

小胞体から始まる細胞内デリバリー

依田幸司 (東大・農)

はじめに

真核細胞は、その内部を生体膜によって多様なコンパートメントに区切ることで、高度な生物機能を営んでいる。進化過程での共生に由来するミトコンドリアや葉緑体は、独自の系を利用してタンパク質を取り入れるが、それ以外のすべてのコンパートメントは、小胞体を起点とする細胞内デリバリーに依存して、構築・維持されていると考えられている。このような理解は、R. Schekman 博士が 1980 年前から始めた、出芽酵母の基礎研究に負うところが大きい。細胞生物学に変異株をみごとに導入したことが、分子生物学発展の波に乗り、関与する分子の理解が進んだ。小胞体からタンパク質や脂質が COPII 小胞で引き出される詳細な機構と、正・逆両方向の輸送小胞が細胞内で時間的・空間的に驚くほど特異的・調和的に駆動されているという概念の確立が、とりわけ意義深い。

農芸化学の細胞生物学

農芸化学科で、微生物機能の高度利用を目標に研究していると、有用物質を生産する酵母やかびの細胞の増産や有用な菌体外酵素の生産向上などで、真核細胞の基礎研究が必要になった。遺伝子組換え技術が利用可能になり、異種タンパク質の分泌生産などを目指すと、それがなかなか上手く行かない、その理由を調べなければならなくなった。私たちもそのようにして、タンパク質分泌に欠損を持つ温度感受性株のスクリーニングから、出芽酵母の研究を始めた。

幸いにして Schekman がとった 23 の *SEC* 遺伝子とは異なる新規遺伝子を取得でき、わが国で独自に発見した輸送関連遺伝子という自負から、*USO1* と命名した [1]。非許容温度で、分泌タンパク質は小胞体型前駆体として細胞内に蓄積し、電子顕微鏡観察で小胞体の肥厚が認められたので、*Uso1* は小胞体-ゴルジの輸送初期過程に働くことが分った。多コピーサプレッサーとして、*BET1*、*SEC22* などが得られたこともこれを支持した。*USO1* 遺伝子をクローン化して調べると、1790 アミノ酸のポリペプチドをコードし、その C 末端側 1100 アミノ酸ほどはコイルドコイルの二量体を形成する配列的特徴をもち、温度感受性株では終止コドン変異によりポリペプチドが短縮されていた。精製 *Uso1* タンパク質を電子顕微鏡観察すると、ミオシンのような双球に 150nm の長い尾がついた分子が見えた。その働きはなかなか分らなかったが、小胞体から出芽して出てきたばかりの COPII 小胞と結合し、しかも異なる複数の COPII 小胞と同時に結合できることが示された [2]。即ち、COPII 小胞から最初期のゴルジを生成する過程を促進する tethering 因子と考えられる。

ゴルジの動態

小胞体を出た分泌性タンパク質の多くは、ゴルジに局在する糖転移酵素やプロテアーゼにより、輸送過程で修飾される。ゴルジは、小胞体に近い側から *cis* (early)-*medial*-*trans* (late) などと呼ばれる複数のコンパートメントからなり、それぞれ異なる修飾酵素をもっていると言われていた。私たちは、糖鎖付加に異常をもつ変異株を多数とって解析したが、多くは既知の糖転移酵素の変異で、新しいことはあまり分らなかった。それでも、糖転移の基質

GDP-mannose をゴルジに取り入れるトランスポーター GMT の遺伝子 *VIG4* (*VRG4*) を取得し、その挙動を輸送の温度感受性株で止めるなどして解析した。すると、GMT は定常状態で *cis*-ゴルジに多く存在するが、いどは COPI 小胞に積込まれて小胞体に輸送され、直ちに COPII 小胞でゴルジに送られるということが分った [3]。その後、超高感度蛍光顕微鏡で観察した研究者により、ゴルジ体の成分が逆向きの小胞輸送により移動し、ゴルジは刻々その組成を変えて成熟し消滅する、動的コンパートメントであることが明らかにされた。

小胞輸送の制御に関わる低分子量 G タンパク質の解析で、そのひとつ Ypt11 が、一方でゴルジに結合した COPI コート成分の Ret2 と結合し、一方で Myo2 モータータンパク質と結合することにより、細胞内アクチンケーブルに沿って、母細胞のゴルジを娘細胞に運び込むという、世代間でのゴルジの効率的継承があることも明らかにした [4]。

小胞体離脱のためのアダプター

ゴルジの特定の成熟期にあるコンパートメントを、マーカー膜タンパク質の免疫吸着で細胞ライセートから精製し、構成膜タンパク質を解析したところ、*cis*-ゴルジの SNARE タンパク質 Sed5 をもつ小胞から新規 4 回膜貫通タンパク質 Svp26 を発見した。Svp26 は小胞体と *cis*-ゴルジを循環し、COPII 小胞中に効率よく濃縮された。破壊株では糖タンパク質に N 糖鎖が過剰付加し、ゴルジ糖転移酵素 Ktr3 が小胞体に蓄積するが、重篤な生育障害はなかった [5]。Ktr3 を手がかりに調べると、他にも Svp26 がないと小胞体からゴルジへの輸送が遅れる糖転移酵素があり、それらには Svp26 と結合するという共通性があった。COPII 小胞に積込まれる効率を測ると、Svp26 への依存性があり、Svp26 は一群の膜タンパク質と結合し COPII 小胞に積込む、搬出アダプターであることが分った [6]。

Svp26 に影響されない糖転移酵素 Ktr4 を調べると、膜タンパク質複合体 Erv41–Erv46 がアダプターとして働いていた。このようなことから、COPII 小胞に濃縮される膜タンパク質それぞれがなんらかのタンパク質の搬出アダプターとして働くと考えられ、多重欠損変異株を作って調べた。多重化につれ搬出の遅延が進み、8 重欠損では生育が温度感受性になり、特に Erv14 と Got1 が重要であった。タンパク質とアダプターが結合する特異性の決定機構はまだ分からない。

おわりに

小胞体から COPII 小胞が形成されてタンパク質の輸送が始まる機構は、今では教科書・参考書に記載されるほど広く認知された。小胞体のみが新生タンパク質を取り込む輸送体 Sec61 をもつから、すべての細胞内デリバリーは小胞体から始まると考えられている。しかし、Tail-anchor 型タンパク質のように別ルートで膜に挿入されるものがあり、小胞体とミトコンドリアをつなぐ ERMES 複合体の働きもまだあまり明確でないなど、細胞内デリバリーに関わる未解決問題はまだまだ残されている。今後更なる研究の発展が期待されるのである。

参考文献

- [1] Nakajima, et al. 1991 J Cell Biol 113: 245–260, [2] Noda, et al. 2007 J Cell Biochem 101: 686–694, [3] Abe, et al. 2004 J Cell Sci 117: 5687–5696, [4] Arai, et al. 2008 Curr Biol 18: 987–991, [5] Inadome, et al. 2005 Mol Cell Biol 25: 7696–7710, [6] Noda, et al. 2014 Biology Open 3: 209–224.