysis of human Atg4B-LC3 complex. **Acta Crystallograph, Sect. F. Struct. Biol. Cryst. Commun.** 63, 99-102 (2007)
6. Matsushita, M., Suzuki, N., N., Obara, K., Fujioka, Y., Ohsumi, Y., and Inagaki, F. Structure of Atg5-Atg16, a complex essential for autophagy. **J. Biol. Chem.**, 282, 6763-6772 (2007)
7. Suzuki, K., Kubota, Y., Sekito, T., and Ohsumi, Y. Hierarchy of Atg proteins in pre-autophagosomal structure organization. **Genes Cells**, 12, 209-218 (2007).
8. Yamaguti, M., Suzuki, N., N., Fujioka, Y., Ohsumi, Y., and Inagaki, F. Crystallization and preliminary X-ray analysis of Atg10. **Acta Crystallograph. Sect. F. Struct. Biol. Cryst. Commun.**, 63, 443-445 (2007)
9. Nakatogawa, H., Ichimura, Y., and Ohsumi, Y. Atg8, a ubiquitin-like protein required for autophagosome formation, mediates membrane tethering and hemifusion. **Cell**, 130, 165-178 (2007)
10. Hanada T, Noda NN, Satomi Y, Ichimura Y, Fujioka Y, Takao T, Inagaki F, Ohsumi Y. The Atg12-Atg5 conjugate has a novel E3-like activity for protein lipidation in autophagy. **J. Biol. Chem.**, 37298-37302 (2007)
11. Fujioka Y, Noda NN, Fujii K, Yoshimoto K, Ohsumi Y, Inagaki F. In vitro reconstitution of plant ATG8 and ATG12 conjugation systems essential for autophagy. **J. Biol. Chem.**, 2008, 283, 1921-1928.(2008)
12. Hu G, Hacham M, Waterman SR, Panepinto J, Shin S, Liu X, Gibbons J, Valyi-Nagy T, Obara K, Jaffe HA, Ohsumi Y, Williamson PR. PI3K signaling of autophagy is required for starvation tolerance and virulence of *Cryptococcus neoformans*. **J. Clin. Invest.**, 118, 1186-1197 (2008)
13. Noda NN, Fujioka Y, Ohsumi Y, Inagaki F. Crystallization of the Atg12-Atg5 conjugate bound to Atg16 by the free-interface diffusion method. **J. Synchrotron Radiat.**, 15, 266-268 (2008)
14. Kawamata T, Kamada Y, Kabeya Y, Sekito T, Ohsumi Y. Organization of the pre-autophagosomal structure responsible for autophagosome formation. **Mol. Biol. Cell**, 19, 2039-2050 (2008)
15. Obara K, Noda T, Niimi K, Ohsumi Y. Transport of phosphatidylinositol 3-phosphate into the vacuole via autophagic membranes in *S. cerevisiae*. **Genes Cells**, 13, 537-547 (2008)
16. Nakashima A, Maruki Y, Imamura Y, Kondo C, Kawamata T, Kawanishi I, Takata H, Matsuura A, Lee KS, Kikkawa U, Ohsumi Y, Yonezawa K, Kamada Y. The yeast Tor signaling pathway is involved in G2/M transition via Polo-kinase. **PLoS ONE**, 3, e2223 (2008).
17. Oh-oka K, Nakatogawa H, Ohsumi Y, Physiological pH and acidic phospholipids contribute to substrate specificity in lipidation of Atg8. **J. Biol. Chem.**, 283, 21847-21852 (2008)
18. Obara K, Sekito T, Niimi K, Ohsumi Y. The Atg18-Atg2 complex is recruited to autophagic membranes via PtdIns(3)P and exerts an essential function. **J. Biol. Chem.**, 2008, 283, 23972-23980. (2008)
19. Ishida H, Yoshimoto K, Izumi M, Reisen D, Yano Y, Makino A, Ohsumi Y, Hanson MR, Mae T. Mobilization of Rubisco and stromal-localized fluorescent proteins of chloroplasts to the vacuole by an *ATG* gene-dependent autophagic process. **Plant Physiol.**, 2008, 148, 142-155 (2008)
20. Fujioka Y, Noda NN, Matsushita M, Ohsumi Y, Inagaki F. Crystallization of the coiled-coil domain of Atg16 essential for autophagy. **Acta Crystallogr. Sect. F. Struct. Biol. Cryst. Commun**, 64, 1046-1048 (2008)
21. Noda NN, Kumeta H, Nakatogawa H, Satoo K, Adachi W, Ishii J, Fujioka Y, Ohsumi Y, Inagaki F. Structural basis of target recognition by Atg8/LC3 during selective autophagy. **Genes Cells**, 12, 1211-1218 (2008)
22. Kageyama T, Suzuki K, Ohsumi Y. Lap3 is a selective target of autophagy in yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. **Biochem. Biophys. Res. Comm.**, 378, 551-557 (2009)
23. Wada S, Ishida H, Izumi M, Yoshimoto K, Ohsumi Y, Mae T, Makino A. Autophagy plays a role in chloroplast degradation during senescence in individually darkened leaves. **Plant Physiol.**, 149, 885-893 (2009)
24. Sekito T, Kawamata T, Ichikawa R, Suzuki K, Ohsumi Y. Atg17 recruits Atg9 to organize the

- pre-autophagosomal structure. *Genes Cells*, 14, 525-538 (2009)
25. Shin JH, Yoshimoto K, Ohsumi Y, Jeon JS, An G. OsATG10b, an autophagosome component, is needed for cell survival against oxidative stresses in rice. *Mol Cells*, 27, 67-74 (2009)
 26. Hanada T, Satomi Y, Takao T, Ohsumi Y. The amino-terminal region of Atg3 is essential for association with phosphatidylethanolamine in Atg8 lipidation. *FEBS Lett*, 583, 1078-1083 (2009)
 27. Satoo K, Noda NN, Kumeta H, Fujioka Y, Mizushima N, Ohsumi Y, Inagaki F. The structure of Atg4B-LC3 complex reveals the mechanism of LC3-processing and delipidation during autophagy. *EMBO J*, 28, 1341-1350 (2009)
 28. Watanabe Y, Noda NN, Honbou K, Suzuki K, Sakai Y, Ohsumi Y, Inagaki F. Crystallization of *Saccharomyces cerevisiae* a-mannosidase, a cargo protein of the Cvt pathway. *Acta Crystallogr. Sect. F. Struct. Biol. Cryst. Commun.*, 65, 571-573 (2009)
 29. Okamoto, K., Kondo-Okamoto, N., and Ohsumi, Y. Mitochondria-anchored receptor Atg32 mediates degradation of mitochondria via selective autophagy. *Dev. Cell*, 17, 87-97 (2009)
 30. Yoshimoto K, Jikumaru Y, Kamiya Y, Kusano M, Consonni C, Panstruga R, Ohsumi Y, Shirasu K. Autophagy negatively regulates cell death by controlling NPR1-dependent salicylic acid signaling during senescence and the innate immune response in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 21, 2914-2927 (2009).
 31. Kabeya Y, Noda NN, Fujioka Y, Suzuki K, Inagaki F, Ohsumi Y. Characterization of the Atg17-Atg29-Atg31 complex specifically required for starvation-induced autophagy in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem. Biophys. Res. Comm*, 389, 612-615 (2009)
 32. Fujioka Y, Noda NN, Nakatogawa H, Ohsumi Y, Inagaki F. The dimeric coiled-coil structure of *Saccharomyces cerevisiae* Atg16 and its functional significance in autophagy. *J. Biol. Chem.*, 285, 1508-1515 (2009)
 33. Kamada Y, Yoshino K, Kondo C, Kawamata T, Oshiro N, Yonezawa K, Ohsumi Y. Tor directly controls the Atg1 kinase complex to regulate autophagy. *Mol. Cell Biol.*, 30, 1049-1058(2010)
 34. Kumeta H, Watanabe M, Nakatogawa H, Yamaguchi M, Ogura K, Adachi W, Fujioka Y, Noda NN, Ohsumi Y, Inagaki F. The NMR structure of the autophagy-related protein Atg8. *J. Biomol. NMR*, 47, 237-241(2010)
 35. Yamaguchi M, Noda NN, Nakatogawa H, Kumeta H, Ohsumi Y, Inagaki F. Autophagy-related protein (Atg) 8-family interacting motif in Atg3 mediates the Atg3-Atg8 interaction and is crucial for the cytoplasm-to-vacuole targeting pathway. *J. Biol. Chem.*, 285, 29599-29607 (2010)
 36. Suzuki K, Kondo C, Morimoto M, Ohsumi Y. Selective transport of alpha-mannosidase by autophagic pathways: identification of a novel receptor, ATG34. *J. Biol. Chem.*, 285, 30019-30025 (2010)
 37. Watanabe Y, Noda NN, Kumeta H, Suzuki K, Ohsumi Y, Inagaki F. Selective transport of alpha-mannosidase by autophagic pathways: structural basis for cargo recognition by ATG19 and ATG34. *J. Biol. Chem*, 285, 30026-30033 (2010)
 38. Fujioka Y, Noda NN, Nakatogawa H, Ohsumi Y, Inagaki F. The dimeric coiled-coil structure of *Saccharomyces cerevisiae* Atg16 and its functional significance in autophagy. *J. Biol. Chem.*, 285, 1508-1515 (2010)
 39. Suzuki SW, Onodera J, Ohsumi Y. Starvation induced cell death in autophagy-defective yeast mutants is caused by mitochondria dysfunction. *PLoS ONE*, 6, e17412. (2011)
 40. Kuninori Suzuki, Mayumi Morimoto, Chika Kondo and Yoshinori Ohsumi. Selective autophagy regulates insertional mutagenesis by the Ty1 retrotransposon in *Saccharomyces cerevisiae*. *Dev. Cell*, 21, 358-365 (2011)
 41. Noda NN, Satoo K, Fujioka Y, Kumeta H, Ogura K, Nakatogawa H, Ohsumi Y, Inagaki F. Structural basis of Atg8 activation by a homodimeric E1, Atg7. *Mol. Cell*, 44, 462-475. (2011)
 42. Atg4 recycles inappropriately lipidated Atg8 to promote autophagosome biogenesis. Nakatogawa H, Ishii J, Asai E, Ohsumi Y. *Autophagy*, 8,177-186 (2012) .

国際会議等への招待講演における発表

- 2007.4.15-4.20 Keystone Meeting, California, Monterey, USA, Molecular machinery necessary for the membrane dynamics during autophagy in yeast
- 2007. 8.19-8.24 GRC (Gordon Research Conference) London, Critical questions on the molecular mechanism of autophagy
- 2007.9.5-9.16 Japan Korea Joint Meeting, Seoul, Cellular recycling system-Molecular mechanism of autophagy
- 2007.9.18-9.20 EMBO Meeting, Verona, Italy, Two conjugation systems required for autophagosome formation
- 2007.10.20-10.24 IPS (International Proteolysis Society Conference) Greek, Molecular dissection of

autophagy process in yeast

- 2007.12.1-12.5 ASCB Plenary Lecture, Washington DC, USA, Molecular dissection of membrane dynamics during autophagy
- 2008.1.6-1.11 GRC (Gordon Research Conference) California, USA, Mechanism of autophagosome formation in yeast
- 2008. 7.14-7.19 The XX International Congress of Genetics, Plenary Lecture, Germany, Molecular dissection of autophagy in yeast
- 2009. 8.3-8.11 IUBMB, Shanghai, China, Protein degradation.
- 2008.8.10-8.14 12th International Congress on Yeasts, Plenary Lecture, Kiev, Ukraine Molecular dissection of autophagy – Intracellular recycling system –
- 2009. 9.24-9.28 5th ISA (International Symposium on Autophagy) Ohtsu, Japan, Present knowledge of *Atg* proteins essential for autophagosome formation
- 2009.10.16-10.21 EMBO Meeting, Swiss, Studies on yeast, *S. cerevisiae*, revealed that 18 *Atg* proteins are essential for starvation-induced autophagy
- 2010.1.9-1.16 Keystone Meeting, Snowbird, USA, Molecular machinery for autophagosome formation
- 2010.4.25-4.30 GRC (Gordon Research Conference) Ilcico, Italy, Lessons from yeast on the molecular machinery of autophagy.
- 2010.6.4 Traffic Symposium, Kyoto, Lessons from yeast on the molecular machinery of autophagy.
- 2010.6.29-7.2 Naito Conference, Sapporo, Membrane dynamic during autophagy in yeast.
- 2010.9.5-9.8 Swiss Yeast Meeting, Swiss, Molecular machinery and physiological roles of autophagy in Yeast.
- 2010.9.13-9.16 The 3rd International Symposium on Protein Community, Nara, Molecular dissection of membrane dynamics in autophagosome formation
- 2010.10.15-10.17 Sino-Japan Symposium on Autophagy, Shanxi Normal University, China, Autophagy in Yeast
- 2010.11.14-11.17 CSHL (Cold Spring Harbor Laboratory Meeting), Two Ubiquitin-Like Conjugation Reactions Essential for Autophagy, The Banbury Center, USA,
- 2011.3.27-4.1 Keystone Meeting, Autophagy in Yeast : Looking Back on the Past Two Decades and Future Perspective, Whistler, Canada
- 2011.5.15-5.18 TNF 13th International TNF Conference, Molecular Mechanism and Physiological Functions of Autophagy. Awaji, Japan
- 2011.7.18-7.21 AHA(the American Heart Association Council on Basic Cardiovascular Sciences) , Lessons from Yeast - molecular dissection of autophagic machinery - , New Orleans, USA
- 2011.8.16-8.20 CSHL (Cold Spring Harbor Laboratory Meeting), Molecular machinery of autophagy in Yeast, The Banbury Center, USA
- 2011.10.30-11.4 EMBO Meeting, Autophagy In Health and Disease, Roles of Atg Proteins during Autophagosome Formation, Ma'ale Hachamisha, Israel,
- 2011.11. 7 Molecular Dissection of Autophagy in Yeast, Utrecht University
- 2011.12.7-11 Zing Conference on Autophagy in Xcaret, Mexico, Molecular studies of the early step of autophagosome formation
- 2012.3.11-3.16 GRC (Gordon Research Conference), Ventura, CA, USA,

1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか（続き）

(3) 研究費の取得状況（研究代表者として取得したもののみ）

科研費 特別推進研究 19002015 (H19-H22)

科研費 特別推進研究 23000015 (H23-H27)

(4) 特別推進研究の研究成果を背景に生み出された新たな発見・知見

本特別推進研究の4年間で得られた主なる成果は次の通りである。

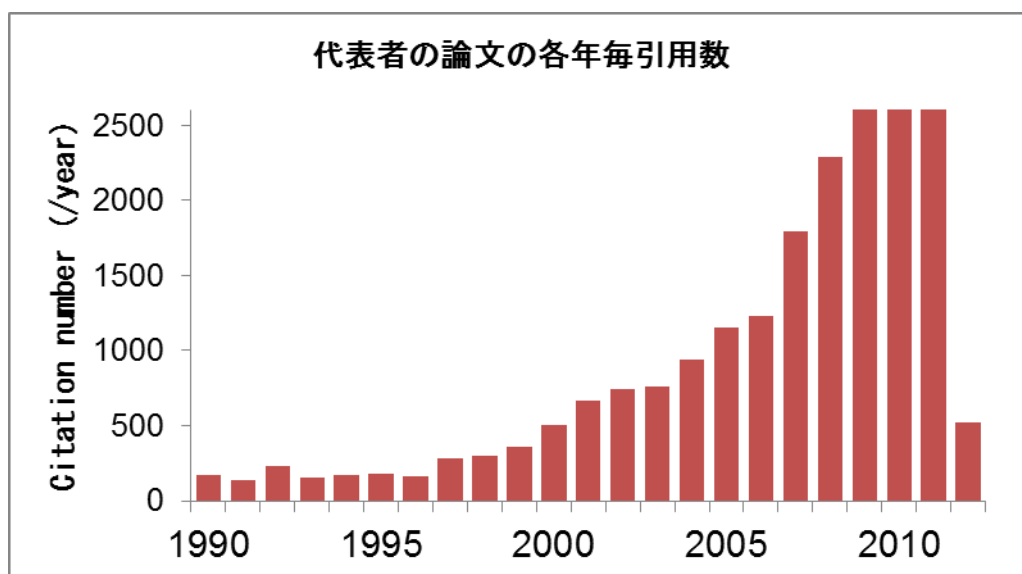
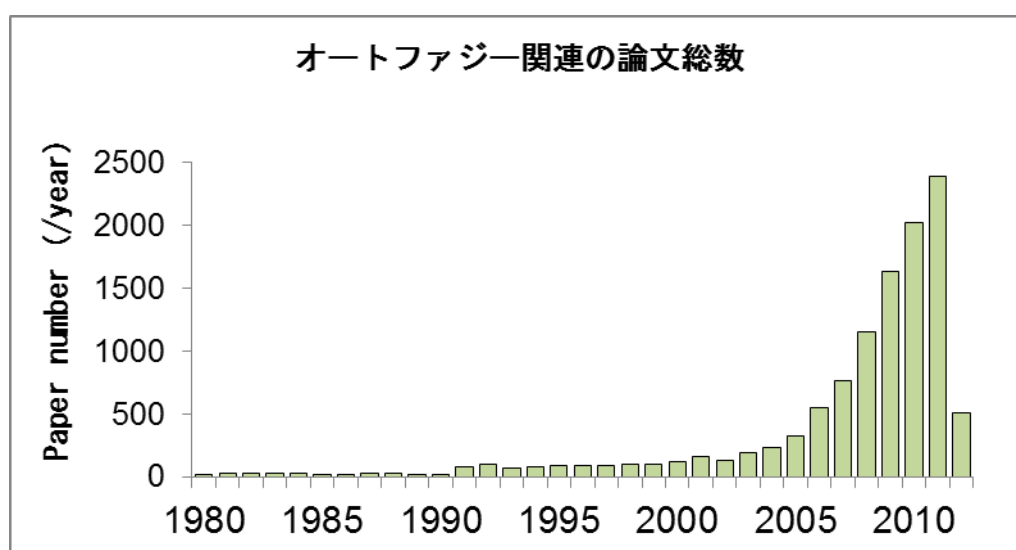
1. 飢餓によって誘導されるオートファジーに必須な遺伝子として、Atg17 と相互作用する Atg29, Atg31 が新規に同定され、総計 18 個の遺伝子が同定された。これら 3 つの Atg は飢餓に応答するオートファジーに必須であり、2:2:2 の複合体を構成し、オートファゴソーム形成の初期に働いている。
2. 18 個の Atg タンパク質の網羅的な可視化と、それぞれ 1 個の ATG 遺伝子破壊による他の Atg の PAS 局在に対する影響の解析からこれらの Atg タンパク質間のヒエラルヒーが明らかになった。その後の研究で哺乳類に於いても基本的にその関係は保存されていることが明らかとなった。
3. オートファジーに必須な 2 つのユビキチン様結合反応系に関して、in vitro 再構成系を確立し、それを利用して重要な知見が得られた。すなわち Atg12-Atg5 結合体が Atg8 の PE 化反応の E3 様の促進活性を有している。Atg8-PE が膜同士の tethering と hemi-fusion 機能を有している。これらの機能は in vivo におけるオートファゴソーム形成にも必須な役割を持っている。
4. PI3 kinase 複合体 I の PAS 局在化機構が明らかになり、PI3 kinase の活性がオートファゴソーム形成に必須であり、PI3P が隔離膜およびオートファゴソーム内膜に高度に濃縮され、液胞に輸送されることが明らかとなった。
5. Atg13 が直接 TOR キナーゼによってリン酸化を受け、その脱リン酸化が Atg1 の活性化を通じてオートファジーの誘導に必須な機能を持っている。
6. 選択的オートファジーに関与するレセプターとアダプターが同定され、選択的な包み込みに Atg8 の疎水的なポケットに結合する WXXL モチーフが重要な機能を持つことを明らかにした。トランスポゾン Ty1 のウイルス様粒子 (VLP) が選択的オートファジーのターゲットとなり、トランスポジションが制御されている。非発酵性の炭素源で増殖する酵母が増殖停止期にミトコンドリアを選択的にオートファジーで分解することを見いだし、その過程に関わる遺伝子の網羅的な解析を行った。その中で遺伝子破壊が最も顕著な障害を示す Atg32 はミトコンドリアの外膜タンパク質であり分解のリセプターとして働く。
7. 北大稲垣研との緊密な共同研究により、Atg タンパク質の 3 次元構造決定を進め、結合反応に関わる因子のすべてを明らかにした。
8. atg 変異を単離する指標となったオートファジー不能株がしめす、飢餓下の生存維持不能の表現型が、ミトコンドリアの機能不全による ROS の発生に起因することを見いだした。
9. 高等植物に於けるオートファジーの生理機能に関して、分子レベルでの進展が見られた。

2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況

特別推進研究の研究成果が他の研究者に活用された状況について、次の(1)、(2)の項目ごとに具体的かつ明確に記述してください。

(1) 学界への貢献の状況（学術研究へのインパクト及び関連領域のその後の動向、関連領域への関わり等）

オートファジーの領域は、近年、国際的にも大変めざましい勢いで展開しており、哺乳動物など医学領域で新規参入者が増加しており、必ずしも十分な検証を経ずに論文が一流誌を賑わせる状況の中で、我々の一貫した分子機構の解明を目指す研究は、高い評価を受けている。以下に Web of Science に掲載されたオートファジー関連論文数の推移と、代表者が発表した論文の一年ごとの被引用数の推移を示す。



2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況（続き）

(2) 論文引用状況（上位10報程度を記述してください。）

【研究期間中に発表した論文】

No	論文名	日本語による簡潔な内容紹介	引用数
1	Kuma, A., Hatano, M., Matsui, M., Yamamoto, A., Nakaya, H., Yoshimori, T., Ohsumi, Y., Tokuhisa, T., and Mizushima, N. The role of autophagy during the early neonatal starvation period. <i>Nature</i> , 432, 1032-1036 (2004)	Atg5のノックアウトマウスは正常に誕生するものの、出産後1日以内に死に至る。哺乳類では出産時の栄養の確保にオートファジーが必須の機能を持つことを示した。	738
2	Mizushima, N., Yamamoto, A., Matsui, M., Yoshimori, T., and Ohsumi, Y. In vivo analysis of autophagy in response to nutrient starvation using transgenic mice expressing a fluorescent autophagosome marker. <i>Mol. Biol. Cell</i> , 15, 1101-1111 (2004)	GFP-LC3を全身で発現するトランスジェニックマウスを作成し、蛍光顕微鏡下にオートファジーを検出する系を確立し、様々な臓器でそれぞれ異なるオートファジーの誘導が認められることを示した。	595
3	Komatsu M; Waguri S; Ueno T; et al. Impairment of starvation-induced and constitutive autophagy in Atg7-deficient mice <i>J. Cell Biol.</i> 169: 3 425-434 (2005)	Atg7のノックアウトマウスを作成した結果、飢餓誘導性のオートファジーと恒常性のオートファジーに欠損を示し、肝機能障害を引き起こす。	512
4	Kabeya, Y., Mizushima, N., Yamamoto, A., Oshitani-Okamoto, S., Ohsumi, Y., and Yoshimori, T. LC3, GABARAP and GATE16 localize to autophagosomal membrane depending on form-II formation. <i>J. Cell Sci.</i> , 117, 2805-2812 (2004)	Atg8のマウスホモログである LC3, GABARAP, GATE16 が脂質化によってオートファゴソーム膜に局在する。	278
5	Mizushima N; Kuma A; Kobayashi Y; et al. Mouse Apg16L, a novel WD-repeat protein, targets to the autophagic isolation membrane with the Apg12-Apg5 conjugate <i>J. of Cell Science</i> 116, 9, 1679-1688 (2003)	哺乳類の Atg12-Atg5 に結合する WD-反復配列をもつ新規の Atg タンパク質を同定した。この因子は Atg12-Atg5 と結合して 800KD の複合体を形成して、隔離膜に局在するなど、酵母の Atg6 の機能的なカウンターパートであると考えられ Atg16L と名付けられた。	179
6	Yoshimoto, K., Hanaoka, H., Sato, S., Kato, T., Tabata, S., Noda, T., and Ohsumi, Y. Processing of ATG8s, ubiquitin-like proteins, and their deconjugation by ATG4s are essential for plant autophagy. <i>Plant Cell</i> , 16, 2967-2983 (2004)	シロイヌナズナの 9 個の Atg8 ホモログを解析し、それらが飢餓状態で液胞に取り込まれることからオートファジーに関わっていることを示した。またこれらのプロセッシングに関わる 2 つの Atg4 ホモログの破壊株を構築し、オートファジーに必須であることを証明した。植物におけるオートファジーの可視化、検出法が確立した。	121
7	Suzuki, K., Kubota, Y., Sekito, T., and Ohsumi, Y. Hierarchy of Atg proteins in pre-autophagosomal structure organization. <i>Genes Cells</i> , 12, 209-218 (2007).	酵母のオートファゴソーム形成に必須な 16 個の Atg タンパク質の PAS 形成における遺伝的上位下位検定を網羅的に行い、機能単位間のヒエラルヒーを明らかにした。Atg17 が飢餓誘導性のオートファジーにおける最も上流因子であることが分かった。	148
8	Kabeya, Y., Kamada, Y., Baba, M., Takikawa, H., Sasaki, M., and Ohsumi, Y. Atg17 functions in cooperation with Atg1 and Atg13 in yeast autophagy. <i>Mol. Biol. Cell</i> , 16, 2544-2553 (2005)	飢餓誘導のオートファジーに関与する新規因子として Atg17 を同定し、Atg1, Atg13 と相互作用して機能することを示した。	95
9	Onodera, J., and Ohsumi, Y. Autophagy is required for maintenance of amino acids levels and protein synthesis under nitrogen starvation. <i>J. Biol. Chem.</i> , 280, 31582-31586 (2005)	窒素源飢餓条件下における細胞内アミノ酸プールの変動を解析し、飢餓状態では一旦大半のアミノ酸が低下するが、オートファジーの進行に伴って野生株では2時間後には回復するが、オートファジー不能株では極度に低下したままとなり、転写は正常に起こるものの翻訳レベルで飢餓応答遺伝子の発現が抑制されることを見いだした。	79
10	Obara, K., Sekito, T., and Ohsumi, Y. Assortment of phosphatidylinositol 3-kinase complexes --Atg14p directs association of complex I to the pre-autophagosomal structure in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . <i>Mol. Biol. Cell</i> , 17, 1527-1539 (2006)	酵母のオートファジーにかかわる PI3 complex I は特異的なサブユニットである Atg14 によって PAS 局在が規定されている。	71

【研究期間終了後に発表した論文】			
No	論文名	日本語による簡潔な内容紹介	引用数
1	Nakatogawa, H., Ichimura, Y., and Ohsumi Y. Atg8, a ubiquitin-like protein required for autophagosome formation, mediates membrane tethering and hemifusion. <i>Cell</i> , 130, 165-178 (2007)	In vitro 再構成系を駆使して Atg8 の PE 化反応を解析し、Atg8-PE が膜上で会合し膜同士を結合し、膜のヘミフージョンを起こすこと、その活性に関わる Atg8 の残基の変異が in vivo でオートファゴソーム形成が不能となることを示した。	201
2	Hanada T, Noda NN, Satomi Y, Ichimura Y, Fujioka Y, Takao T, Inagaki F, Ohsumi Y. The Atg12-Atg5 conjugate has a novel E3-like activity for protein lipidation in autophagy. <i>J. Biol. Chem.</i> , 37298-37302 (2007)	オートファジーに必須のユビキチン様結合体 Atg12-Atg5 がもう一つの結合反応系である Atg8 の PE 化反応の E2 酵素である Atg3 に対して E3 様の促進機能を有することを再構成系を用いて証明した。	161
3	Suzuki K, and Ohsumi Y. Molecular machinery of autophagosome formation in yeast, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . <i>FEBS Lett.</i> 581, 2156-2161 (2007)	18 個のオートファジーに必須な Atg タンパク質の細胞内局在を可視化し、それらが 5 つの機能単位を構成していることを明らかにした。	146
4	Okamoto, K., Kondo-Okamoto, N., and Ohsumi, Y. Mitochondria-anchored receptor Atg32 mediates degradation of mitochondria via selective autophagy. <i>Dev. Cell</i> , 17, 87-97 (2009)	非発酵性の炭素源で増殖する酵母が増殖停止期にミトコンドリアを選択的にオートファジーによって分解することを示し、その選択性を担うレセプターとして、ミトコンドリア外膜を 1 回貫通する Atg32 を同定した。	124
5	Noda NN, Kumeta H, Nakatogawa H, Satoo K, Adachi W, Ishii J, Fujioka Y, Ohsumi Y, Inagaki F. Structural basis of target recognition by Atg8/LC3 during selective autophagy. <i>Genes Cells</i> , 12, 1211-1218 (2008)	Atg8 とそのほ乳類ホモログである LC3 が選択的オートファジーにおける基質認識において、Atg19, p62 などのアダプターが有する WXXL のモチーフを表面の 2 つのポケットで結合することが重要であることを構造解析によって初めて示した。	74
6	Kawamata T, Kamada Y, Kabeya Y, Sekito T, Ohsumi Y. Organization of the pre-autophagosomal structure responsible for autophagosome formation. <i>Mol. Biol. Cell</i> , 19, 2039-2050 (2008)	飢餓によって誘導されるオートファジーにおけるオートファゴソーム形成の場である PAS が栄養を感知して集合離散をする動的な構造であることを、その scaffold 複合体である Atg29 の解析を通じて明らかにした。	59
7	Obara K, Sekito T, Niimi K, Ohsumi Y. The Atg18-Atg2 complex is recruited to autophagic membranes via PtdIns(3)P and exerts an essential function. <i>J. Biol. Chem.</i> , 2008, 283, 23972-23980. (2008)	Atg18-Atg2 複合体が PAS、隔離膜、およびオートファゴソーム膜に PI3P を介して結合することで膜形成に必須の役割を持つことを明らかにした。	50
8	Kabeya, Y., Kawamata, T., Suzuki, K., and Ohsumi, Y. Cis1/Atg31 is required for autophagosome formation in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . <i>Biochem. Biophys. Res. Comm.</i> , 356, 405-410 (2007)	飢餓によって誘導されるオートファジーに必須な新規因子として Atg31 を同定した。この因子が Atg17 と結合してオートファゴソーム形成の初期過程に関わっている。	50
9	Obara K, Noda T, Niimi K, Ohsumi Y. Transport of phosphatidylinositol 3-phosphate into the vacuole via autophagic membranes in <i>S. cerevisiae</i> . <i>Genes Cells</i> , 13, 537-547 (2008)	オートファゴソーム形成に PI3 キナーゼ活性が必須であり、その産物である PI3P がオートファゴソーム膜の内側に濃縮され、最終的に液胞内に輸送されることを明らかにした。	44
10	Fujiki, Y., Yoshimoto, K., and Ohsumi, Y. An Arabidopsis homolog of Yeast ATG6/VPS30 is essential for pollen germination. <i>Plant Physiology</i> , 143, 1132-1139 (2007)	シロイヌナズナの Atg6 ホモログの欠損が雄性不稔となり、花粉の発芽が異常になることを明らかにした。	43

3. その他、効果・効用等の評価に関する情報

次の(1)、(2)の項目ごとに、該当する内容について具体的かつ明確に記述してください。

(1) 研究成果の社会への還元状況（社会への還元の程度、内容、実用化の有無は問いません。）

本課題は本来、基礎的な研究を目指したものであり、研究の成果こそが、最大の社会還元につながると信じている。Atg タンパク質の機能解明は真核細胞の基本的な理解を一層深化させるものとなるに違いない。現在、オートファジーの領域はむしろ流行りとも言うべき状況にあり、国際的にも大変めざましい勢いで新規参加者が増加している。一方で必ずしも十分な検証を経ずに論文が一流誌を賑わせる状況も生じている。分子機構の解明を進めることで、我々のグループが示してきた地道な機能解析は国際的にも大変高く評価されている。

オートファジーの生理機能の解明は今後ますます関連する病態や疾病の理解につながるに違いない。我々がこの間報告してきた Atg タンパク質の構造-機能相関に関する情報は、関連する病気に対する創薬に重要な基盤を与えるものである。我々も理化学研究所との共同研究でオートファジーの特異的阻害剤の探索を続けている。

オートファジーに関する関心が高まっていることもあり、できる限り一般向けに講演等を引き受けている。

3. その他、効果・効用等の評価に関する情報（続き）

(2) 研究計画に関与した若手研究者の成長の状況（助教やポスドク等の研究終了後の動向を記述してください。）

研究計画に関与した若手の成長の状況

本研究期間に研究に携わった 27 名のうち

国立大学教授	2 名
国立大学准教授	3
助教	9
私立大学助教	1
公立機関研究員	5
海外研究員	1
企業への転出	5
不明	1
アカデミアに大変高い定着率	21/26=81%

野田健司	阪大歯学部教授
水島昇	都臨床研を経て 東京医科歯科大学医学部 教授
一村義信	都臨床研研究員
鈴木邦律	東工大フロンティア研究機構、特任助教を経て 東大新領域 准教授
鎌田 芳彰	基礎生物学研究所 助教
濱崎万穂	阪大医学部 助教
久万亜紀子	東京医科歯科大 助教
庄司志咲子	理研研究員
関藤 孝之	愛媛大学 助教
吉本光希	理研特別研究員を経て、フランス INRA
藤木友紀	埼玉大学 助教
中戸川仁	東京工業大学、特任助教を経て特任准教授
小原圭介	北海道大学薬学部 助教
尾板英子	産総研研究員
奥 公秀	京都大学農学部 助教
原島俊明	理研博士研究員
山本林	東京工業大学 特任助教
岡本浩二	大阪大学 准教授
大岡杏子	山梨大学工学部 助教
荒木保弘	東京工業大学 特任助教
川俣朋子	東大助教を経て学振特別研究員
角田宗一郎	順天堂大学医学部 助教

上記のように、出身者は我が国のオートファジー領域で重要な担い手となっている。