



# News Release

(公財)微生物化学研究会  
微生物化学研究所  
国立大学法人東京大学

平成 27 年 6 月 2 日

## 高等生物のオートファジーの始動に必須な因子の 立体構造を解明

### ポイント

- 高等生物のオートファジーの始動に必須の因子である **Atg101** の立体構造を解明しました。
- オートファジーの過程で **Atg101** が別の必須因子 **Atg13** の安定化に寄与するとともに、他の **Atg** 因子群の集積にも関与することを解明しました。
- 本成果は、哺乳類などの高等生物におけるオートファジーの始動機構を解明するための基盤的知見であり、今後オートファジーの始動機構の全容解明やオートファジーの制御剤開発につながることを期待されます。

### ■背景

生物が生きるためには、細胞内において必要な成分を合成するだけでなく、不要なもの、有害なものを分解することも非常に重要です。オートファジーはこのような細胞の機能を維持するために酵母からヒトにいたる真核生物において広く保存された分解システムの一つです。ヒトにおいては、オートファジーの異常により神経変性疾患などの重篤な疾患を引き起こすと考えられています。これまでモデル生物である出芽酵母を用いてオートファジーに関わる多くのタンパク質因子群 (**Atg** 因子群) が同定され、オートファジーのメカニズムが徐々に解明されてきました。ヒトなどの高等生物においてもこれら **Atg** 因子の多くは保存されており、オートファジーの制御に関わっていますが、一方で高等生物は出芽酵母にない固有の因子もオートファジーの制御に用いています。したがって高等生物におけるオートファジーのメカニズムを解明するためにはそれら高等生物固有の因子の解析も必要不可欠です。

出芽酵母においては、**Atg1** 複合体 (**Atg1**、**Atg13**、**Atg17**、**Atg29**、**Atg31** の 5 つの因子からなる複合体) がオートファジーの始動を担っていると考えられています。ヒトな

どの高等な生物においてこれに対応する分子群が ULK 複合体で、ULK1/2 (Atg1 の相同分子)、Atg13、FIP200 (Atg17 の機能類縁体)と Atg101 の 4 者で構成される複合体です。つまり、高等な生物には出芽酵母における Atg29 と Atg31 が存在せず、かわりに Atg101 という固有の因子が存在します。Atg101 は Atg13 に結合してその安定化に関わることが報告されていましたが、それ以外の機能についてはほとんどわかっていませんでした。

## ■研究手法と成果

当研究所の野田展生 主席研究員、鈴木浩典 博士研究員は東京大学大学院医学系研究科の水島昇 教授、貝塚剛志 特任研究員のグループと共同で、高等生物のオートファジーにおける固有の因子である Atg101 の立体構造を Atg13 との複合体状態で X 線結晶構造解析法により明らかにしました。さらに立体構造情報に基づいて、Atg101 がオートファジーにおいて担う機能を世界で初めて解明しました。

研究グループは出芽酵母よりも進化上哺乳類に近く、Atg101 を保存している分裂酵母に着目し、分裂酵母由来の Atg101 と Atg13 の複合体を大腸菌を用いて大量に調製し結晶化を行いました。結晶からの回折像の測定には、大型放射光施設 SPring-8 BL41XU の強力な X 線を使用し、3.0 Å 分解能での構造決定に成功しました。

構造解析の結果、Atg101 は HORMA ドメイン (注 1) 構造をとり (図 1)、Atg13 も HORMA ドメイン構造をとることで、HORMA-HORMA の複合体を形成していることが分かりました。これまでに、出芽酵母の近縁種由来の Atg13 の構造が報告されており、それもまた類似の HORMA ドメイン構造を有しています。しかしながら、出芽酵母の近縁種由来の Atg13 ではタンパク質の一部が“帽子”のような構造をとり、帽子が HORMA ドメイン構造に被さることで分子全体が固まった構造をとる (=安定) のに対して、分裂酵母由来の Atg13 では帽子のような構造を持たず、分子全体が不安定な状態であることがわかりました (図 2)。またアミノ酸配列の比較から、ヒトなど高等生物の Atg13 でも、“帽子”に相当する領域が存在しないことがわかりました。このことから、高等生物においては Atg13 は不安定であり、安定化する因子として Atg101 を必要とすると考えられます。実際、Atg101 は 1150 Å<sup>2</sup> と比較的広い面 (Atg13 結合面) を用いて Atg13 と相互作用し、Atg13 の安定化に寄与していることが構造科学的に明らかとなりました。また、細胞を用いた解析から、Atg13 結合面は Atg101 自身が ULK 複合体に組み込まれることに重要であることが明らかとなりました。

また Atg101 の Atg13 結合面とは反対の面には、他の HORMA ドメインタンパク質には見られない、特徴的なループ構造が存在していました。このループ領域には、トリプトファン(Trp; W)およびフェニルアラニン(Phe; F)という疎水性の強いアミノ酸残基が外側に突き出て存在しており、これらのアミノ酸はすべての生物種の Atg101 に保存されていました (WF フィンガーと命名)。哺乳類細胞を用いてヒト Atg101 の機能を解析したところ、Atg101 がオートファジーに働くためには WF フィンガーが必須であり、

WF フィンガーを用いて他の Atg 因子群の集積に重要な役割を果たすことが明らかとなりました (図 3)。ULK 複合体はオートファジーが進行する場に最初に来る因子であることがこれまでの研究でわかっています。すなわち ULK 複合体の構成因子である Atg101 は、他の Atg 因子群をオートファジー進行の場へと連れてくることで、オートファジーの始動を引き起こすことが明らかとなりました。

#### (注 1) HORMA ドメイン

HORMA ドメインは、DNA 修復や細胞周期を制御する Hop1, Rev7, Mad2 という三種類のタンパク質に共通してみられるドメインであり、それらにちなんで命名された。螺旋状構造 ( $\alpha$ ヘリックス) と平面状構造 ( $\beta$ シート) が並んで配置する構造をとり、一般的に他のタンパク質の認識に関わる。

#### ■今後の期待

本研究の成果は、哺乳類などの高等生物におけるオートファジーの始動機構を解明する上での基盤的知見であり、オートファジーの始動機構の全容解明に向けた研究が加速することが期待されます。オートファジーの始動機構が明らかになることで、オートファジーを特異的に制御する薬剤開発にも道が拓けることが期待されます。

#### ■発表雑誌

- ◆雑誌名: Nature Structural & Molecular Biology
- ◆論文タイトル: Structure of the Atg101–Atg13 complex reveals essential roles of Atg101 in autophagy initiation
- ◆著者: Suzuki, H., Kaizuka, T., Mizushima, N. and Noda, N. N.
- ◆DOI 番号: doi:10.1038/nsmb.3036

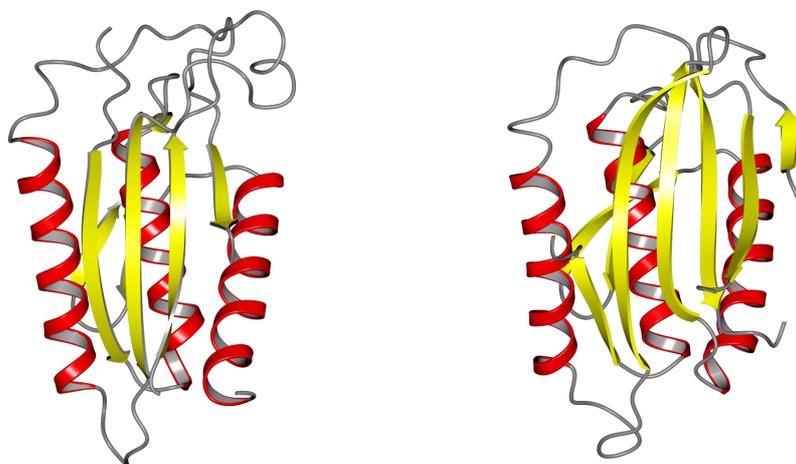


図 1: Atg101 と Mad2 の立体構造

X線結晶構造解析により新規に決定した Atg101（左）と HORMA ドメインタンパク質の代表例である Mad2（右）の立体構造。螺旋状構造（ $\alpha$ ヘリックス；赤）と平面状構造（ $\beta$ シート；黄）の構成がよく似ている。

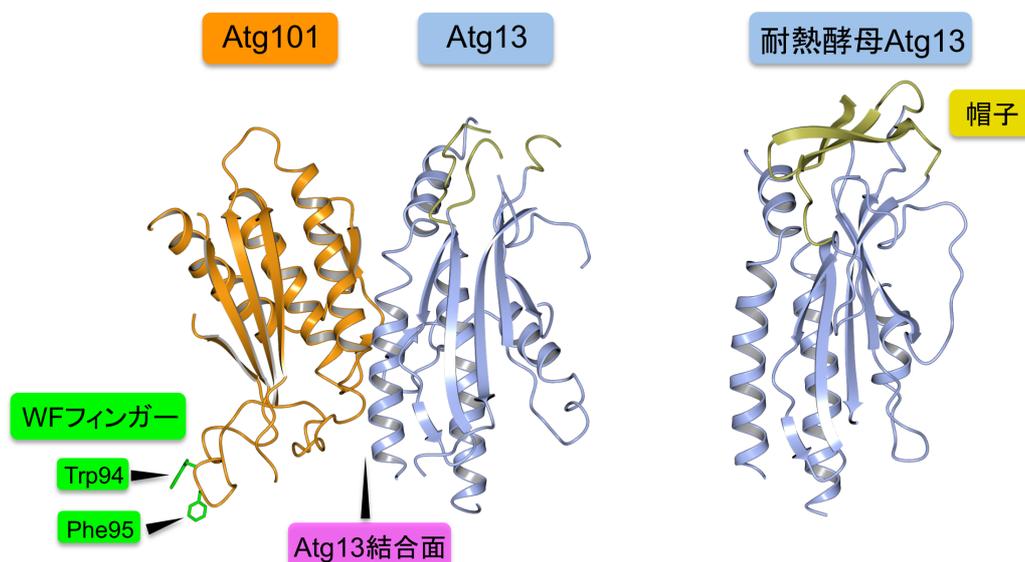


図 2 : Atg101-Atg13 複合体の立体構造

（左）分裂酵母の Atg101-Atg13 複合体の全体構造。Atg101 をオレンジ、Atg13 を青で示している。他の Atg 因子の集積に関わる WF フィンガー内の 2 つの残基(トリプトファン(Trp), フェニルアラニン(Phe))をスティックモデルで示す。

（右）出芽酵母の近縁種（耐熱酵母）由来 Atg13(PDB ID 4J2G)の立体構造。Atg13 の構造を安定化する“帽子”（黄色）を持っている。

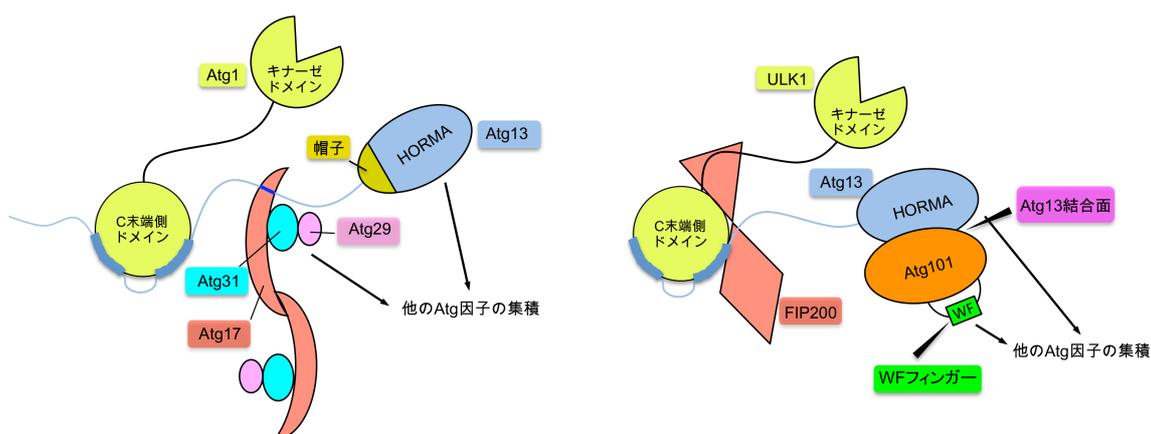


図 3 : オートファジー始動のモデル

（左）出芽酵母 Atg1 複合体のモデル。Atg13 は自身の“帽子”部分で安定化し、独立にまたは Atg29-Atg31 と協働で他の Atg 因子群の集積に関与する。

（右）哺乳類など高等生物 ULK 複合体のモデル。Atg101 は WF フィンガーを用いて他の

Atg 因子群の集積に関与する。その際 Atg101 により安定化した Atg13 が協働的に働く可能性がある。

#### ■本研究への支援

本研究は JSPS 科研費 新学術領域研究「オートファジーの集学的研究:分子基盤から疾患まで」研究領域(水島 昇 領域代表)における研究課題「オートファジーを担う Atg タンパク質群の構造基盤」(研究代表者:野田 展生、課題番号 25111004)、「オートファジーの生理・病態生理学的意義とその分子基盤」(研究代表者:水島 昇、課題番号 25111005)、および科学技術振興機構(JST)の戦略的創造研究推進事業 チーム型研究(CREST)「ライフサイエンスの革新を目指した構造生命科学と先端的基盤技術」研究領域(田中 啓二 研究総括)における研究課題「オートファジーの膜動態解明を志向した構造生命科学」(研究代表者:野田 展生)の助成を受けて行われたものです。また本成果は、文部科学省創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業の支援により得られました。

#### お問い合わせ

微生物化学研究所(微化研) 知的財産情報部

電話:03-3441-4173(代表) E-mail:[chizaijoho@bikaken.or.jp](mailto:chizaijoho@bikaken.or.jp)

#### 研究内容に関する問い合わせ

微生物化学研究所(微化研) 野田展生 E-mail:[nn@bikaken.or.jp](mailto:nn@bikaken.or.jp)

東京大学大学院医学系研究科 水島 昇 E-mail:[nmizu@m.u-tokyo.ac.jp](mailto:nmizu@m.u-tokyo.ac.jp)