

Crosstalk Between Autophagy and the Ubiquitin-Proteasome System in the Silkworm, *Bombyx mori*

季, 明明

<https://hdl.handle.net/2324/1807118>

出版情報：九州大学, 2016, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）



氏 名：季 明明

論文題名：Crosstalk Between Autophagy and the Ubiquitin-Proteasome System in the Silkworm,
Bombyx mori
(カイコにおけるオートファジーとユビキチン-プロテアソームシステムのクロストーク)

区 分：甲

論 文 内 容 の 要 旨

オートファジーとユビキチン-プロテアソームは、細胞に必須の恒常性維持機構として、種を超えて保存されている。両システムは、細胞内のタンパク質やオルガネラの分解・再利用に独立して機能してると考えられてきたが、近年では両者の間に密接なクロストークがあることが報告されている。本研究では、カイコのオートファジー因子の解析を通じて、昆虫におけるオートファジーの特異性とユビキチン-プロテアソームシステムのクロストークについての解析を行った。

オートファジーの主要因子である Atg8 には、ヒトでは機能的にリダンドな 7 種のホモログが知られているが、カイコには 1 種しか存在せず、その機能阻害は致死である。本研究では、カイコ Atg8 が、フォスファチジルエタノールアミン (PE) 化修飾を受けて、細胞質内の膜状の構造体に局在すること、Atg4b が Atg8 の PE 化とそのリサイクルを担っていることを明らかにした。さらに、カイコにおけるオートファジーを解析するために、Flag-BmAtg8-PE および、EGFP-BmAtg8 を導入した 2 種のカイコ由来遺伝子組換え細胞を樹立した。EGFP-BmAtg8 で簡便に追跡できるオートファジー顆粒の形成は、プロテアソーム阻害剤として知られる MG132 により阻害されることを見出した。

次に、もう一つのオートファジーマーカー因子である p62 についても、オートファジーとユビキチン-プロテアソームシステムのクロストークメディエーターとしての機能を解析した。まず、カイコより p62 をクローニングし、Atg8 と同様のモニターシステムを構築したところ、カイコ p62 は、p62 body と呼ばれる大小 2 種の顆粒状構造を形成すること、その相違は、p62 の PB1 および UBA ドメインに依存していることを明らかにした。また、p62 は、UBA ドメインを介してユビキチン化タンパク質に結合することにより、p62 body を形成すること、AIM モチーフを介して Atg8 と相互作用し、この相互作用が p62 を含む構造体のオートファジーによる分解に重要であることを明らかにした。興味深いことに、プロテアソーム因子である Rpt1 と Rpn10 も p62 を含む構造体のオートファジーによる分解に重要であり、特に、Rpt1 は、p62 body の形成にも重要な役割を果たしていた。

以上の結果より、カイコは、限られた数の因子でオートファジー経路を保存している有用な研究材料であると考えられた。このシステムを活用することにより、これまで未解明な部分が多く残されていたオートファジーとユビキチン-プロテアソームシステムのクロストークを担うタンパク質の分子構造や分子間相互作用の概要を明らかにすることができた。