



Title	Studies on the molecular mechanisms regulating initiation of selective mitochondrial degradation in budding yeast
Author(s)	Liu, Yang
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/88171
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

Abstract of Thesis

Name (LIU YANG)	
Title	Studies on the molecular mechanisms regulating initiation of selective mitochondrial degradation in budding yeast (出芽酵母における選択的ミトコンドリア分解の開始を制御する分子機構の研究)
Abstract of Thesis Mitophagy is an evolutionarily conserved process that selectively degrades mitochondria via autophagy, contributing to the mitochondrial quality and quantity control critical for cell homeostasis. In the budding yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i>, Atg32, a mitochondrial surface-anchored protein, is induced and phosphorylated to promote mitophagy under respiratory conditions. Atg32 forms the mitophagy initiation complex with Atg8, a ubiquitin-like modifier localized to the autophagosome, and Atg11, a selective autophagy-specific scaffold protein acting in the assembly of core Atg proteins required for autophagosome formation. Currently, molecular mechanisms underlying mitophagy initiation remain obscure. In this study, I obtained the data suggesting that the TORC1 (target of rapamycin complex 1) signaling pathway regulates mitophagy in budding yeast through SEACIT (Seh1-associated complex inhibiting TORC1). During prolonged respiratory growth, cells lacking SEACIT exhibited strong defects in mitophagy. Under the same conditions, other autophagy-related events were only slightly affected. I also found that the inactivation of TORC1 by pharmacological and genetic approaches almost completely restored respiration-induced mitophagy in cells lacking SEACIT. Importantly, the interaction between Atg32 and Atg11 was strongly impaired in the absence of SEACIT, while Atg32 phosphorylation was hardly affected. These results support the idea that SEACIT promotes Atg32-Atg11 interactions and mitophagy through inactivating TORC1 during prolonged respiration. In addition, using NanoLuc Binary Technology (NanoBiT), I developed a novel assay to quantitatively analyze Atg32-Atg11 interactions in live cells. A systematic approach for Atg32-Atg11 interactions in 18 core Atg mutants revealed that Atg1, a protein kinase interacting with Atg8 and Atg11, is the sole core Atg protein critical for efficient mitophagy initiation. I also found that Atg1 acts in Atg32 phosphorylation. Expression of an Atg1 variant defective in Atg1-Atg8 and Atg1-Atg11 interactions reduced Atg32 phosphorylation and mitophagy, suggesting that Atg8 and Atg11 serve to recruit Atg1 to the mitophagy initiation complex. Notably, these defects were restored by deletion of Ppg1, a protein phosphatase that negatively regulates Atg32-mediated mitophagy. Furthermore, based on AlphaFold2 protein structural predictions and mutational analyses, I identified a conserved motif of Atg32(202-210) essential for Atg32-Atg11 interactions and efficient mitophagy. Collectively, these findings imply that mitophagy initiation in budding yeast is regulated through kinases acting upstream and downstream of Atg32-Atg11 interactions.	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (LIU YANG)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	平岡 泰
	副 査	教授	野田 健司
	副 査	教授	深川 竜郎
	副 査	准教授	岡本 浩二

論文審査の結果の要旨

申請者 Liu Yang は、ミトコンドリアでおきる選択的オートファジーのひとつであるマイトファジーの初期反応について研究を行ってきた。マイトファジーの誘導には、Atg32、Atg8、Atg11などの因子が必須であることがわかっていたが、その詳細なメカニズムは不明であった。申請者は、このメカニズムの解明に取り組み、TORC1の抑制因子SEACITを欠損する変異体においてマイトファジーが阻害され、TORC1の不活性化によってSEACIT欠損変異体のマイトファジーが回復することを見出した。また、SEACIT欠損変異体ではAtg32とAtg11の相互作用が減弱することを見出した。これらの発見を手がかりに、Atg32とAtg11の相互作用を減弱させる因子を遺伝学的および生化学的に探索することにより、マイトファジー誘導のメカニズムを解明できるという着想を得た。この目的のために、生細胞でAtg32とAtg11の相互作用を簡便に定量できるNanoBitアッセイ系を確立した。このアッセイ系を用いて、Atg32-Atg11相互作用に重要な因子として、キナーゼであるAtg1を同定した。さらに、Atg32-Atg11相互作用に障害を起こすAtg32の変異体を取得した。この変異体においては、Atg32のリン酸化の減弱およびオートファジーの阻害が見られたが、フォスファターゼであるPpg1を欠損させると、Atg32のリン酸化とオートファジーが回復した。これらのことから、Atg32のリン酸を介したAtg32-Atg11相互作用がマイトファジーの誘導に重要な役割を持つという結論に至った。これらの発見は、マイトファジーの誘導メカニズムの理解に独自の貢献をするものである。

よって、博士の学位を授与するに値すると認める。