

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, 学位の種別: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)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

(博士課程)

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	持田 啓佑		
論文審査 審査員		氏名	職名		氏名	職名
	主査	中戸川 仁	准教授	審査員	中村 信大	准教授
	審査員	岩崎 博史	教授			
		太田 啓之	教授			
駒田 雅之		教授				

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「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」と題し、以下の4章より構成されている。

第1章「序論」では、まず、“オートファジー”という細胞内の主要な分解経路のプロセスと、分解対象を隔離し液胞あるいはリソソームに輸送する二重膜小胞“オートファゴソーム”の形成機構について、本研究の対象生物である出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の解析によりこれまでに得られた知見を中心に概説している。続いて、特定の細胞成分を選別して分解する“選択的オートファジー”について、異常タンパク質やミトコンドリアなどの既知の分解対象とその選別機構および生理的意義を詳説している。そして、先行研究において、小胞体および核がオートファジーによって選択的に分解される可能性が示唆されていたものの、これを実証するデータは存在せず、具体的なメカニズムや分解の重要性は不明であったことを述べ、本研究の意義を明確にしている。

第2章「結果」では、まず、出芽酵母において、オートファジーによる小胞体の分解をアッセイするための実験系を確立し、窒素源欠乏培地において小胞体がオートファジーにより積極的に分解されることを確認したと述べている。続いて、小胞体の分解が既知の選択的オートファジー経路と類似したメカニズムの上に成り立っていることを示し、小胞体をオートファゴソームに取り込ませる“レセプタータンパク質”の同定に研究の方向性を定めたことについて述べている。

既知のレセプターはAtg8というタンパク質と相互作用するという事実に基づき、Atg8の免疫沈降産物の質量分析において検出されたタンパク質の中から、小胞体の分解に重要な2つのタンパク質を特定し、Atg39, Atg40と名付けている。これらのタンパク質は、窒素源欠乏に応じて発現すること、小胞体に局在化すること、膜貫通型膜タンパク質であることなどを示し、小胞体膜におけるトポロジーも決定している。加えて、タンパク質間相互作用や細胞内動態を解析し、既知のレセプターと同様の性質を有していることから、Atg39, Atg40は共にオートファジーによる小胞体の選択的分解（以下、“ERファジー”と記す）におけるレセプターであると結論付けている。

次に、Atg39, Atg40の小胞体上での局在を精査し、Atg39は細胞核周囲の小胞体（核膜）に、Atg40は細胞質の小胞体および細胞膜直下の小胞体に偏在していることを示している。このような結果に着想を得て、Atg39およびAtg40はそれぞれが偏在する小胞体のサブドメインの分解に特化していることを明らかにしている。電子顕微鏡解析により、オートファゴソーム内に取り込まれた小胞体断片の形

態を精査し、Atg39は核周囲小胞体（核膜）由来の二重膜小胞を、Atg40は細胞質小胞体および細胞膜直下小胞体由来のチューブ状あるいはシート状の断片をオートファゴソームに取り込ませることを明らかにしている。さらに、核周囲小胞体（核膜）由来の二重膜小胞の内部には、核内タンパク質が含まれていることを示し、この小胞は核が出芽して形成された可能性を指摘している。すなわち、Atg39は、オートファジーによる核成分の選択的分解（以下、“ヌクレオファジー”と記す）を誘導するレセプターとしても記述すべきであると述べている。

Atg40に関してはさらに、そのERファジーにおける機能と動態を解析している。Atg40には小胞体膜の曲率を増大させる機能があること、Atg40はオートファゴソーム膜の形成が開始するとAtg8との相互作用に依存して小胞体上に集積することを示している。その他の結果と合わせ、Atg40は形成途中のオートファゴソーム膜上のAtg8との結合を介して小胞体膜上に集積し、小胞体を折りたたみ、切断して、オートファゴソームに取り込ませるというモデルを提唱している。

本章の最終節は、ERファジー／ヌクレオファジーの生理的意義に関する解析にあてられている。Atg39, Atg40は、ERファジー／ヌクレオファジーに特異的に機能する因子であることから、これらの欠損株の解析によりこれら経路の生理的意義の理解が可能であると述べている。実際に、*ATG39*遺伝子破壊株は、窒素源欠乏培地において核の形態に異常を呈し、野生株よりも速やかに生存率が低下することを明らかにしている。一方、*ATG40*破壊株に関しては、窒素源欠乏条件において細胞膜直下小胞体に形態異常が見られるものの、細胞の生存には影響はないことを示している。

第3章「考察」では、本研究の結果を総括した後、ERファジー／ヌクレオファジーの分解のメカニズムや生理的意義について、様々な観点から考察を重ねている。本研究と同時期に他のグループが哺乳類細胞において同定したERファジーのレセプターであるFAM134BとAtg40を比較し、これらが機能的ホモログの関係にあることを提唱している。加えて、FAM134Bがヒトにおいては遺伝性感覚自律神経性ニューロパチーII型の責任因子であることについて言及し、その病態や、哺乳類における小胞体の品質管理機構などに関する知見を例示しながら、オートファジーによる小胞体分解の生理的意義について深く考察している。*ATG39*の欠失が引き起こす核の形態異常や細胞死についてもその原因を考察し、核成分の分解の意義を考察している。また、Atg39についても他の生物種に機能的ホモログが存在する可能性に言及している。さらに、ERファジー／ヌクレオファジーを誘導する際のAtg39およびAtg40の機能や制御、小胞体および核の断片化のメカニズムについても考察を重ねている。

第4章「材料と方法」では、本研究で用いた実験手法と実験材料の詳細を述べ、他の研究者による追試実験を可能にしている。

以上を要するに、本論文は小胞体および核がオートファジーにより選択的に分解されることを世界に先駆けて示し、これらオルガネラの分解を誘導するレセプター分子を同定し、ERファジー／ヌクレオファジーの分子基盤と生理的意義を解明したものであり、理学上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチポジトリ(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。