

特集：酵母から動植物まで包括するユビキチン-プロテアソーム系の新展開

動物細胞におけるユビキチンシステムとオートファジーの機能関連

小松 雅明, 一村 義信

ユビキチン-プロテアソームシステムによるタンパク質分解は標的タンパク質への時空間的に制御されたユビキチン化を介したプロテアソームによる選択的な分解であるのに対し、オートファジー-リソソームシステムは莫大な量の細胞質タンパク質やオルガネラを取り囲んだオートファゴソームがリソソームと融合することにより執行されるバルク（大規模かつ非選択的）な分解系と規定される。しかし、プロテアソームの障害によりオートファジーが誘導されることや、オートファゴソームに局在するユビキチン結合タンパク質の発見により、二つの分解経路のクロストークが明らかになってきた。本稿では、ユビキチンシステムとオートファジーに焦点をあて、その病態生理的意義を概説する。

はじめに

オートファジーは、平均的な大きさのタンパク質であれば数十万個のタンパク質を一度に取り囲めるオートファゴソームがリソソームと融合することにより分解が完了するため、基質選択性の低い分解系と定義されてきた(図1)。他方、ユビキチン-プロテアソームシステム(UPS)では、ユビキチン活性化酵素(E1)、ユビキチン結合酵素(E2)、ユビキチンリガーゼ(E3)の酵素反応を介して分解を運命づけられたタンパク質や変性タンパク質にユビキチンを付加し(ユビキチン化)、次いでユビキチン鎖結合能を持つシャトルタンパク質がユビキチン化タンパク質を捕捉しプロテアソームへ運び、そして標的タンパク質を分解する。この分解系は、高等動物においては数百あるとされるE3の時空間的に厳密に制御された基質認識機構により、選択的タンパク質分解が成立する。この二つの分解システムに参与する遺伝子群に重複はなく、全く独立した分解系

と考えられてきた。しかし、UPSの障害によりオートファジーが活性化されること、オートファジー欠損によりユビキチン化タンパク質が蓄積すること、さらにオートファゴソームに局在するユビキチン結合タンパク質群が同定されたことから両分解経路のクロストークが注目されてきた。

1. UPSとオートファジーのクロストーク

プロテアソームによるタンパク質分解のためには、タンパク質の立体構造をほどくことで直径2nmの通路を通し触媒活性を持つプロテアソーム内腔へ送り込む必要がある。したがって、タンパク質が凝集化した巨大な構造体はプロテアソームでは分解し得ず、オートファジーに依存することになる。そもそも、タンパク質凝集体はUPSが障害された時やUPSの分解容量を超えた時に形成されることから、オートファジーによる補償機構は合理的であろう。一方、オートファジーはプロテアソームでは壊し得ない凝集化タンパク質やオルガネラも標的とすることから、UPSによるオートファジー障害の補償は難しいと思われる。

1) 相補

TaylorおよびKopitoのグループは独立に、UPSの障害がオートファジーを誘導すること、そしてUPS障害で起

東京都医学総合研究所 蛋白質リサイクルプロジェクト
(〒156-8506 東京都世田谷区上北沢 2-1-6)

Involvement of ubiquitin system in mammalian autophagy
Masaaki Komatsu and Yoshinobu Ichimura (Protein Metabolism Project, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, Setagaya-ku, Tokyo 156-8506, Japan)

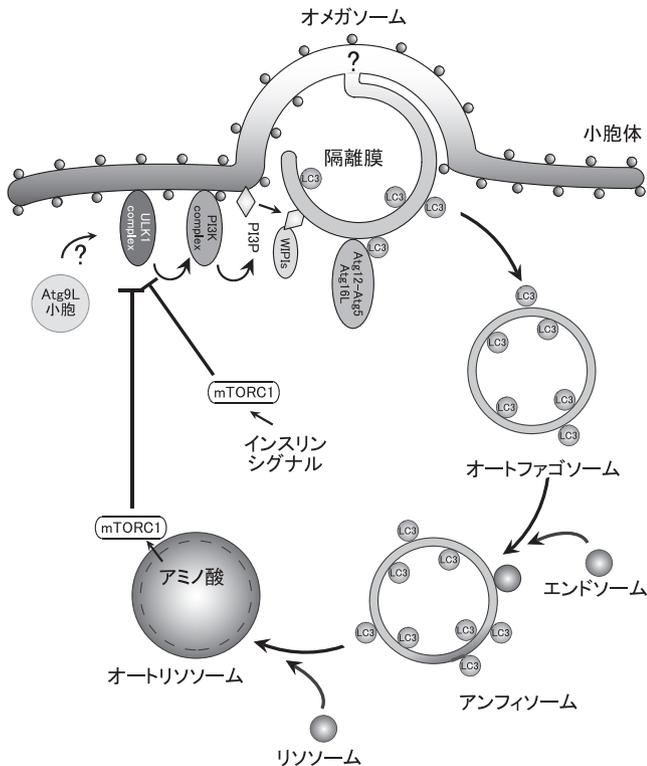


図1 オートファジーの進行過程。栄養飢餓等の刺激に応じて、ULK1 キナーゼ複合体が活性化されると、クラス III PI3 キナーゼ、Atg 結合システム等が順次作動し、小胞体近傍(オメガソーム)から隔離膜が形成される。隔離膜が伸長し、細胞質成分を取り囲んだ脂質二重膜構造体オートファゴソームが形成される。オートファゴソームはエンドソームやリソソームと融合し、オートリソソームとなる。リソソームに内在する加水分解酵素がオートファゴソーム内に送り込まれ、内容物の分解が起きる。生じたアミノ酸はリソソーム表面上の mTORC1 を活性化し、オートファジーは抑制される。

この細胞死がオートファジーの阻害により悪化することを、それぞれ *in vivo*, *in vitro* で明らかにした^{1,2)}。UPS 阻害によって生じた変性タンパク質は HDAC6 (ヒストン脱アセチル化酵素 6) の過剰発現により分解が促進され、細胞死も抑制された。ところが、UPS およびオートファジーの阻害下では HDAC6 の過剰発現で細胞死を抑制できない。したがって、UPS 阻害条件下では、オートファジーが HDAC6 依存的に変性タンパク質を排除すると考えられる。HDAC6 は微小管形成中心にユビキチン化タンパク質を輸送し凝集体形成に関与することから、HDAC6 の過剰発現により変性タンパク質は効率的に集約されオートファジーにより分解されるようになるのかもしれない。

2) 阻害

神経や肝細胞特異的オートファジー欠損マウスは、ユビキチン化タンパク質とユビキチン鎖結合タンパク質である p62/A170/Sqstm1 (以後、p62 と省略) や Nbr1 の蓄積を伴う (2 章を参照頂きたい)。Rubinsztein らは、オートファ

ジー抑制に伴う p62 タンパク質の蓄積が、UPS を阻害することを報告した³⁾。培養細胞においてオートファジーを抑制することで過剰に p62 が蓄積されると、本来プロテアソームへ輸送されるべきユビキチン化タンパク質が p62 により補捉され、UPS でのユビキチン化タンパク質の分解が阻害されるらしい。彼らは、オートファジー欠損マウスで確認される神経変性や肝障害等の劇的な症状は、直接ではなく UPS の障害の二次的な影響がある可能性を指摘している。しかし、少なくとも肝臓特異的や筋特異的オートファジー欠損マウスにおいてはプロテアソームによるユビキチン化タンパク質の分解に影響は確認されていない。

3) 協調

Goldberg らおよび Sandri らのグループは、UPS とオートファジーが同時に活性化され筋萎縮を引き起こすことを報告した^{4,5)}。栄養飢餓や除神経により class I PI3K-Akt 経路が不活化されると転写因子 FoxO3 が活性化される。FoxO3 は、ユビキチンリガーゼ MAFbx および MuRF1 に加えて、多数のオートファジー必須遺伝子群 (Atg) やカテプシン L 等のリソソーム酵素の遺伝子発現を直接誘導する。その結果、UPS とオートファジーによる分解が同時に惹起され、筋萎縮を起こす。通常オートファジーはキナーゼ mTORC1 (mammalian target of rapamycin complex 1) により制御されるが、筋組織においては mTORC に依存せず、mTORC2-FoxO3 を介した Atg の転写上昇により制御されるらしい。

2. オートファジーによるユビキチン化カーゴの分解

ほぼ全てのオートファジー欠損組織において、ユビキチン陽性の凝集体が形成される。オートファジーの欠損は、細胞質タンパク質や細胞小器官の新陳代謝の障害やプロテアソームで分解されるべきタンパク質の分解障害を引き起こす^{3,6)}。これらの影響は、ミスフォールドやアンフォールドしたタンパク質の蓄積が伴うため、オートファジー不全組織における凝集体形成を部分的には説明可能である。一方、p62 や Nbr1 がオートファゴソームへユビキチン結合タンパク質やオルガネラを輸送するレセプターであることが報告され、オートファジーによる選択的なユビキチン化タンパク質分解機構が提唱されるようになってきた^{7,8)}。すなわち、ユビキチン-プロテアソーム系と同様にオートファジーもユビキチンシグナルをその分解に利用している可能性がある。

1) ユビキチン化タンパク質の分解

Johansen らのグループは、LC3 と物理的に相互作用する分子として p62 を同定した^{9,10)}。p62 はストレス誘導性の細胞内タンパク質であり、真菌や植物には存在せず多細胞動物に保存されている¹¹⁾。この分子は、オートファゴソーム形成部位に局在し¹²⁾、LC3-interacting region (LIR) を介し

てLC3と相互作用し^{10,13}、オートファジーにより代謝される。すなわち、オートファジーの選択的基質である。p62のN末端のPhox1 and Bem1p (PB1)ドメインはオリゴマー形成能を、C末端のUbiquitin-associated domain (UBA)はユビキチン結合能を持つことから、オートファジー欠損細胞や組織においてp62は大量に蓄積し、ユビキチン-p62陽性の凝集体が形成される^{14,15}。現在、p62は、ユビキチン化タンパク質、ユビキチン化タンパク質凝集体、ユビキチン化ミトコンドリア、ユビキチン化細菌をオートファゴソームに選択的に輸送するレセプター、ないしはユビキチン化基質をオートファゴソーム形成部位に集めるアダプター分子であると提唱されている^{7,16} (図2A)。さらに、p62のUBAドメインのリン酸化がユビキチンとの親和性を高め、オートファジーによるユビキチン化タンパク質の分解を促進することも報告されている¹⁷。LC3と相互作用する第二のユビキチン化タンパク質レセプター/アダプターとしてNbr1 (neighbor of Bracl gene) が同定され

た¹⁸。Nbr1は、p62と同様の構造 (PB1ドメイン、ジングフィンガードメイン、LIR、UBAドメイン)を持ち、さらにLC3と直接に相互作用する (図2A)。オートファジー欠損マウスにおいて、p62同様に大量に蓄積し凝集化することから、オートファジーの選択的基質でもある。この分子はLC3だけでなくPB1ドメインを介してp62とも相互作用する^{18,19}。Nbr1のPB1ドメインには自己オリゴマー形成能が無いことから、効率的な分解にはp62との相互作用が必要なかもしれない。この分子のユビキチンレセプターとしての生物学的機能はほとんど不明であるが、p62より進化的に古く、UBA等の重要なドメインの欠落があるものの真菌からヒトまで保存されている (ただし、キロシヨウジョウバエや線虫では欠落している。また、植物ではp62とNbr1のハイブリッド型が存在する。)。Nbr1ノックアウトマウスもp62ノックアウトマウスも単独ではユビキチン化タンパク質の蓄積はほとんど確認されないことを考えると、本来Nbr1が担っていた機能を補完 (な

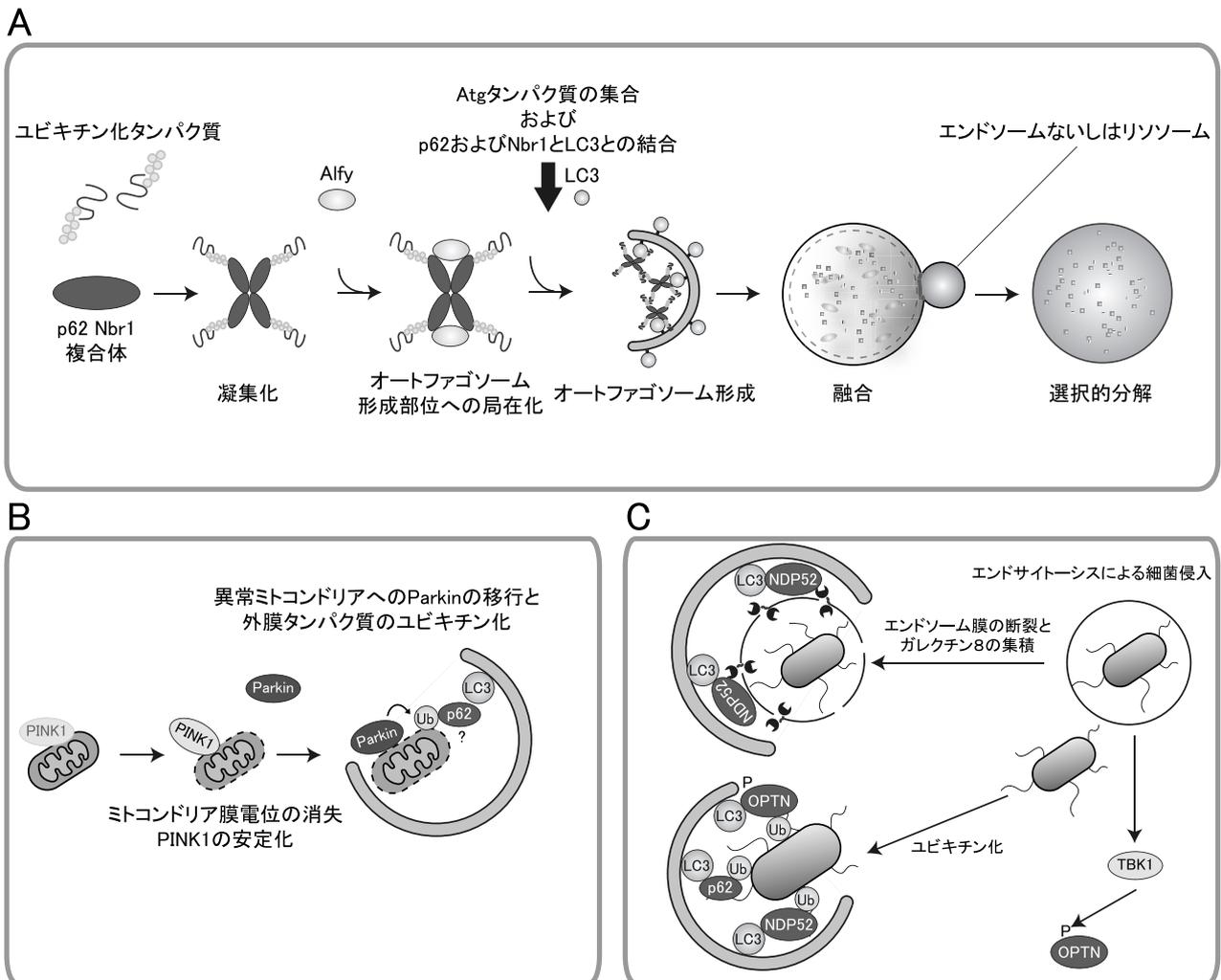


図2 ユビキチン化カーゴとオートファジー。(A) オートファジーによるユビキチン化タンパク質分解仮説。(B) Parkin 依存性ミトファジー。(C) オートファジーによるユビキチン非依存的、依存的細菌排除。

いしは強化)するために p62 が獲得されたのかもしれない。このような補完的な役割は、酵母の UPS 経路においてプロテアソームへユビキチン化タンパク質を輸送する Rpn10, Rad23 や Dsk2 が互いに相補することと一致するように思われる。このことを証明するために、今後 *p62* および *Nbr1* 二重欠損マウスの解析が重要であろう。p62 や *Nbr1* と協調的に働いてポリグルタミン等の凝集化したタンパク質の選択的オートファジーに寄与するタンパク質として *Alfy* が同定されている²⁰。この分子は、後生動物に保存される約 400 kDa の巨大なタンパク質である。*Alfy* にも LIR 様配列は存在するが、p62 や *Nbr1* とは異なりオートファジー欠損組織において蓄積しない(筆者ら、未発表データ)。むしろ、FYVE ドメインを介してオートファゴソーム膜形成に必須なホスファチジルイノシトール 3 リン酸, WD repeat を介して隔離膜伸張に関与する *Atg5*, そして BEACH ドメインを介して p62 と相互作用することから、選択的オートファジーのスカフォールドタンパク質と想定される(図 2A)。重要なことに、*Alfy* を欠損したショウジョウバエ *blue cheese (Bchs)* は、ユビキチン陽性凝集体形成を伴った神経変性を呈する²¹。

一方、Kopito らのオートファジー欠損脳ないしは肝臓を用いた質量分析解析は、オートファジー欠損組織に蓄積するユビキチン化タンパク質にユビキチン鎖の特異性がないことを示した²²。このことは、特異的なユビキチン鎖がオートファジーへのシグナルとならないことを意味する。また、オートファジー欠損脳ないしは肝臓のユビキチン化タンパク質の蓄積は、*p62* ないしは *Nrf2* の同時欠損により大幅に抑制される。したがって、オートファジー不能組織のユビキチン化タンパク質の蓄積は、p62 の過剰蓄積を介した転写因子 *Nrf2* の異常活性化(3章を参照頂きたい)に起因するのかもしれない。

2) ユビキチン化を介したミトコンドリアの分解

損傷したミトコンドリアは、オートファジーにより選択的に除去(マイトファジー)される。Youle らは、脱共役剤を用いてミトコンドリアの膜電位を失わせると、若年性パーキンソン病の原因遺伝子産物であるミトコンドリアキナーゼ *PINK1* が安定化し、別の若年性パーキンソン病の原因遺伝子産物であるユビキチンリガーゼ *Parkin* がミトコンドリアに移行することを見出した²³。異常ミトコンドリアに *Parkin* が局在化すると多数のミトコンドリア外膜タンパク質のユビキチン化が起こり、マイトファジーが惹起される²⁴(図 2B)。ただし、マイトファジーに必須な基質は未同定である。パーキンソン病患者由来の変異を持つ *PINK1* ないしは *Parkin* はこのプロセスに障害を示すことから、マイトファジーとパーキンソン病の関連が示唆される²⁵。p62 や *HDAC6* が、脱分極したミトコンドリアに局在する報告があるが、その役割がミトコンドリアを核近傍

に集約させることにあるのか、あるいはミトコンドリアをオートファゴソーム膜に認識させることにあるのか、完全には理解されていない^{26,27}。

長い間、ミトコンドリアが母性遺伝される仕組みは謎に包まれていた。2011年、線虫を用いた研究により、受精卵に含まれる精子由来のミトコンドリアが2-8細胞期にかけてマイトファジーにより除去されることが明らかとなった。精子由来のミトコンドリアはエネルギー生産によりダメージを蓄積しており、受精卵に存在する精子ミトコンドリアは分裂/融合の機能が損傷されていた^{28,29}。この場合も、マイトファジーは損傷ミトコンドリアを認識して、選択的に壊していることが示唆される。精子ミトコンドリアは受精時にユビキチン化されているが、この過程におけるユビキチンリガーゼおよび基質タンパク質は不明である。

3) ユビキチン化を介した細胞内侵入細菌の除去

細胞質ないしは断裂したエンドソーム内の細菌は、ユビキチン化を介してオートファジーにより選択的に排除(ゼノファジー)される。現在までに、侵入細菌ないしは破裂したエンドソームのユビキチン化を担うユビキチンリガーゼもその基質も同定されていないが、LIR 配列とユビキチン結合ドメインを持つ p62, NDP52 (nuclear dot protein 52 kDa) あるいは OPTN (optineurin) がオートファゴソームへユビキチン化細菌を運び込むアダプターとして機能する(図 2C)³⁰⁻³²。NDP52 は、多細胞動物に保存されたタンパク質であり、C 末端側のジンクフィンガーを介してユビキチン化サルモネラ菌と、おそらく N 末端の LIR 様配列を介して LC3 と相互作用し、サルモネラ菌の選択的排除に働く。NDP52 は、サルモネラ菌がエンドソーム膜を破壊した場合にエンドソームに集積するガレクチン 8 を認識して、サルモネラ菌(それを取り囲む破裂したエンドソーム)に移行し、ユビキチン化非依存的なゼノファジーにも関与する³³。この機構は、エンドソームやリソソームの品質管理機構にも関与する可能性が高い。一方、OPTN の LIR 配列(FxxL)の直前には、細菌感染により活性化される TBK1 (TANK-binding kinase 1) によりリン酸化を受けるセリン残基が存在する。このセリン残基がリン酸化されると、OPTN の LIR 配列の前方に酸性荷電のアミノ酸クラスターが形成され、LC3 への親和性が高まり、サルモネラ菌の排除が促進される³¹。p62 もユビキチン化サルモネラ菌の微小領域に局在し、オートファジーによる排除に働いているが、この経路が上記の経路と協調性があるのかは不明である。

3. ユビキチン化結合タンパク質 p62 と疾患

p62 は N 末端の PB1 ドメインを介して別の PB1 ドメインを持つタンパク質 aPKC と相互作用する分子として同定されたことから、aPKC が制御する NF- κ B 経路や細胞骨格

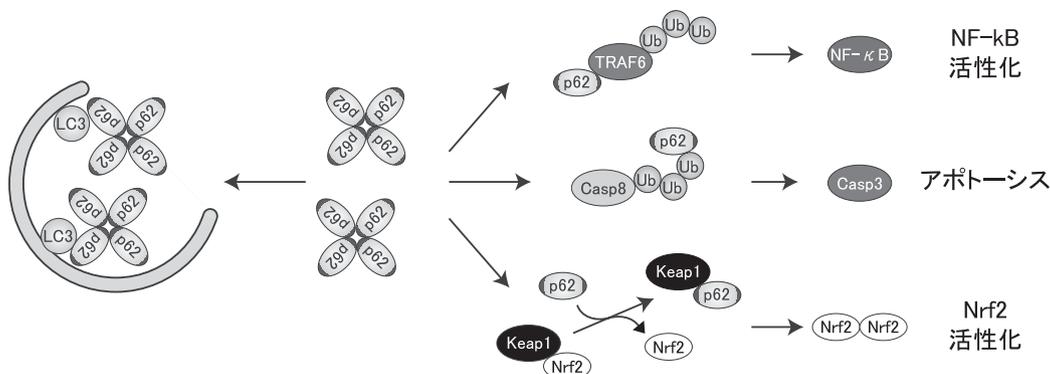


図3 シグナル伝達分子としてのp62. オートファジー選択的基質p62はスカフォールドタンパク質としてユビキチン化が関与する多彩なシグナルを制御する。

の再構成や細胞極性への関与が示唆されていた。さらに、p62は、Interleukin 1, RANKリガンド, 神経成長因子(NGF)の刺激に応じてTRAF6のユビキチン化を促進し、NF-κB経路を活性化し、細胞の生存を促す(図3)。対照的に、TRAIL(TNF Related Apoptosis Inducing Ligand)刺激によりカスパーゼ8がポリユビキチン化されると、p62はユビキチン化カスパーゼ8を凝集化し、下流カスパーゼの活性化を効率的に促し、アポトーシスを誘導する(図3)。また、p62はユビキチンリガーゼKeap1との相互作用を介して転写因子Nrf2を活性化し、ストレス応答性遺伝子発現を誘導する³⁴⁾(図3)。

1) p62と肝疾患

p62はオートファジー選択的基質であることから、オートファジー欠損組織において顕著に蓄積する。驚くべきことに、肝臓特異的Atg7欠損マウスにおいてp62を同時欠損させると、オートファジー欠損で観察される肝肥大や肝機能障害が顕著に改善される¹⁴⁾。この現象はNrf2を同時に欠損させた場合にも確認されたことから、p62の過剰蓄積によるNrf2の異常活性化がオートファジー不全による肝機能障害の主因であろう³⁵⁾。一方、神経変性を示す脳特異的オートファジー欠損マウスにおいては、p62欠失による症状の回復はほとんど認められず、p62蓄積による影響が組織ごとに異なることを意味する¹⁴⁾。現在までに数多くの組織特異的オートファジー欠損マウスが作製、解析され、オートファジーの破綻と病態発症が報告されてきた。しかし、その病態発症におけるp62の異常蓄積の検証は、肝臓と脳で行なわれたに過ぎない。

2) p62と腫瘍

全身性にオートファジー必須遺伝子Atg5をモザイク状に欠損させたマウスや肝臓特異的Atg7欠損マウスは、肝臓に腫瘍が形成され、加齢と共にその数、大きさが増大する^{36,37)}。この腫瘍増殖はp62の同時欠損により大幅に抑制される³⁷⁾。NF-κBシグナルの持続的活性化は腫瘍形成に関与することから、p62の異常によるNF-κBシグナル活性

化が腫瘍形成の要因として挙げられる³⁴⁾。事実、p62遺伝子の欠失によるNF-κBシグナルの抑制がRas誘導性の肺腺がん形成を抑制することや、恒常的なKras活性化によるp62発現亢進が膵管腺がんの発達に関与することが報告されている^{38,39)}。また、オートファジー欠損腫瘍細胞におけるp62の蓄積を介したNF-κBシグナルの異常亢進が少なくとも部分的には腫瘍形成を促進するらしい⁴⁰⁾。p62によるNrf2活性化機構も、腫瘍形成・促進に関与する。実際、Atg7欠損肝臓ではNrf2は恒常的に活性化され^{36,37)}、肝臓においてAtg7およびNrf2を同時に欠損させると腫瘍形成が著しく抑制される(筆者ら、未発表データ)。さらに、p62を蓄積し且つNrf2を活性化しているヒト肝細胞がん株において、p62を欠損させると足場非依存的な増殖が抑制されること、その増殖障害はp62の野生型の過剰発現で回復する一方、Keap1と相互作用できないp62の過剰発現では回復されない³⁶⁾。したがって、p62の蓄積、凝集を介したNrf2の活性化は、肝細胞がんの腫瘍進行に関与することを意味する。ただし、Atg5ないしはAtg7欠損肝細胞由来の腫瘍細胞は核の異数性もなく、発生部位に局限してモノクローナルに増殖し、規則的な配列や増殖パターンを形成する^{36,37)}。また、他の臓器への転移も認められない。すなわち良性腫瘍であり、腫瘍の悪性化にはオートファジー活性が必要とされることが強く示唆される。

おわりに

タンパク質が凝集化した巨大な構造体や異常ないしは過剰なオルガネラはプロテアソームでは分解し得ず、オートファジーに依存することになる。変性タンパク質からなる凝集体、異常オルガネラや細胞内侵入細菌は積極的に除去される必要があるため、進化とともにオートファジーの選択性が獲得されたのであろう。また、オートファジー選択的タンパク質であるp62やNbr1は多量体化するとともに、細胞増殖、分化、細胞死、そしてストレス応答など複数のシグナル伝達を調整する。環境変化に応答してそれら

の細胞内シグナルを調整する場合にも、オートファジーを介した p62 や Nbr1 の選択的分解は有効な手段であろう。ゲノムワイドな RNAi スクリーニングから、ウイルスのキャプシドタンパク質の選択的オートファジーに必須な 141 のタンパク質が同定され、その内の 96 のタンパク質が Parkin 依存性マイトファジーにも必要であることが明らかにされた⁴¹⁾。すなわち、共通の分子機構で選択的オートファジーが執行される可能性を強く示唆する。しかし、ユビキチン化（ないしはユビキチン化シグナル）を介した選択的オートファジーの研究は新しい研究分野であり、ユビキチンリガーゼや基質の同定すらなされていない。さらに、ユビキチンレセプター/アダプターによる基質認識の分子メカニズム、基質に局限した膜創成、制御機構、そして生理意義もほとんど分かっていない。選択的オートファジーの包括的な研究とともに、ひとつ一つの分子にクローズアップした詳細な研究が必要であろう。

文 献

- Iwata, A., Riley, B.E., Johnston, J.A., & Kopito, R.R. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 40282–40292.
- Pandey, U.B., Nie, Z., Batlevi, Y., McCray, B.A., Ritson, G.P., Nedelsky, N.B., Schwartz, S.L., DiProspero, N.A., Knight, M. A., Schuldiner, O., Padmanabhan, R., Hild, M., Berry, D.L., Garza, D., Hubbert, C.C., Yao, T.P., Baehrecke, E.H., & Taylor, J.P. (2007) *Nature*, **447**, 859–863.
- Korolchuk, V.I., Mansilla, A., Menzies, F.M., & Rubinsztein, D.C. (2009) *Mol. Cell*, **33**, 517–527.
- Mammucari, C., Milan, G., Romanello, V., Masiero, E., Rudolf, R., Del Piccolo, P., Burden, S.J., Di Lisi, R., Sandri, C., Zhao, J., Goldberg, A.L., Schiaffino, S., & Sandri, M. (2007) *Cell Metab.*, **6**, 458–471.
- Zhao, J., Brault, J.J., Schild, A., Cao, P., Sandri, M., Schiaffino, S., Lecker, S.H., & Goldberg, A.L. (2007) *Cell Metab.*, **6**, 472–483.
- Hara, T., Nakamura, K., Matsui, M., Yamamoto, A., Nakahara, Y., Suzuki-Migishima, R., Yokoyama, M., Mishima, K., Saito, I., Okano, H., & Mizushima, N. (2006) *Nature*, **441**, 885–889.
- Johansen, T. & Lamark, T. (2011) *Autophagy*, **7**, 279–296.
- Kirkin, V., McEwan, D.G., Novak, I., & Dikic, I. (2009) *Mol. Cell*, **34**, 259–269.
- Bjorkoy, G., Lamark, T., Brech, A., Outzen, H., Perander, M., Overvatn, A., Stenmark, H., & Johansen, T. (2005) *J. Cell Biol.*, **171**, 603–614.
- Pankiv, S., Clausen, T.H., Lamark, T., Brech, A., Bruun, J.A., Outzen, H., Overvatn, A., Bjorkoy, G., & Johansen, T. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 24131–24145.
- Ishii, T., Itoh, K., Takahashi, S., Sato, H., Yanagawa, T., Katoh, Y., Bannai, S., & Yamamoto, M. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 16023–16029.
- Itakura, E. & Mizushima, N. (2011) *J. Cell Biol.*, **192**, 17–27.
- Ichimura, Y., Kumanomidou, T., Sou, Y.S., Mizushima, T., Ezaki, J., Ueno, T., Kominami, E., Yamane, T., Tanaka, K., & Komatsu, M. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 22847–22857.
- Komatsu, M., Waguri, S., Koike, M., Sou, Y.S., Ueno, T., Hara, T., Mizushima, N., Iwata, J., Ezaki, J., Murata, S., Hamazaki, J., Nishito, Y., Iemura, S., Natsume, T., Yanagawa, T., Uwayama, J., Warabi, E., Yoshida, H., Ishii, T., Kobayashi, A., Yamamoto, M., Yue, Z., Uchiyama, Y., Kominami, E., & Tanaka, K. (2007) *Cell*, **131**, 1149–1163.
- Nezis, I.P., Simonsen, A., Sagona, A.P., Finley, K., Gaumer, S., Contamine, D., Rusten, T.E., Stenmark, H., & Brech, A. (2008) *J. Cell Biol.*, **180**, 1065–1071.
- Weidberg, H., Shvets, E., & Elazar, Z. (2011) *Annu. Rev. Biochem.*, **80**, 125–156.
- Matsumoto, G., Wada, K., Okuno, M., Kurosawa, M., & Nukina, N. (2011) *Mol. Cell*, **44**, 279–289.
- Kirkin, V., Lamark, T., Sou, Y.S., Bjorkoy, G., Nunn, J.L., Bruun, J.A., Shvets, E., McEwan, D.G., Clausen, T.H., Wild, P., Bilusic, I., Theurillat, J.P., Overvatn, A., Ishii, T., Elazar, Z., Komatsu, M., Dikic, I., & Johansen, T. (2009) *Mol. Cell*, **33**, 505–516.
- Lamark, T., Perander, M., Outzen, H., Kristiansen, K., Overvatn, A., Michaelsen, E., Bjorkoy, G., & Johansen, T. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 34568–34581.
- Filimonenko, M., Isakson, P., Finley, K.D., Anderson, M., Jeong, H., Melia, T.J., Bartlett, B.J., Myers, K.M., Birkeland, H.C., Lamark, T., Krainc, D., Brech, A., Stenmark, H., Simonsen, A., & Yamamoto, A. (2010) *Mol. Cell*, **38**, 265–279.
- Simonsen, A., Cumming, R.C., & Finley, K.D. (2007) *Autophagy*, **3**, 499–501.
- Riley, B.E., Kaiser, S.E., Shaler, T.A., Ng, A.C., Hara, T., Hipp, M.S., Lage, K., Xavier, R.J., Ryu, K.Y., Taguchi, K., Yamamoto, M., Tanaka, K., Mizushima, N., Komatsu, M., & Kopito, R.R. (2010) *J. Cell Biol.*, **191**, 537–552.
- Youle, R.J. & Narendra, D.P. (2011) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **12**, 9–14.
- Yoshii, S.R., Kishi, C., Ishihara, N., & Mizushima, N. (2011) *J. Biol. Chem.*, **286**, 19630–19640.
- Matsuda, N., Sato, S., Shiba, K., Okatsu, K., Saisho, K., Gautier, C.A., Sou, Y.S., Saiki, S., Kawajiri, S., Sato, F., Kimura, M., Komatsu, M., Hattori, N., & Tanaka, K. (2010) *J. Cell Biol.*, **189**, 211–221.
- Okatsu, K., Saisho, K., Shimanuki, M., Nakada, K., Shitara, H., Sou, Y.S., Kimura, M., Sato, S., Hattori, N., Komatsu, M., Tanaka, K., & Matsuda, N. (2010) *Genes Cells*, **15**, 887–900.
- Narendra, D., Kane, L.A., Hauser, D.N., Fearnley, I.M., & Youle, R.J. (2010) *Autophagy*, **6**, 1090–1106.
- Al Rawi, S., Louvet-Vallee, S., Djeddi, A., Sachse, M., Culetto, E., Hajjar, C., Boyd, L., Legouis, R., & Galy, V. (2011) *Science*, **334**, 1144–1147.
- Sato, M. & Sato, K. (2011) *Science*, **334**, 1141–1144.
- Thurston, T.L., Ryzhakov, G., Bloor, S., von Muhlinen, N., & Randow, F. (2009) *Nat. Immunol.*, **10**, 1215–1221.
- Wild, P., Farhan, H., McEwan, D.G., Wagner, S., Rogov, V.V., Brady, N.R., Richter, B., Korac, J., Waidmann, O., Choudhary, C., Dotsch, V., Bumann, D., & Dikic, I. (2011) *Science*, **333**, 228–233.
- Zheng, Y.T., Shahnazari, S., Brech, A., Lamark, T., Johansen, T., & Brumell, J.H. (2009) *J. Immunol.*, **183**, 5909–5916.
- Thurston, T.L., Wandel, M.P., von Muhlinen, N., Foeglein, A., & Randow, F. (2012) *Nature*, **482**, 414–418.
- Moscat, J. & Diaz-Meco, M.T. (2009) *Cell*, **137**, 1001–1004.
- Komatsu, M., Kurokawa, H., Waguri, S., Taguchi, K., Kobayashi, A., Ichimura, Y., Sou, Y.S., Ueno, I., Sakamoto, A., Tong, K.I., Kim, M., Nishito, Y., Iemura, S., Natsume, T., Ueno, T., Kominami, E., Motohashi, H., Tanaka, K., & Yamamoto, M. (2010) *Nat. Cell Biol.*, **12**, 213–223.

- 36) Inami, Y., Waguri, S., Sakamoto, A., Kouno, T., Nakada, K., Hino, O., Watanabe, S., Ando, J., Iwadate, M., Yamamoto, M., Lee, M.S., Tanaka, K., & Komatsu, M. (2011) *J. Cell Biol.*, **193**, 275–284.
- 37) Takamura, A., Komatsu, M., Hara, T., Sakamoto, A., Kishi, C., Waguri, S., Eishi, Y., Hino, O., Tanaka, K., & Mizushima, N. (2011) *Genes Dev.*, **25**, 795–800.
- 38) Duran, A., Linares, J.F., Galvez, A.S., Wikenheiser, K., Flores, J.M., Diaz-Meco, M.T., & Moscat, J. (2008) *Cancer Cell*, **13**, 343–354.
- 39) Ling, J., Kang, Y., Zhao, R., Xia, Q., Lee, D.F., Chang, Z., Li, J., Peng, B., Fleming, J.B., Wang, H., Liu, J., Lemischka, I.R., Hung, M.C., & Chiao, P.J. (2012) *Cancer Cell*, **21**, 105–120.
- 40) Mathew, R., Karp, C.M., Beaudoin, B., Vuong, N., Chen, G., Chen, H.Y., Bray, K., Reddy, A., Bhanot, G., Gelinas, C., Di-paola, R.S., Karantza-Wadsworth, V., & White, E. (2009) *Cell*, **137**, 1062–1075.
- 41) Orvedahl, A., Sumpter, R., Jr., Xiao, G., Ng, A., Zou, Z., Tang, Y., Narimatsu, M., Gilpin, C., Sun, Q., Roth, M., Forst, C.V., Wrana, J.L., Zhang, Y.E., Luby-Phelps, K., Xavier, R.J., Xie, Y., & Levine, B. (2011) *Nature*, **480**, 113–117.
-