

27V-am03S

c-Src によるチロシンリン酸化を介した LC3 量の変化

○鈴木 亘¹, 本田 拓也¹, 平田 健介¹, 高倉 勇氣¹, 赤津 亜希¹, 安藤 充岐¹, 山口 憲孝¹, 山口 直人¹ (¹千葉大院薬・分子細胞生物学)

【目的】非受容体型チロシンキナーゼである Src 型チロシンキナーゼは細胞膜上で増殖促進や形態維持に関与することが知られている。しかし、当研究室ではこれまでに Src 型チロシンキナーゼは脂質修飾により細胞膜だけでなくオルガネラ膜にも局在することを報告している。Src 型チロシンキナーゼである c-Src はリソソームに局在する。リソソーム膜に局在する c-Src の機能は未解明であるため、機能解析を目的とし実験を行った。

【方法・結果】本研究では、ヒト子宮頸癌由来細胞株である HeLa S3 細胞を親株とした、c-Src の誘導発現細胞株を使用した。この誘導発現細胞株はテトラサイクリン誘導発現系を用いており、任意のタイミングにおいて高い効率で c-Src を発現させることができる。c-Src を誘導発現させ、ウェスタンブロッティングを行うと、オートファジーマーカータンパク質である LC3-II の発現量が低下していた。そこで、Src 型チロシンキナーゼ阻害剤である PP2 を添加すると、c-Src 誘導発現による LC3-II の発現量の低下がみられなかった。一方、リソソームによるオートファゴソームの分解を阻害することで、オートファゴソームの形成速度を検出できる。そこで Bafilomycin A1 を添加し LC3-II を検出すると、LC3-II の発現量は c-Src 誘導発現により変化はなかった。また、リソソーム染色に用いられる LysoTracker によりリソソームを染色し FACS により検出を行うと、c-Src 誘導発現によるリソソーム量に変化がないことが分かった。

【考察】c-Src のキナーゼ活性依存的にオートファゴソーム量が減少する。これは、オートファゴソームの形成やリソソーム量の増加でないことから、オートファゴソームとリソソームの融合を c-Src が促進していると考えられる。