

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レセプターのリン酸化制御機構に関する解析
Title(English)	
著者(和文)	目黒創太
Author(English)	Sota Meguro
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11721号, 授与年月日:2022年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:中戸川 仁,岩崎 博史,田口 英樹,中村 信大,加藤 明
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11721号, Conferred date:2022/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	要約
Type(English)	Outline

論文要約

系・コース： 生命理工学 系
Department of Graduate major in 生命理工学 コース
学生氏名： 目黒 創太
Student's Name

申請学位 (専攻分野)： 博士 (理学)
Academic Degree Requested Doctor of
指導教員 (主)： 中戸川 仁
Academic Supervisor(main)
指導教員 (副)：
Academic Supervisor(sub)

オートファジーは真核生物において広く保存されている細胞内の分解システムである。オートファジーが誘導されると、分解対象はオートファゴソームと呼ばれる二重膜胞内に選択的、あるいは非選択的に隔離され、液胞、またはリソソームにて分解される。分解対象が非選択的に隔離される場合を“選択的オートファジー”と呼ぶ。出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* における選択的オートファジーでは、“オートファジーレセプター (以下、レセプターとも記す)”と呼ばれるタンパク質が、標的となるオルガネラやタンパク質に局在化あるいは結合し、“アダプタータンパク質”である Atg11 と相互作用する。Atg11 はコア Atg タンパク質群を分解標的にリクルートすることで、オートファゴソームの形成を開始する。また、レセプターは形成途中のオートファゴソーム膜に局在する Atg8 との相互作用を介して、分解対象をオートファゴソーム内へ効率的に取り込む。

出芽酵母において、レセプターのリン酸化は各選択的オートファジーを正に制御することが知られている。しかし、そのリン酸化反応の全体像および制御機構は明らかにされていない。本研究では、リン酸化によるオートファジーレセプターの制御機構に関する解析をおこなった。

ペルオキシソームの選択的オートファジーはペキソファジーと呼ばれる。出芽酵母においては、Atg36 がペキソファジーのレセプターとして機能する。Atg36 は、casein kinase 1δ (CK1δ) のホモログである Hrr25 によってリン酸化される。このリン酸化は Atg36 と Atg11 との相互作用を促進することで、ペキソファジーを正に制御する。しかし、このリン酸化反応が細胞内のどこで、どのように制御されるかは明らかにされていなかった。これまでの研究により、Atg36 はペルオキシソーム膜タンパク質である Pex3 との相互作用を介してペルオキシソームに局在化することや、PEX3 欠損株ではペキソファジー活性が顕著に低下することが示されていた。そのため、Pex3 が Atg36 のリン酸化に関与する可能性を検証した。PEX3 欠損株、および Atg36 との相互作用が減弱する Pex3 変異体 (Pex3-177) を発現する株では、ペキソファジー誘導条件で Atg36 のリン酸化が顕著に減弱したことから、Atg36 のリン酸化には Atg36 と Pex3 との相互作用が重要であることが示唆された。また、出芽酵母細胞に Pex3 の細胞質ドメインのみを発現させると、Atg36 は細胞質に局在化するが、この細胞においても Atg36 のリン酸化が確認されたことから、Atg36 のリン酸化にペルオキシソームへの局在化は不要であることが示唆された。精製したリコンビナントタンパク質を用いたリン酸化反応系において、Pex3 の細胞質ドメインを添加すると Hrr25 による Atg36 のリン酸化反応が促進されることを見出した。一方、Pex3-177 変異体の細胞質ドメインにおいて、Atg36 のリン酸化反応の促進は確認できなかった。これらの結果より、Pex3 と Atg36 の相互作用が Hrr25 による Atg36 のリン酸化を直接促進すると結論付けた。

一方で、ペキソファジー誘導条件において、Atg36 がプロテアソーム依存的に分解されることも明らかにした。PEX3 欠損株、および Pex3-177 変異体発現株では Atg36 のプロテアソーム依存的な分解が促進されたことから、Atg36 と Pex3 の相互作用は Atg36 のプロテアソーム依存的な分解の抑制に重要であることが示唆された。これらの結果から、Pex3 によるリン酸化と分解の制御を介した Atg36 の空間的制御機構を提唱した。

出芽酵母における核の選択的オートファジーであるヌクレオファジーにおいては、Atg39 がレセプタータンパク質として機能する。当研究室での先行研究により、ヌクレオファジーも Hrr25 による Atg39 のリン酸化および Atg39 と Atg11 との相互作用の増強を介して活性化されることが示唆されていた。多くのタンパク質のリン酸化は、キナーゼと拮抗するホスファターゼにより制御されていることから、私は、Atg39 の脱リン酸化に関与するホスファターゼの探索とこれによる Atg39 の機能制御についての解析を進めた。本研究は、出芽酵母におけるペキソファジーおよびヌクレオファジーの制御機構の理解を大きく進めた。また、出芽酵母のみならず他の生物種における選択的オートファジーの制御機構の解析にも重要な指針を与えるものと期待される。