

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	出芽酵母における小胞体と核の選択的オートファジーの研究
Title(English)	
著者(和文)	持田啓佑
Author(English)	Keisuke Mochida
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10614号, 授与年月日:2017年9月20日, 学位の種類:課程博士, 審査員:中戸川 仁,岩崎 博史,太田 啓之,駒田 雅之,中村 信大
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10614号, Conferred date:2017/9/20, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

# 論文要旨

## THESIS SUMMARY

専攻： Department of	生体システム	専攻	申請学位（専攻分野）： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	（ 理学 ）
学生氏名： Student's Name	持田 啓佑		指導教員（主）： Academic Supervisor(main)	中戸川 仁	
			指導教員（副）： Academic Supervisor(sub)		

### 要旨（和文 2000 字程度）

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters )

オートファジーは真核生物に保存された細胞内成分の分解機構である。細胞質において扁平状の膜構造が伸展し、細胞質の一部を取り囲むようにして、オートファゴソームと呼ばれる二重膜構造が形成される。オートファゴソームは、哺乳動物の場合はリソソーム、植物や酵母の場合は液胞と融合し、リソソーム/液胞内の加水分解酵素によって内部に隔離された成分が分解される。オートファジーは栄養飢餓などのストレスに応じて誘導され、分解産物の供給を介して飢餓応答機構として働くほか、細胞内で不要あるいは異常となった成分を除去する品質管理機構としての役割を担う。オートファジーは細胞質の一部を無作為に分解する一方で、特定のタンパク質やオルガネラを選択的に分解することが近年明らかになってきた。選択的なオートファジーにおいては、レセプターと呼ばれるタンパク質が分解対象上に局在化することが、オートファジーによる分解の目印となる。分解対象上のレセプタータンパク質は、オートファゴソーム形成の足場となる Atg11 と相互作用し、これにより標的近傍でオートファゴソームの形成が開始される。さらに、レセプターが伸張中のオートファゴソーム膜上に存在する Atg8 と相互作用することで、分解対象を取り囲むようにオートファゴソームが形成される。選択的オートファジーは神経疾患をはじめとする病気と関連性から大きな注目を集めているが、未解明の課題も多く残されている。本研究では、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* をモデル生物として用い、小胞体 (ER) と核を標的とする選択的オートファジーの研究に取り組んだ。

ER の断片が多くオートファゴソームに取り込まれていることが報告され、ER の選択的オートファジー (ER ファジー) の存在が示唆されていたが、その詳細は不明であった。本研究では ER ファジーを駆動するレセプタータンパク質の存在を仮定し、研究を開始した。Atg8 の免疫沈降産物の質量分析によって同定した Atg8 結合タンパク質の中から、ER ファジーのレセプターの同定を試みた。同定された候補タンパク質のうち、2 つの機能未知タンパク質 Ylr312c および Yor152c をコードする遺伝子の欠失により ER ファジーに部分的な欠損が見られた。Ylr312c を Atg39、Yor152c を Atg40 と名付け、解析を進めた。Atg39、Atg40 は共に ER 上の膜貫通型膜タンパク質であり、細胞質側のドメインを介して Atg8 や Atg11 と相互作用した。Atg39、Atg40 は、二重欠損により ER ファジーがほぼ完全に停止すること、過剰発現によって ER ファジーが亢進すること、細胞内においてオートファゴソーム形成部位に集積すること、Atg8 や Atg11 との相互作用が ER ファジーに重要であることなどから、共に ER ファジーのレセプターであると結論付けた。さらに細胞内において、Atg39 は核周囲の ER (出芽酵母においては核膜と同義)、Atg40 は主に細胞質や細胞膜直下の ER と、局在する ER 領域が異なり、それぞれが局在する ER 領域の分解を担うことが明らかとなった。また電子顕微鏡解析の結果、Atg39 依存的に二重膜小胞がオートファゴソーム内に取り込まれることが判明した。この二重膜小胞は核に由来し、核小体など核内の成分を含むこと、すなわち核周囲の ER (核膜) と共に核内の成分が Atg39 をレセプターとする選択的オートファジーで分解されること (ヌクレオファジー) が明らかとなった。Atg40 はレティキュロン様タンパク質と呼ばれるタンパク質群と同様のトポロジーで ER 膜に挿入されていること、ER 膜上で高い膜曲率を形成する性質を持つことが示唆された。Atg40 は、Atg8 との相互作用を介して、形成途中のオートファゴソーム膜と接する ER 領域に集積し、集積した部位で ER の膜変形を引き起こす可能性が示唆された。

長時間の窒素飢餓条件において、*ATG39* の欠失株では核の形態異常や生存率の低下が見られたことから、Atg39 をレセプターとする ER ファジー/ヌクレオファジーが栄養飢餓への適応に重要であることが明らかとなった。*ATG40* の欠失株は、飢餓条件における生存率に野生株と有意な差は見られなかったが、野生株と比較して細胞膜直下の ER の網目構造が密になることが観察された。

以上のように本研究は、2 つの新規オートファジーレセプター Atg39 および Atg40 を同定し、ER と核の一部がレセプターを介した選択的オートファジーで分解されることを初めて明らかにした。さらに、ER ファジー・ヌクレオファジーの分子基盤を解明し、これら分解経路が飢餓への適応に重要な現象であることが明らかにした。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

# 論文要旨

## THESIS SUMMARY

専攻 : Department of	生体システム	専攻	申請学位 (専攻分野) : Academic Degree Requested	博士 Doctor of	( 理学 )
学生氏名 : Student's Name	持田 啓佑		指導教員 (主) : Academic Supervisor(main)	中戸川 仁	
			指導教員 (副) : Academic Supervisor(sub)		

### 要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words )

Autophagy is an intracellular degradation system conserved in eukaryotes. Double-membraned vesicles called autophagosomes sequester degradation targets and deliver them into lysosomes (in mammalian cells) or vacuoles (in yeast or plant cells) for degradation. Specific proteins and organelles are selectively degraded by autophagy through proteins called autophagy receptors. These proteins localize to degradation targets, initiate autophagosome formation through their interactions with Atg11, and mediate selective enwrapping of the targets by autophagosomes through their interactions with Atg8.

I have worked on the molecular mechanisms by which autophagy selectively degrades the endoplasmic reticulum (ER) and the nucleus in the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Among putative Atg8-binding proteins determined by mass spectrometry of Atg8 immunoprecipitates, I identified two novel autophagy receptors, Atg39 and Atg40, which induce selective autophagy of the ER (ER-phagy). Atg39 and Atg40 are integral membrane proteins, which localize to the perinuclear ER (equivalent to the nuclear envelope in *S. cerevisiae*) and the cytoplasmic and cortical ER, respectively. Atg39 and Atg40 interact with Atg8 and Atg11, and cause autophagic sequestration of ER fragments derived from the ER subdomains to which these proteins localize. Atg39 loads double-membraned vesicles, which are derived from the perinuclear ER/nuclear envelope and contain intranuclear components inside, into autophagosomes, demonstrating that Atg39-mediated selective autophagy targets a part of the nucleus (nucleophagy). My results suggested that Atg40 is structurally similar to ER membrane-shaping proteins called reticulon-like proteins and generates membrane curvature in the ER membrane which contacts with forming autophagosomal membranes.

*ATG39* knockout cells showed abnormal nuclear morphology and decreased cell viability under nitrogen starvation conditions. *ATG40* knockout cells exhibited abnormal ER morphology under starvation conditions, although these cells were normal for survival under these conditions. These results suggested that ER-phagy/nucleophagy is important for cell adaptation to nutrient starvation.

In summary, in this study, I discovered the two novel autophagy receptors Atg39 and Atg40, and showed that these receptors trigger selective autophagy of the ER and the nucleus in yeast. Moreover, this study revealed the molecular basis and physiological significance of these novel autophagy pathways.

備考 : 論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意 : 論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).