

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	出芽酵母におけるオートファジー関連E3酵素複合体のオートファゴソーム前駆体への局在化機構の研究
Title(English)	
著者(和文)	原田久美
Author(English)	Kumi Harada
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11216号, 授与年月日:2019年6月30日, 学位の種別:課程博士, 審査員:中戸川 仁,太田 啓之,岩崎 博史,中村 信大,藤田 尚信
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11216号, Conferred date:2019/6/30, 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

論文審査の要旨及び審査員

(2000字程度)

報告番号	乙 第 号	学位申請者	原田 久美	
	氏 名	職 名	氏 名	職 名
論文審査員	主査 中戸川 仁	准教授	藤田 尚信	准教授
	太田 啓之	教授		
	岩崎 博史	教授		
	中村 信大	准教授		

本論文は、「出芽酵母におけるオートファジー関連E3酵素複合体のオートファゴソーム前駆体への局在化機構の研究」と題し、以下の4章から構成されている。

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概要を記している。次に、オートファジーの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、この過程に必須のオートファジー関連タンパク質 (Atgタンパク質) の機能や細胞内動態を中心に、本研究の対象生物である出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の解析によってこれまでに得られた知見を概説している。続いて、本研究がフォーカスするオートファゴソーム形成に重要なE3酵素複合体であるAtg12-Atg5-Atg16複合体 (以下、Atg16複合体と記す) に関する先行研究を詳説し、同複合体のオートファゴソーム前駆体への局在化機構には不明な点が残されていたこと、そしてその解明の重要性を述べ、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、Atg16複合体のオートファゴソーム前駆体への局在化には、既知のホスファチジルイノシトール 3-リン酸 (PI3P) とPI3P結合タンパク質Atg21 (Atg16にも結合する) に依存する経路に加え、未知の経路が存在することを示唆する発見について述べており、その未知の経路にはAtg16複合体の中のAtg12が関与する可能性を示している。

続いて、この未知の経路に関わる因子を特定するために、Atg16複合体と相互作用する因子を探索した結果について述べている。Atg16複合体の免疫沈降産物を質量分析に供し、Atg1-Atg13-Atg17-Atg29-Atg31タンパク質リン酸化酵素複合体 (以下、Atg1複合体と記す) を検出し、共免疫沈降解析によりこれら複合体間の相互作用を確認している。さらに、この相互作用はオートファジーの誘導 (栄養飢餓に伴うTorキナーゼ複合体1の活性低下) に応じて起こること、両複合体を構成する因子を全て必要とすること、オートファゴソーム前駆体の形成のための足場となるAtg1複合体の高次会合体形成を必要とすることなど、メカニズムの解明に必要な基礎的なデータを収集し、示している。

次に、Atg16複合体とAtg1複合体の相互作用の重要性を調べるためには、この相互作用を欠損する変異体が必要であることを述べ、実際に、Atg12のN末端領域の欠失により、この相互作用が失われることを発見している。そして、重要なこととして、既知のPI3P依存的な経路を破壊しても、Atg16複合体のオートファゴソーム前駆体への局在化およびオートファジーの活性は部分的に低下するに留まるのに対し、*ATG21* を破壊すると共にAtg12のN末端領域を欠失させ、PI3P依存的な経路と同時に本研究で見いだしたAtg1複合体との相互作用を介した経路と破壊すると、Atg16複合体のオートファゴソーム前駆体への局在化は完全に失われ、オートファジーも完全に停止することを示している。すなわち、Atg16複合体は、2つの異なる経路でオートファゴソーム前駆体に局在化されることを明らかにしている。

さらに、2つの経路でオートファゴソーム前駆体にAtg16複合体を局在化させることの意義に関する解析をおこなっている。Atg16複合体にはユビキチン様タンパク質Atg8と脂質 (ホスファチジルエタノールアミン) との結合反応を促進する機能 (E3機能) があり、PI3P依存的な経路でリクルートされるAtg16複合体はAtg8の脂質化に重要であることが報告されているが、Atg1複合体との相互作用を介してリクルートされるAtg16複合体には、同様の役割に加え、Atg1複合体による高次会合体の形成、すなわちオートファゴソーム前駆体形成のための足場構築を促進するという新たな役割 (非E3機能) があることを見いだしている。

他、本論文では、質量分析において検出された他のタンパク質およびPI3Pに結合するAtg2-Atg18複合体の

関与について得られた結果も示し、これらの関与の否定やさらなる解析の必要性についても述べている。

第3章「考察」では、本研究の結果を総括しながら、Atg16複合体とAtg1複合体との相互作用のメカニズム、これによるAtg1複合体の高次会合体形成のメカニズム、PI3P依存的な経路との関係について、様々な観点から考察を重ねている。また、哺乳類細胞に関して報告されているAtg16複合体の局在化機構と比較し、メカニズムの詳細は異なるが両生物でPI3P依存的な経路とAtg1複合体との相互作用に依存した経路の両者が存在することを指摘し、哺乳類では両経路の関係が不明であることから、本研究が哺乳類での研究における重要な指針となる可能性について述べている。

第4章「材料と方法」では、他の研究者による追試が可能となるよう本研究で用いた実験材料と手法の詳細を述べている。

以上を要するに、本論文は、オートファジーにおける中心的なイベントであるオートファゴソーム形成の初期段階のメカニズムを明らかにしたものであり、理学的に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。