

出芽酵母を用いた栄養飢餓時における細胞内小器官形成の 分子メカニズムの解明

Molecular mechanisms of organelle biogenesis upon starvation in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*

東京大学 鈴木 邦律

真核細胞にはオートファジーと呼ばれる細胞内の自己分解機構が存在する。不要となった細胞内成分や侵入してきた病原体を除去する働きを持つオートファジーは、真核生物の生存にとって極めて重要である。これまで、単細胞真核細胞である出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を用いて、オートファジーの過程が詳細に研究されてきた。出芽酵母が栄養飢餓を感知すると、Atg (autophagy-related) タンパク質が細胞内分解コンパートメントである液胞膜近傍に集積し、pre-autophagosomal structure (PAS) と呼ばれる構造体を形成する。続いて PAS を起点として膜構造体である隔離膜が細胞質成分を包み込みながら伸展していく。最終的に閉じた脂質二重膜であるオートファゴソーム (autophagosome; AP) が完成し、液胞と融合する。その後内包物は液胞内の加水分解酵素によって分解され、再利用される。

Atg8 は AP 形成に必須のタンパク質であり、合成された後システインプロテアーゼである Atg4 によって C 末端のアルギニン残基が切断され、グリシン残基が露出する。その後 Atg8 はリン脂質であるホスファチジルエタノールアミン (PE) と結合して Atg8-PE となる。また Atg4 は Atg8-PE を切断し、Atg8 を遊離させる。Atg4 を欠損した株では Atg4 によるグリシン残基の露出と Atg8-PE の切断が起こらないためオートファジー不能となる。このように Atg4 は AP 形成に極めて重要であるにも関わらず、AP 形成時の Atg4 の時空間的活性制御機構についてはほとんど分かっていなかった。

そこで我々は Atg4 の局在に注目して研究を開始した。まず、AP 形成の際に Atg4 が機能する場所を特定するためにゲノム上の Atg4 の C 末端に GFP を挿入した株を作製した。Atg8 との局在を解析したところ、Atg4 は PAS 上で Atg8 と共局在することが分かった。次に、我々が最近開発した手法を用いて IM を可視化したところ、Atg4 は IM 上でも Atg8 と共局在することが明らかとなった。これらの結果から、Atg4 は IM 上で何らかの機能を果たしていることが示唆された。

さらに、Atg4 の酵素活性と AP 形成との関係を調べるために Atg4 の活性中心変異株を 8 種類作製した。これらの株における Atg8 および Atg8-PE の切断活性を調べたところ、IM 形成過程において Atg4 の酵素活性が果たす役割を示唆する結果が得られた。

本講演ではこれらの表現型解析の結果を踏まえて、AP 形成における Atg4 の役割を議論したい。