

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		細胞内寄生細菌排除に働くオートファジーの空間制御機構の解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Analyses of spatial regulation of autophagy induction against intracellular bacteria			
研究氏 代表 者	カナ CC	姓)ヤノ	名)タマキ	研究期間 B	2009～ 2010 年
	漢字 CB	矢野	環	報告年度 YR	2011 年
	ローマ字 CZ	YANO	TAMAKI	研究機関名	東北大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		東北大学大学院薬学研究科・准教授			
概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)					
<p>細胞内寄生細菌は宿主の細胞に侵入することで、宿主の体液性自然免疫応答から逃れるが、宿主はこれに対しオートファジーにより対抗する。オートファジーは細胞内のタンパク質等の代謝回転に機能するときは非特異的な分解系であるが、病原体排除には病原体認識分子による認識依存的に、菌の周辺に空間的に限局されて誘導される。このオートファジーの誘導機構とその空間的制御は、宿主細胞にとって不要な分解を避け、病原体を効率よく排除するために重要である。我々はこれまでに、ショウジョウバエをモデル生物として、細胞内寄生細菌であるリステリア菌の感染に応じて、病原体認識分子である PGRP-LE による菌の認識依存的に菌の周辺にオートファジーが誘導されることを明らかにしてきた。</p> <p>本研究では、細胞内寄生細菌感染時におけるオートファゴソーム形成の空間的制御を解明する目的で、まず、オートファジー誘導シグナルの解明を行った。ユビキチン結合ドメインと、オートファジー関連因子である Atg8 (LC3) 結合ドメインを有する Ref (2) P タンパク質が、細胞内に侵入したリステリア菌の周囲に認識分子 PGRP-LE、ユビキチンと共に局在し、リステリア菌の細胞内増殖抑制に必要であることを見いだした。さらに、ref (2) が RNA ウイルスである Drosophila C virus (DCV), vesicular stomatitis virus (VSV) に対する個体としての抵抗性に必須であることを示した。VSV 感染はショウジョウバエ細胞においてオートファジーを誘導することが報告されており、これらの結果は異なる病原体の感染に対して異なる認識分子により誘導されるオートファジーにおいて、ref (2) P が共通のアダプターとして機能していることを示唆している。</p> <p>我々はさらに、オートファゴソーム形成の空間制御に機能する microRNA を単離する系を構築した。microRNA 結合タンパク質である Ago-1 を恒常的に、あるいは誘導的に発現させることのできる S2 細胞株を確立し、Ago-1 に付加した FLAG タグに対する抗体を用いて pull down することにより Ago-1-microRNA 複合体を単離でき、多くの場合 microRNA が結合している reaper mRNA が濃縮されることを確認した。この系を用いて、現在、オートファゴソーム形成の空間制御に関与する micro RNA の解析とその標的 mRNA の網羅的な解析を行っている。</p>					
キーワード FA	オートファジー	micro RNA	自然免疫	細胞内寄生細菌	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Cooperative regulation of the induction of the novel antibacterial listericin by PGRP-LE and the JAK/STAT pathway							
	著者名 ^{GA}	Goto, A. et al.	雑誌名 ^{GC}	J. Biol. Chem.					
	ページ ^{GF}	15731~15738	発行年 ^{GE}	2	0	1	0	巻号 ^{GD}	285
雑誌	論文標題 ^{GB}	Intracellular recognition of pathogens and autophagy as an innate immune host defense							
	著者名 ^{GA}	Yano, T. et al.	雑誌名 ^{GC}	J. Biochem.					
	ページ ^{GF}	143~149	発行年 ^{GE}	2	0	1	1	巻号 ^{GD}	143
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}		発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

Autophagy, a fundamental degradation system that is conserved from yeast to mammals, act also as a critical host innate immune defense against invaded pathogens, such as intracellular bacteria. When pathogens invade into the host cytoplasm, they are sequestered in the autophagosome, a double membrane structure for autophagy, which eventually fuse with lysosome to degrade inner molecules. The autophagosome surrounded the pathogens are spatially regulated, and this regulation is crucial for avoiding to destroy undesirable host proteins and organelles.

To investigate the mechanism of the spatial regulation of autophagosome formation, we analyzed the function of Ref(2)P protein, which has ubiquitin binding domain and Atg8-associate domain. We have shown that Ref(2)P protein is colocalized with ubiquitin and PGRP-LE, the pathogen recognition protein that binds to peptidoglycan of the invaded bacteria, and activate an unknown innate immune signaling to induce autophagy. Knock down of *ref(2)P* expression by RNAi methods has revealed that *ref(2)P* is required for the autophagy induction at the time of the bacterial invasion. Moreover, we have found that *ref(2)P* is essential for the resistance against *Drosophila C virus* (DCV), or vesicular stomatitis virus (VSV) *in vivo*. The infection of VSV has been shown to induce autophagy in *Drosophila*. These results suggest that Ref(2)P protein functions as the common adopter for the autophagy induction *via* different pathogen sensors.

We further investigate the spatial regulation of the autophagosome that surround the invaded pathogens. For analyzing the function of microRNAs on the regulation, we established the Ago-1 expressing S2 cell lines. Ago-1 is the microRNA binding protein, and using these lines, we have succeeded the isolate microRNA-mRNA-Ago-1 complex. We are now continue to analyze the pathogen infection-specific expression of microRNAs and their target mRNAs, and microRNAs that functions to regulate autophagosome formation.