

【目的】 オートファジーはタンパク質などの細胞質成分や細胞小器官を分解する機構であり、酵母からヒトに至るまで真核生物に広く保存されている。栄養飢餓などによりオートファジーが誘導されると、細胞質に「隔離膜」と呼ばれる扁平な小胞が現れる。隔離膜は細胞質の一部を取り込みながら球状へと伸張し、閉じることで、二重の膜構造を持ったオートファゴソームが形成される。完成したオートファゴソームは酵母の場合、液胞と融合し、液胞の内部にある分解酵素によってオートファゴソームの内容物が分解される。出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を用いた研究により、オートファジーに関わる *ATG* 遺伝子/*Atg* タンパク質が同定され、オートファジーの分子機構の理解が飛躍的に進んだ。しかし、オートファゴソームの形成機構や分解基質の選択性決定機構にはまだ多くの謎が残されている。*Atg20 - Atg24* 複合体はミトコンドリアやペルオキシソーム、リボソーム、プロテアソーム、脂肪酸合成酵素のオートファジーによる分解に必要であることが報告されているが、*Atg20 - Atg24* 複合体の具体的な機能は明らかとなっていない。本研究では *Atg20 - Atg24* 複合体が隔離膜の開口端の曲率を認識して局在化し、開口端の大きさを維持あるいは拡張して、オートファゴソームへの巨大分子の取り込みを可能にしているという仮説を検証し、隔離膜の開口端の大きさ制御による基質選択という新たなメカニズムを提唱することを目的とした。

【方法】 大きさの異なるモデル基質を用い、それらのオートファジーによる分解の効率を野生型細胞と *ATG24* 欠失細胞とで比較し、基質の大きさが分解効率に与える影響を解析した。また、野生型細胞と *ATG24* 欠失細胞においてオートファゴソームに取り込まれる細胞質成分を質量分析で同定し、量の比較を行い、*Atg20 - Atg24* 複合体依存的にオートファゴソームに取り込まれる因子の特徴を解析した。さらに *Atg20 - Atg24* 複合体の欠失または過剰発現がオートファゴソーム形成に与える影響について解析した。

【結果】 本研究でのモデル基質を用いた解析やオートファゴソームに取り込まれる基質の網羅解析から、大きい分子ほど *Atg20 - Atg24* 複合体に強く依存してオートファゴソームに取り込まれることが示唆された。電子顕微鏡解析により *ATG24* 欠失細胞では隔離膜の開口部が狭くなることが明らかとなった。また、*Atg20 - Atg24* 複合体を過剰発現させると、オートファジーに欠損が生じた。隔離膜の開口端から *Atg20 - Atg24* 複合体が解離しにくくなり、開口部が閉じにくくなったことを示唆する結果を得た。

オートファゴソーム形成における *Atg20 - Atg24* 複合体の役割に関するモデル図

