

試験管内でオートファジーの初期過程を再現することに成功

～オートファジー促進剤の開発に期待～

ポイント

- ・オートファゴソームの新生過程の一部を試験管内で再現。
- ・たんぱく質液滴が酵素反応を促進し、オートファゴソームの種となる膜小胞を集める仕組みを解明。
- ・本研究で解明されたオートファジーの始まるメカニズムは、高い特異性を持ったオートファジー促進剤創出の基盤的知見となることに期待。

概要

北海道大学遺伝子病制御研究所の藤岡優子准教授及び野田展生教授、東京科学大学総合研究院細胞制御工学研究センターの中戸川仁教授らの研究グループは、オートファジーの中核であるオートファゴソーム^{*1}新生の初期過程を試験管内で再構成することに成功し、液-液相分離によりオートファジーが始まるメカニズムの詳細を明らかにすることに成功しました。

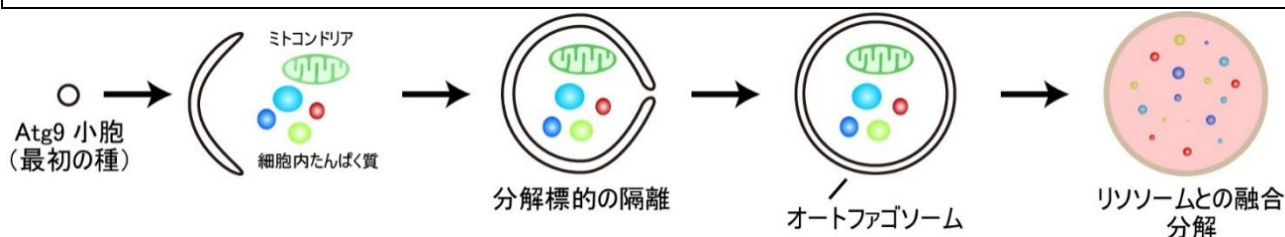
オートファジーとは、有害凝集体や損傷ミトコンドリアなどの分解を行う現象であり、細胞の恒常性を維持する役割を持ちます。オートファジーは栄養飢餓などで活性化されますが（＝オートファジー誘導）、この異常に伴って神経変性疾患やがんが引き起こされます。

オートファジーが誘導されると、Atg たんぱく質^{*2}が液-液相分離^{*3}により PAS^{*4} という液滴^{*5}を作ります。この PAS 液滴が作られることで、オートファゴソームの新生が進むと考えられていますが、その機能は未解明でした。

本研究では主要 Atg たんぱく質を高純度精製して PAS 液滴を試験管で再構成し、各因子の液滴濃縮度を定量比較した結果、Atg8^{*6} の脂質化を担う E3 酵素である Atg12-Atg5-Atg16 複合体^{*7} が最も濃縮されることが分かりました。そして PAS 液滴において Atg8 の脂質化が高効率で進行すること、それにともない膜小胞が PAS 液滴内部へ取り込まれることが分かりました。

以上の結果から、PAS 液滴が Atg8 の脂質化を行う場所として働き、オートファゴソームの最初の膜の種である Atg9 小胞^{*8} を集めることで、オートファゴソーム新生を開始するという一連のメカニズムが明らかになりました。本研究の成果は、オートファゴソーム新生の全過程のメカニズム解明と、高い特異性を持ったオートファジー促進剤・阻害剤創出の基盤になることが期待されます。

なお、本研究成果は、2025 年 9 月 16 日（火）公開の Nature Structural & Molecular Biology 誌に掲載されました。



オートファゴソーム新生の模式図。

Atg9 小胞と呼ばれる膜小胞を最初の種として、分解標的を取り囲みながら膜が拡大し、閉じてオートファゴソームとなる。オートファゴソームはリソソームと融合し、内容物（たんぱく質やミト^{1/4}コンドリアなど）はリソソーム酵素の働きで分解される。

【背景】

オートファジーは細胞内の主要な分解経路であり、有害なたんぱく質凝集体や傷ついたミトコンドリアなどの分解を通して、細胞の恒常性維持に働いています。そしてオートファジーの異常は神経変性疾患やがんなど、重篤な疾病を引き起こすことが知られています。したがって、オートファジーは、生体にとって極めて基本的かつ重要な現象であり、その仕組みを知ることは疾病の治療や予防法の開発のために欠かせません。

オートファジーでは、オートファゴソームと呼ばれる脂質膜の袋を新たに作り出し、分解対象を包み込んでリソソームへと運び、分解します (p1 図)。オートファゴソームの新生は、オートファジーにおける最も特徴的かつ基本的な過程であり、多くの Atg たんぱく質が担っています (関連するプレスリリース参照)。栄養飢餓でオートファジーが誘導されると、Atg たんぱく質が液-液相分離と呼ばれる物理現象により集まって、PAS と呼ばれる液体状の集合体 (液滴) を形成します。そしてこの PAS 液滴からオートファゴソームの新生が進むと考えられてきましたが、その際 PAS 液滴が具体的にどのような役割を担うのかは分かっていませんでした。

【研究手法】

すべての主要 Atg たんぱく質を高純度に精製し、それぞれ蛍光色素で標識しました。そしてこれらの精製たんぱく質を用いて PAS 液滴を試験管内で再構成し、蛍光顕微鏡を用いて各 Atg たんぱく質の PAS 液滴への濃縮度合いを調べました。

またオートファゴソームの種として働くと考えられている Atg9 小胞を模倣した膜小胞を、様々な脂質分子を混ぜ合わせることで作成し、この再構成系に導入しました。そして PAS 液滴における膜小胞への修飾反応を生化学的手法で調べるとともに、膜小胞と PAS 液滴の相互作用を蛍光顕微鏡やレプリカ電子顕微鏡を用いて調べました。

【研究成果】

試験管内で再構成した PAS 液滴に対する各 Atg たんぱく質の濃縮度を定量して比較した結果、Atg12-Atg5-Atg16 複合体が最も効率的に濃縮されることが分かりました。この複合体は Atg8 というたんぱく質と、膜を構成するリン脂質の一つであるホスファチジルエタノールアミンとの間で共有結合を形成させる E3 酵素として知られており、この Atg8 の脂質化反応はオートファジーの進行にとっても重要です。

そこで Atg8 の脂質化反応に必要なあと 2 種類の酵素 (E1 と E2) 及び ATP、さらに Atg9 小胞を模倣した膜小胞 (成分としてホスファチジルエタノールアミンを含む) を、E3 が濃縮した PAS 液滴に混合したところ、Atg8 の脂質化反応が PAS 液滴において効率的に進行しました (図 1 中央)。さらにその際の PAS 液滴と膜小胞の位置関係を調べたところ、PAS 液滴の表面に来た膜小胞が、Atg8 の脂質化が進むにつれて PAS 液滴の内部へと移行しました (図 1 右)。

これらの成果から、PAS 液滴が Atg8 の脂質化を行う場所として働き、オートファゴソームの最初の膜の種である Atg9 小胞を集めることで、オートファゴソーム新生を開始するという一連のメカニズムが明らかとなりました。

【今後への期待】

本研究は、オートファゴソーム新生の初期過程を試験管内で再構成することに初めて成功しました。オートファゴソーム新生の全過程の分子機構の理解につながることが期待できます。また本研究で明らかになったオートファジー新生の開始メカニズムは、高い特異性を持ったオートファジー促進剤や阻害剤の開発基盤になることが期待されます。

【謝辞】

本研究は、JSPS 科研費 JP21H05731、JP23H02429、JP23H04923、JP23K27122、JP22K06818、JP22H04654、JP22K06123、JP25K09544、JP22H00446、JP22K19282、JP19H05708、JP25H01322、JP23K20044、JP19H05707、JP24H00060、JP25H00966、JP25H01320、JP25H01321、AMED PRIME JP20gm6410009、JST 戦略的創造研究推進事業 CREST JPMJCR20E3、長瀬科学技術振興財団、武田科学振興財団の助成を受けたものです。

【関連するプレスリリース】

公表日 2023 年 12 月 7 日

オートファゴソームを柔軟な網で覆うように形作る仕組み～オートファジーを特異的に制御する薬剤開発に道～（遺伝子病制御研究所 教授 野田展生）

U R L https://www.hokudai.ac.jp/news/pdf/231207_pr.pdf

論文情報

論文名	Phase separation promotes Atg8 lipidation and vesicle condensation for autophagy progression（相分離は、オートファジーの進行に向けて Atg8 の脂質化と小胞の凝縮を促進する）
著者名	Yuko Fujioka ¹ 、Takuma Tsuji ¹ 、Tetsuya Kotani ² 、Hiroyuki Kumeta ³ 、Chika Kakuta ² 、Junko Shimasaki ² 、Toyoshi Fujimoto ⁴ 、Hitoshi Nakatogawa ² 、Nobuo N. Noda ^{1,5} （ ¹ 北海道大学遺伝子病制御研究所、 ² 東京科学大学総合研究院、 ³ 北海道大学大学院先端生命科学研究院、 ⁴ 順天堂大学大学院医学研究科、 ⁵ 公益財団法人微生物化学研究会微生物化学研究所）
雑誌名	Nature Structural & Molecular Biology（構造生物学、分子生物学の専門誌）
D O I	10.1038/s41594-025-01678-3
公表日	2025 年 9 月 16 日（火）（オンライン公開）

お問い合わせ先

【研究に関すること】

北海道大学遺伝子病制御研究所 教授 野田展生（のだのぶお）

T E L 011-706-5069 F A X 011-706-7826 メール nn@igm.hokudai.ac.jp

北海道大学遺伝子病制御研究所 准教授 藤岡優子（ふじおかゆうこ）

T E L 011-706-7826 F A X 011-706-7826 メール fujioka@igm.hokudai.ac.jp

U R L <https://mechanism.igm.hokudai.ac.jp/>

【JST 事業に関すること】

科学技術振興機構戦略研究推進部ライフイノベーショングループ 沖代美保（おきしろみほ）

T E L 03-3512-3524 F A X 03-3222-2064 メール crest@jst.go.jp

配信元

北海道大学社会共創部広報課（〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目）

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

東京科学大学総務企画部広報課（〒152-8550 東京都目黒区大岡山 2-12-1）

T E L 03-5734-2975 F A X 03-5734-3661 メール media@adm.isct.ac.jp

科学技術振興機構広報課（〒102-8666 東京都千代田区四番町 5 番地 3）

T E L 03-5214-8404 F A X 03-5214-8432 メール jstkoho@jst.go.jp

【参考図】

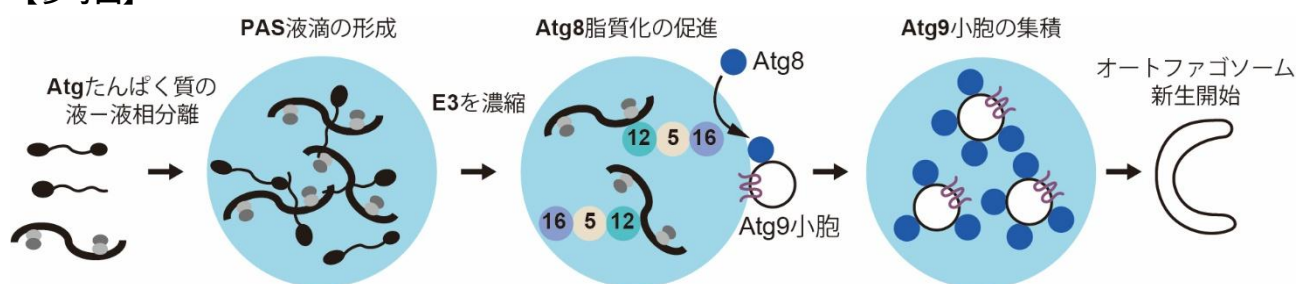


図 1. PAS 液滴によるオートファゴソーム新生の開始モデル。Atg たんぱく質の液-液相分離で形成された PAS 液滴は、E3 酵素を濃縮することで Atg8 の脂質化反応を促進する場として働く。脂質化 Atg8 で覆われた Atg9 小胞は PAS 液滴内に取りこまれ、オートファゴソーム新生のための最初の膜の種として使われる。

【用語解説】

- * 1 オートファゴソーム … オートファジーが誘導されると、細胞質に新たに作り出される二重膜のオルガネラのことであり、オートファジーにおける最も特徴的かつ基本的な構造体である。オートファゴソームで囲まれたものはリソソームへと運ばれて分解される。
- * 2 Atg たんぱく質 … 酵母で同定されたオートファジーに関与するたんぱく質群の名称で、これまでに 40 種類以上報告されている。
- * 3 液-液相分離 … 均一な溶液が複数の液相に分離する現象であり、日常生活でも水と油の分離としてよく観察される。細胞内ではたんぱく質や核酸が液-液相分離することが知られている。
- * 4 PAS … プレオートファゴソーム構造体の略。酵母において、栄養飢餓になると液胞近傍の 1 ヲ所に Atg たんぱく質が集まるが、この集まった構造を指す。
- * 5 液滴 … たんぱく質や核酸が液-液相分離することで形成した液体状の会合体。液滴は膜のないオルガネラとも呼ばれ、細胞内で様々な機能を担っている。
- * 6 Atg8 … ユビキチンと類似したたんぱく質で、E1、E2、E3 酵素の働きで脂質修飾されることでオートファジーに働く。
- * 7 Atg12-Atg5-Atg16 複合体 … Atg8 の脂質修飾を担う E3 酵素のこと。この複合体自体が E1、E2 酵素の働きで Atg12 と Atg5 が共有結合することで形成される。
- * 8 Atg9 小胞 … ゴルジ体で形成される、膜たんぱく質 Atg9 を含んだ膜小胞のこと。オートファゴソーム新生の最初の膜の種として働くと考えられている。