

**研究助成 2021 – 感染症領域 –**  
**研究成果報告書（最終） <概要>**

<b>所 属</b>	大阪大学大学院生命機能研究科細胞内膜動態研究室
<b>氏 名</b>	田端 桂介
<b>研究テーマ</b>	ウイルス感染細胞内複製オルガネラ形成における共通分子機構の解明

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 概要の構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果などを、1 ページにまとめること。  
 (図表、写真などの貼付を含む)

本研究では、複数の RNA ウィルスに共通性するウィルス増殖機構を見つけ、制御基盤の創出を目的とし、ほぼ応募時の計画通り遂行した。新型コロナウイルスは宿主細胞に感染すると、細胞内に複製オルガネラとして二重膜小胞 (double membrane vesicle: **DMV**) を形成する。これは形態学的に、C 型肝炎ウィルス感染細胞で見られる DMV や、細胞内分解系であるオートファジーにおけるオートファゴソームと呼ばれる DMV と類似している。

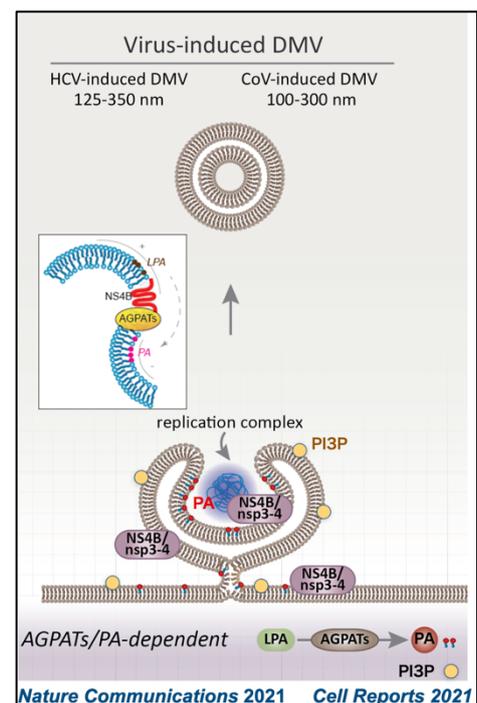
研究戦略として、まず C 型肝炎ウィルスをモデルウィルスとして用いて、DMV 形成に必須なタンパク質を同定する。その後、新型コロナウイルス・オートファジー誘導性の DMV 形成における重要性を検討することにより、様々な DMV 形成イベントにおける共通分子機構を明らかにすることを目指した。

実際、単離した DMV 画分から同定した acylglycerolphosphate acyltransferase (AGPAT)1 および 2 と呼ばれるアシル化酵素を遺伝子発現抑制すると、C 型肝炎ウィルス誘導性の DMV 形成が阻害された。さらに遺伝子発現抑制細胞では、新型コロナウイルス誘導性 DMV 形成も阻害されることから、AGPAT はウィルス誘導性 DMV 形成に共通して重要であることが明らかになった (**Nature Communications 2021**)。

AGPAT は、リゾホスファチジン酸 (LPA) と呼ばれる脂質からホスファチジン酸 (PA) を産生する酵素である。ウィルス誘導性 DMV 形成時の PA の細胞内局在を調べたところ、DMV 形成部位に PA プローブが蓄積することが明らかになった。次に AGPAT による PA 産生が重要なのか、それとも PA 産生自体が重要なのかを調べるために、細胞内にある 3 つのホスファチジン酸 (PA) 産生経路をそれぞれ特異的に阻害する薬剤で細胞を処理し、ウィルス誘導性 DMV 形成を調べたところ、局所的な PA 産生自体が DMV 形成に重要であることが明らかになった。さらに別の二重膜小胞形成イベントとして、オートファジー誘導性の DMV (オートファゴソームと呼ばれる小胞) 形成における AGPAT の重要性を検討した結果、PA 産生がオートファジーにおいても重要であることが明らかになった。

さらに、DMV 形成に共通した分子機構に焦点をあて、phosphatidylinositol 3-phosphate (PI3P)産生が、C 型肝炎ウィルスおよび新型コロナウイルス誘導性 DMV 形成とオートファゴソーム形成に重要であることを明らかにした。興味深いことに、今までオートファジーにおける機能が不明であった、PI3P 結合タンパク質の DFCP1 がウィルス誘導性 DMV 形成に重要であることが分かった (**Cell Reports 2021**)。

以上の一連の研究から、ウィルス感染によって誘導される DMV、もしくはオートファジーにおけるオートファゴソーム形成に共通した分子機構が存在することが明らかになった。ウィルスオルガネラとして DMV を形成するウィルス感染では、細胞が本来持っている DMV 形成機構を巧みに利用していると考えられる。



## 研究助成 2021 – 感染症領域 –

## 研究成果報告書（最終）＜発表実績/予定一覧＞

所	属	大阪大学大学院生命機能研究科細胞内膜動態研究室
氏	名	田端 桂介

## 1. 論文発表実績

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。
- 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入する。  
なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。
- 国内外雑誌を問わない。
- 印刷中は in press と記入、投稿中の論文はその旨を記載すること。なお学会のアブストラクトは含めない。
- 欄が足りない場合は、増やして記入すること。

1	<u>Tabata K.</u> , Imai K., Yamamoto K., Fujita T., Kaminishi T., Tischer C., Neumann B., Reither S., Verissimo F., Pepperkok R., Yoshimori T. and Hamasaki M. Palmitoylation of ULK1 by ZDHHC13 recruits the ULK1 complex to autophagosome formation site and promotes autophagy. <i>Nature Commun.</i> 投稿中
2	Izumida K., Hara Y., Furukawa Y., Ishida K., <u>Tabata K.</u> and Morita E. Purification of Hepatitis C Virus Core Protein in Non-Denaturing Condition. <i>Journal of Virological Methods</i> 323, 114852. 2024 査読有り
3	Ogura M., Kaminishi T., Shima T., Torigata M., Bekku N., <u>Tabata K.</u> , Minami S., Nishino K., Nezu A., Hamasaki M., Kosako H., Yoshimori T. and Nakamura S. Microautophagy regulated by STK38 and GABARAPs is essential to repair lysosomes and prevent aging. <i>EMBO Rep.</i> 24, e57300. 2023 査読有り
4	Tsai CY, Sakakibara S, Kuan YD, Omori H, El Hussien MA, Okuzaki D, Lu SL, Noda T, <u>Tabata K.</u> , Nakamura S, Yoshimori T, Kikutani H. Opposing roles of RUBCN isoforms in autophagy and memory B cell generation. <i>Sci Signal.</i> 16, 803, 2023 査読有り
5	<u>田端桂介</u> 細胞の中から健康に保つ：オートファジーの分子機構と生理的な役割、月刊「細胞」、55 (4), 51-55, 2023 査読なし
6	<u>Tabata, K.*</u> , Saeki, M.*, Yoshimori, T. and Hamasaki, M. Monitoring and assessment of lysosomal membrane damage in cultured cells using the high-content imager. <i>STAR Protocol</i> 4, 102236. 2022 *These authors contributed equally. 査読有り
7	<u>Tabata, K.</u> , Saeki, M., Yoshimori, T. and Hamasaki, M. How cells recognize and remove the perforated lysosome. <i>Autophagy</i> 19, 1869-1871. 2022 査読有り
8	Teranishi, H.*, <u>Tabata, K.*</u> , Saeki, M., Umemoto, T., Hatta, T., Otomo, T., Yamamoto, K., Natsume, T., Yoshimori, T. and Hamasaki, M. Identification of CUL4A- DDB1-WDFY1 as the E3 ubiquitin ligase complex to initiate lysophagy. <i>Cell Rep.</i> 40, 111349. 2022 *These authors contributed equally. 査読有り
9	Arakawa, M., <u>Tabata, K.</u> , Ishida, K., Kobayashi, K., Arimoto, A., Arai, A., Ishikawa, T., Suzuki, R., Takeuchi, H., Tripathi, LP., Mizuguchi, K. and Morita, E. Flavivirus recruits NPL4-VCP complex to induce stress granule disassembly for efficient viral genome replication. <i>J. Biol. Chem.</i> 298, 101597. 2022 査読有り

10	Yoshida, G., Kawabata, T., Takamatsu, H., Saita, S., Nakamura, S., Nishikawa, K., Fujiwara, M., Enokidani, Y., Yamamuro, T., <b>Tabata, K.</b> , Hamasaki, M., Ishii, M., Kumanogoh, A., and Yoshimori T. (2022) Degradation of the Notch intracellular domain by elevated autophagy in osteoblasts promotes osteoblast differentiation and alleviates osteoporosis. <i>Autophagy</i> 18, 2323-2332. 2022 査読有り
11	<b>Tabata, K.</b> , Prasad, V., Paul, D., Lee, JY., Pham, MT., Twu, WI., Neufeldt, CJ., Cortese, M., Cerikan, B., Stahl, Y., Joecks, S., Tran, CS., Lüchtenborg, C., V'kovski, P., Hörmann, K., Müller, AC., Zitzmann, C., Haselmann, U., Beneke, J., Kaderali, L., Erfle, H., Thiel, V., Lohmann, V., Superti-Furga, G., Brügger, B., and Bartenschlager R. Convergent use of phosphatidic acid for Hepatitis C virus and SARS-CoV-2 replication organelle formation. <i>Nature Commun.</i> 12, 7276. 2021 査読有り
12	Twu, WI., Lee, JY., Kim, H., Prasad, V., Cerikan, B., Haselmann, U., <b>Tabata, K.</b> and Bartenschlager, R. Contribution of autophagy machinery factors to HCV and SARS-CoV-2 replication organelle formation. <i>Cell Rep.</i> 37, 110049. 2021 査読有り
13	<b>Tabata, K.</b> *, Arakawa, M. *, Ishida, K. *, Kobayashi, K., Nara, A., Sugimoto, T., Okada, T., Mori, K., and Morita, E. (2021) Endoplasmic reticulum-associated degradation controls virus protein homeostasis that is required for the flavivirus propagation. <i>J. Virol.</i> 95, e0223420. 2021 *These authors contributed equally. 査読有り

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> <li>● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。</li> <li>● 発表学会名、発表者名、演題を記入する。</li> <li>● 国内外を問わない。</li> <li>● 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2022年11月	<b>第69回日本ウイルス学会学術集会</b> 荒川将志、石田幸太郎、 <b>田端桂介</b> 、西野美都子、甲賀大輔、加藤薫、森田英嗣 「宿主小胞体関連分解システムによるフラビウイルス非構造蛋白質の選択的分解の意義」
2	2022年10月	<b>The 10<sup>th</sup> International Symposium on Autophagy</b> <b>Tabata K.</b> , Imai K., Yamamoto K., Fujita T., Kaminishi T., Tischer C., Neumann B., Reither S., Pepperkok R., Verissimo F., Yoshimori T. and Hamasaki M. Palmitoylation of ULK1 by ZDHHC13 is required for the initiation of autophagy.
3	2022年10月	<b>The 10<sup>th</sup> International Symposium on Autophagy</b> Tsai CY, Sakakibara S, Kuan YD, Omori H, El Hussien MA, Okuzaki D, Lu SL, Noda T, <b>Tabata K.</b> , Nakamura S, Yoshimori T, Kikutani H. Counteracting roles of RUBCN isoforms in autophagy and memory B-cell generation.
4	2022年9月	<b>Cold Spring Harbor Laboratory Meeting, Mechanisms of Aging, 2022</b> <b>Tabata K.</b> , Yoshimori T., and Hamasaki M. ULK1 palmitoylation by ZDHHC13 is required for autophagy
5	2022年9月	<b>Cold Spring Harbor Laboratory Meeting, Mechanisms of Aging, 2022</b> Saeki M., <b>Tabata K.</b> , Natsume T., Hamasaki M., Yoshimori T. Ninjurin1 is involved in lysosomal damage response
6	2022年9月	<b>Cold Spring Harbor Laboratory Meeting, Mechanisms of Aging, 2022</b> Yanagawa K., Kuma A., Hamasaki M., <b>Tabata K.</b> , Kaminishi T., Nakamura S., Yoshimori T. A novel role of Atg proteins in proteostasis
7	2022年6月	<b>第74回日本細胞生物学会大会</b> <b>田端桂介</b> 、吉森保 「ZDHHC13はULK1をパルミトイル化することによりオートファジーを制御する」
8	2022年6月	<b>第74回日本細胞生物学会大会</b> 佐伯麻里花、 <b>田端桂介</b> 、夏目徹、濱崎万穂、吉森保 「Ninjurin1は損傷リソソームに対するオートファジーを制御している」
9	2022年6月	<b>第74回日本細胞生物学会大会</b> Duan F., <b>Tabata K.</b> , Kawagoe R., Kaminishi T., Nakamura S., Hamasaki M., Yoshimori T. Rubicon may regulate autophagy through Calcium <sup>2+</sup> with myoferlin
10	2022年6月	<b>第74回日本細胞生物学会大会</b> 山本 健太郎、上西 達也、根津 亜季子、 <b>田端 桂介</b> 、近藤 恭光、長田 裕之、濱崎 万穂、吉森 保 「ATG16L1との相互作用を介してLC3脂質化に影響を及ぼす新規化合物の解析」

11	2021年12月	<b>第44回日本分子生物学会</b> <b>田端桂介</b> 、Ralf Bartenschlager 「ホスファチジン酸はC型肝炎ウイルスおよび新型コロナウイルス感染により誘導される複製オルガネラ形成に重要である」
12	2021年12月	<b>第44回日本分子生物学会</b> 佐伯麻里花、 <b>田端桂介</b> 、夏目徹、濱崎万穂、吉森保 「リソソーム膜損傷応答に関わる制御因子の新規探索と機能解析」
<b>3. 投稿、発表予定</b>		
	<b>投稿/発表時期</b>	<b>雑誌名、学会名等</b>
1		
2		
3		