

主 論 文 要 旨

報告番号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	丸 山 洋 子
主 論 文 題 名				
LC3B is indispensable for selective autophagy of p62 but not basal autophagy (LC3Bはp62の選択的オートファジーには必須であるが、恒常的オートファジーには必須でない)				
(内容の要旨)				
<p>真核生物における細胞内タンパク分解機構であるオートファジーは、二重膜構造体であるオートファゴソームが形成され、その外膜がリソソームと融合し内包物が分解される過程である。飢餓時にオートファジーが顕著に活性化され、大規模かつ非選択的なタンパク分解が起こることは広く知られている。一方、飢餓状態でなくとも、限局的にオートファジーが機能し、特定のタンパクや損傷したオルガネラ、侵入細菌が排除されること、すなわち、基質選択的なオートファジー（選択的オートファジー）の存在が明らかになってきた。さらに、オートファジー欠損マウスの解析から、選択的オートファジーの破綻が神経変性疾患や癌などの発症に関与することも判明しつつある。哺乳類において、オートファジーの基質と相互作用するタンパクはmicrotubule-associated protein 1 light chain 3/MAP1LC3（以下LC3）と GABA receptor-associated protein（以下GABARAP）の2つのファミリーに大別され、それぞれ異なる機能を有すると推測されている。</p> <p>本研究は、選択的オートファジーにおけるLC3とGABARAPの機能の相違を明らかにすることを目的とした。まず、HEK293細胞において主に発現しているLC3ファミリーがLC3Bであることを確認し、次いでLC3BとGABARAPファミリーの各々、もしくは両者を同時にノックダウンした細胞を作製した。LC3BとGABARAPの両方をノックダウンした場合には長寿命タンパク分解が障害されるが、いずれか一方のみをノックダウンした場合には長寿命タンパクは分解され、恒常的オートファジーの活性は正常に保たれることが示された。一方、選択的オートファジーの基質であるSequestosome 1/p62（以下p62）の分解は、LC3B単独ノックダウンにより著しく遅延した。LC3Bとp62、GABARAPとp62の複合体のそれぞれの立体構造モデルから、LC3BのN末端に特異的な塩基性アミノ酸とp62に存在する酸性アミノ酸領域が、LC3Bとp62の相互作用において重要であることが示唆された。さらに、等温滴定カロリーメトリー、免疫沈降、免疫染色による相互作用解析を行い、GABARAPに比しLC3Bはp62と強い親和性を持つことを確認した。以上の結果から、LC3BとGABARAPは、オートファゴソーム形成過程では共通の機能を有する一方、p62を標的とした選択的オートファジーでは異なる働きをしていることが示された。本研究は、p62に選択的なオートファジーにおいてLC3Bが必須であることを明らかにした初めての報告である。</p>				