

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		オートファゴソーム膜形成の鍵を握る6回膜貫通型蛋白質 Atg9 の構造解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Structural analysis of Atg9, the six-transmembrane protein essential for autophagosome formation			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓)ノダ	名)ノブオ	研究期間 B	2011 ~ 2012年
	漢字 CB	野田	展生	報告年度 YR	2013年
	ローマ字 CZ	Noda	Nobuo	研究機関名	微生物化学研究会
研究代表者 CD 所属機関・職名		公益財団法人微生物化学研究会微生物化学研究所主席研究員			
<p>概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)</p> <p>オートファジーは細胞内の主要な分解系であり、細胞の恒常性維持のために極めて重要な役割を担っている。オートファジーにおける最大のイベントかつ謎はオートファゴソームと呼ばれるオルガネラの新生であり、それは18種類の主要 Atg 蛋白質が担っている。Atg9 はこれら主要 Atg 蛋白質中唯一の膜貫通型蛋白質であり、その構造と機能を明らかにすることがオートファゴソーム形成機構の解明のためには必須である。Atg9 は Atg23 および Atg27 と複合体を形成して機能すると考えられている。さらに Atg6、Atg14 を含むオートファジーに必須な PI3 キナーゼ複合体をリクルートする役割を担う。本研究では、まず GFP と融合した Atg9 を出芽酵母を用いて大量発現する系を確立した。次に Atg9 を可溶化するため、各種界面活性剤の検討を行った。その際ゲルろ過クロマトグラフィーと GFP の蛍光を活用し、適切な分子量に単一成分として Atg9 が溶出するような界面活性剤の探索を行ない、最適な可溶化条件を決定した。さらにクロマトグラフィーを複数種組み合わせることで、Atg9 の精製系を確立した。得られた精製サンプルを用いて結晶化のスクリーニングを進めたが、これまでに結晶は得られていない。一方、Atg23、Atg27、Atg6 は大腸菌を用いて大量発現し、高純度に精製する系を確立した。結晶化条件のスクリーニングの結果、どれも結晶を得ることに成功した。Atg27 結晶については分解能 3Å 程度の回折データ収集に成功し、現在位相決定の実験を行っている。一方 Atg23 結晶については得られた回折データの分解能が良くなかったため、より高分解能のデータが得られるように結晶化条件の最適化を行っている。また Atg6 について、その C 末端ドメイン (BARA と命名) の結晶構造の決定に成功した。細胞生物学的解析により、Atg6BARA は PI3 キナーゼ複合体がオートファゴソーム形成の場に局在するために必須のドメインであることを明らかにした。現在 Atg6BARA と Atg9 の間の相互作用解析を行なっている。</p>					
キーワード FA	オートファジー	Atg9			

(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 <sup>GB</sup>	Structure of the novel C-terminal domain of vacuolar protein sorting 30/autophagy-related protein 6 and its specific role in autophagy.							
	著者名 <sup>GA</sup>	Noda, N. N., Kobayashi, T., Adachi, W., Fujioka, Y., Ohsumi, Y. and Inagaki, F	雑誌名 <sup>GC</sup>	The journal of biological chemistry					
	ページ <sup>GF</sup>	16256~16266	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	2	巻号 <sup>GD</sup>	287
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要 EZ

Autophagy is an intracellular degradation system that exerts an important role for cell homeostasis. The most important but not unsolved event in autophagy is autophagosome formation, for which 18 main Atg proteins play essential roles. Among them, Atg9 is the sole transmembrane protein and its structure and function should be established in order to reveal the molecular mechanism of autophagosome formation. We over-expressed Atg9 in yeast and purified it, and performed its crystallization screening. We also performed crystallographic studies on other Atg proteins that work with Atg9 in autophagy, and succeeded in obtaining their crystals. Among them, we determined the crystal structure of the C-terminal domain of Atg6, and revealed that the domain is essential for targeting the autophagy-specific PI3-kinase complex to the site of autophagosome formation.