

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		ミトコンドリア品質マネジメントシステムの解明と制御ツールの確立			
研究テーマ (欧文) AZ		Mitochondrial quality management system and its regulation tools			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓)オカモト	名)コウジ	研究期間 B	2010 ~ 2012 年
	漢字 CB	岡本	浩二	報告年度 YR	2012 年
	ローマ字 CZ	Okamoto	Koji	研究機関名	大阪大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		大阪大学大学院生命機能研究科・特任准教授			
<p>概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)</p> <p>選択的ミトコンドリア分解(マイトファジー)は細胞内品質マネジメントシステムの一つである。本研究では、マイトファジーの基本原理解明を目的とし、出芽酵母をモデルに用いて分子レベルの解析を行った。</p> <p>【1】ミトコンドリア分解の選択性を規定しているタンパク質 Atg32 の発現に関する新たな知見を得た。Atg32 はミトコンドリア外膜に局在する膜タンパク質であり、オートファゴソーム膜の形成に重要な Atg8 および Atg11 と直接相互作用する。これまでの知見から、マイトファジー誘導時に Atg32 の発現が一過的に上昇し、ミトコンドリア分解が促進されると考えられている。今回、リン脂質合成系の変異体において、Atg32 の発現が強く抑制されることを見出した。この変異体ではマイトファジーの効率が著しく低下している。ATG32 遺伝子の発現を定常性プロモーターの支配下に置くと、この変異体での発現抑制が解除されることから、リン脂質代謝と転写レベルの発現制御は密接にリンクしていると考えられる。現在、リン脂質シグナリング関連の転写調節系を解析しており、新規シグナル分子を利用したマイトファジー制御の技術創出に繋がるものと期待している。</p> <p>【2】ミトコンドリアの分解を定量解析するための適切なプローブについて、改良と詳細な検討を行った。酵母細胞のミトコンドリア・マトリックスに局在するプローブの遺伝子カセットを酵母の染色体上に組み込み、細胞間でより均一な発現を得ることができた。マイトファジーにより、ミトコンドリアは分解コンパートメントである液胞(リソソームに相当)に運ばれて分解されるが、このプローブは分解に耐性であるため、液胞内に蓄積してゆく。この蓄積量をウェスタン解析で定量化することで、マイトファジーをモニタリングできる。プローブの発現量が過剰になると、ミトコンドリアの呼吸や形態に異常を生じることが判明したため、発現プロモーターを各種検討し、適切な発現系を構築した。</p>					
キーワード FA	ミトコンドリア	オートファジー	品質管理	酵母	

(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}	Mitochondria breathe for autophagy							
	著者名 ^{GA}	Koji Okamoto	雑誌名 ^{GC}	EMBO Journal					
	ページ ^{GF}	2095~2096	発行年 ^{GE}	2	0	1	1	巻号 ^{GD}	30
雑誌	論文標題 ^{GB}	Autophagy-related protein 32 acts as autophagic degron and directly initiates autophagy							
	著者名 ^{GA}	Noriko Kondo-Okamoto et al.	雑誌名 ^{GC}	Journal of Biological Chemistry					
	ページ ^{GF}	10631~10638	発行年 ^{GE}	2	0	1	2	巻号 ^{GD}	287
雑誌	論文標題 ^{GB}	Mitochondria and autophagy: Critical interplay between the two homeostats							
	著者名 ^{GA}	Koji Okamoto and Noriko Kondo-Okamoto	雑誌名 ^{GC}	Biochimica et Biophysica Acta					
	ページ ^{GF}	595~600	発行年 ^{GE}	2	0	1	2	巻号 ^{GD}	1820
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}

Selective degradation of mitochondria (mitophagy) is an intracellular quality management system. In this study, we sought to uncover the basic principles underlying mitophagy and performed molecular analyses using budding yeast as a model organism.

[1] We gained new insights into the expression of Atg32, a protein that determines the selectivity of mitochondria degradation. Atg32 localizes to the outer membrane of mitochondria, and directly interacts with Atg8 and Atg11, proteins required for autophagosome formation. Upon mitophagy, Atg32 is temporally up-regulated, which is a critical step to promote mitochondria degradation. In this study, we found that the expression of Atg32 is suppressed in cells lacking a phospholipid biosynthesis enzyme. This mutant is strongly defective in mitophagy. When controlled under a constitutive promoter, the Atg32 expression is induced, suggesting that its transcriptional regulation is linked to phospholipid metabolism. We are currently analyzing phospholipid signaling pathways related to gene expression, which is expected to open an avenue towards innovating technologies to regulate mitophagy.

[2] We developed a new probe to quantitatively analyze mitophagy in yeast. A gene cassette encoding this mitochondrial matrix-localized probe was integrated into the chromosome, which allowed cells to express it at the same level. During mitophagy, mitochondria are degraded but this probe stays intact and accumulates in the vacuole (lytic compartment). Thus, we can monitor mitophagy by western blotting to quantify the amount of probe. Finally, we constructed an expression system to properly control the levels of the mitophagy probe, which was important to avoid side effects of the overexpression on mitochondrial respiration and morphology.