

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	オートファジーによる核膜孔複合体/ヌクレオポリンの分解
Title(English)	
著者(和文)	富岡優衣
Author(English)	Yui Tomioka
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11549号, 授与年月日:2020年6月30日, 学位の種別:課程博士, 審査員:中戸川 仁,岩崎 博史,木村 宏,中村 信大,藤田 尚信
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11549号, Conferred date:2020/6/30, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	生命理工学 生命理工学	系 コース	申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(理学)
学生氏名： Student's Name	富岡 優衣		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	中戸川 仁	
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)		

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

真核生物はオートファジーと呼ばれる細胞内分解機構を備えている。オートファジーは、細胞内成分の恒常的な新陳代謝を促進するほか、飢餓条件において強く誘導され、分解産物を栄養素として供給するなど、様々な生理的役割を果たしている。オートファジーが誘導されると、隔離膜と呼ばれる扁平な膜構造体が細胞質中出现する。これが分解対象を包み込みつつ伸張し、閉じてオートファゴソームと呼ばれる二重膜胞が形成される。オートファゴソームは植物細胞や酵母では液胞と、動物細胞ではリソソームと融合し、その内容物が分解される。細胞質の一部が無作為にオートファゴソーム内に取り込まれる経路は非選択的オートファジー、特定の分解標的が選択的に取り込まれる経路は選択的オートファジーと呼ばれている。選択的オートファジーにおいては、伸張中の隔離膜に局在する Atg8 が直接、あるいはオートファジーレセプターと呼ばれる分解標的を特異的に認識するタンパク質を介して間接的に分解標的と結合することで、分解標的の効率的なオートファゴソームへの取り込みを媒介する。さらに、Atg8 はオートファジーレセプターおよび分解標的が持つ Atg8-family interacting motif (AIM) と相互作用することが知られている。これまでの研究から、ミトコンドリアやペルオキシソーム、小胞体、核、異常タンパク質の凝集体など様々な細胞内成分が選択的オートファジーの標的となることが示されてきた。しかし選択的オートファジーの分解標的となる細胞成分の全体像は不明である。本研究では、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* において、核-細胞質間の物質輸送を担う筒状の巨大タンパク質複合体である核膜孔複合体のオートファジーによる分解について解析した。

核膜孔複合体の構造は真核生物に広く保存されており、7つの部分構造から構成されている。本研究ではまず、それぞれの部分構造に属するヌクレオポリンを一つずつ選び、これらがオートファジーによって分解されるかを調べた。富栄養条件でオートファジーを抑制しているタンパク質リン酸化酵素複合体 TORC1 の阻害剤である rapamycin で細胞を処理したところ、野生型の細胞ではヌクレオポリンの液胞での分解が観察された。一方で、オートファゴソーム形成に必須の *ATG1* 遺伝子欠失細胞ではこの分解は停止した。窒素飢餓培地を用いた場合にも同様の結果が得られた。核膜孔複合体は TORC1 不活性化条件でオートファジーによって分解されることが初めて示された。オートファジーレセプターと相互作用しオートファゴソーム形成の足場を形成する Atg11 や、前述の Atg8 の AIM との相互作用部位もヌクレオポリンの分解に重要であることが明らかとなり、核膜孔複合体はオートファジーレセプター依存的なメカニズムにより選択的に分解されることが示唆された。Atg39 をレセプターとする核の選択的オートファジー (ヌクレオファジー) の核膜孔複合体の分解への寄与は限定的であり、核膜孔複合体は主に未知のオートファジーレセプターに依存して分解されることが示唆された。さらに免疫電子顕微鏡解析により、核膜孔複合体は核膜由来の二重膜小胞に埋め込まれた状態でオートファゴソームに取り込まれることが示唆された。本研究において、核膜孔複合体の分解に特異的に機能するオートファジーレセプターを同定することはできなかったが、ヌクレオポリンの 1 つである Nup159 が AIM を介して Atg8 と相互作用することを明らかにした。この相互作用は、Nup159 自身の分解に重要であったが、他のヌクレオポリンの分解には必要なかった。すなわち、Atg8 と Nup159 の相互作用は、核膜孔複合体に組み込まれていない Nup159 のオートファゴソームへの取り込みを媒介することが示唆された。

以上で述べたように、本研究では、核膜孔複合体は、TORC1 不活性条件において、Atg39 依存的ヌクレオファジーおよび未知のオートファジーレセプターに依存するオートファジーという、少なくとも 2 つのオートファジー経路で分解されることが示された。さらに、核膜孔複合体に含まれない Nup159 が単体、もしくは他のいくつかのヌクレオポリンとの複合体としてオートファジーによって分解されることを見いだした。前者を「NPC (nuclear pore complex) ファジー」、後者を「ヌクレオポリノファジー」と呼ぶことを提唱した。本研究は、他の生物種におけるオートファジーによる核膜孔複合体の分解のメカニズムや生理的重要性の研究の端緒となると期待される。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ (T2R2) にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(博士課程)
Doctoral Program

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	生命理工学 生命理工学	系 コース	申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(理学)
学生氏名： Student's Name	富岡 優衣		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	中戸川 仁	
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)		

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

Autophagy is an intracellular degradation pathway widely conserved in eukaryotes. Autophagy pathways are classified into non-selective autophagy, in which parts of the cytoplasm are randomly degraded, and selective autophagy, in which specific targets are recognized by autophagy receptors and selectively degraded. Previous studies have shown that various intracellular components such as mitochondria, peroxisomes, the endoplasmic reticulum, the nucleus, and aggregates of abnormal proteins are targets of selective autophagy. In this study, I found that the nuclear pore complexes (NPC) and the components nucleoporins are selectively degraded through multiple autophagy pathways under TORC1 inactivation conditions in the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*.

The NPC is a large cylindrical protein complex that penetrates the nuclear envelope and mediates transport between the nucleus and cytoplasm. I first investigated whether nucleoporins could be degraded by autophagy. The treatment of cells with rapamycin, an inhibitor of the protein kinase complex TORC1 that suppresses autophagy under nutrient conditions, induced degradation of nucleoporins in the vacuole in wild-type cells. On the other hand, this degradation was not observed in *ATG1* gene knockout cells which are defective in autophagy. These results demonstrated for the first time that the NPC is degraded by autophagy under TORC1 inactivate conditions. Furthermore, I showed that Atg11, which is responsible for selective autophagy, and the autophagy receptor-binding ability of Atg8 are important for degradation of nucleoporins, suggesting that the NPC is degraded by receptor-mediated selective autophagy. Moreover, Atg39-mediated selective autophagy of the nucleus had a limited contribution to degradation of NPC. Taken together with other results, it was suggested that the NPC is degraded mainly via a mechanism involving an unknown autophagy receptor. Such an autophagy receptor that specifically functions in NPC degradation was not identified in this study, but I found that one of the nucleoporins, Nup159, directly binds to Atg8 via its Atg8-family interacting motif, and that this interaction is important for degradation of Nup159 that is not assembled into the NPC.

Thus, this study provides the first evidence for autophagic degradation of the NPC and nucleoporins and will serve as a basis to further understand the mechanism and physiological role of autophagic degradation of the NPC and nucleoporins.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).