

Characterization of proteins in the Golgi apparatus in Tobacco (*Nicotiana tabacum*) BY-2 cell

刘, 建萍

<https://hdl.handle.net/2324/1544029>

出版情報 : Kyushu University, 2015, 博士 (農学), 課程博士
バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (3)



氏 名	刘 建萍		
論 文 名	Characterization of proteins in the Golgi apparatus in Tobacco (<i>Nicotiana tabacum</i>) BY-2 cell (タバコ (<i>Nicotiana tabacum</i>) BY-2 細胞のゴルジ装置に存在するタンパク質の性状解析)		
論文調査委員	主 査	九州大学	教授 松岡 健
	副 査	九州大学	教授 竹川 薫
	副 査	九州大学	准教授 熊丸敏博

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

真核生物の細胞においてゴルジ装置は、分泌経路と液胞・リソソームに至る経路の交差点であり、小胞体から合成された材料を受け取りそれらを加工した後に特定の宛先に仕分けする機能を持つ。ゴルジ装置の通過の過程で、タンパク質は糖鎖付加、硫酸化、タンパク質の限定分解等の翻訳後修飾を受ける。また植物においてゴルジ装置は、哺乳動物細胞と比較して、タンパク質の輸送と修飾より多糖類の分泌において大きな役割を果たしているとも考えられている。植物におけるゴルジ装置の機能はここ十年程度の間に詳しく研究されてきているが、この装置に存在する多くのタンパク質の性状解析は未だ十分になされているとはいえない。

本研究では、植物におけるゴルジ装置の機能を理解するために、タバコの培養細胞 BY-2 株を対象に、ゴルジ装置における 2 種のタンパク質の性状解析を進めた。一つは、新規な推定 S-アデノシルメチオニン (SAM) 依存性メチルトランスフェラーゼ (MT アーゼ) で、ゴルジ局在メチルトランスフェラーゼ 1 (GLMT1) と名付けたものである。GLMT1 は、短い N-末端領域、推定膜貫通領域および SAM-MT アーゼドメインを含む C-末端領域からなる構造をとり、611 個のアミノ酸残基から構成される。このタンパク質の細胞内局在を解析するために、単量体赤色蛍光タンパク質 (mRFP) との融合体を BY-2 細胞で発現させた。その結果、GLMT1 はゴルジ装置局在性タンパク質であることが、ゴルジ装置の各囊のマーカータンパク質との部分共局在として示されたが、全てのマーカーと完全に局在が一致はしなかった。プロテアーゼ消化による膜トポロジーの解析においては、C-末端触媒領域及び N-末端領域の両方が、ゴルジ装置の細胞質側に位置することが示唆された。このことは、GLMT1 は多くのゴルジ装置局在性の糖鎖合成関連酵素と異なり、II 型膜タンパク質では無いことを示唆していた。したがって、GLMT1 は、植物で以前に研究されてきた、ゴルジ内腔に活性部位をもつペクチンを基質とする II 型膜タンパク質である SAM-MT アーゼとは異なる機能を持つ可能性が考えられた。

もう一つの解析対象は、タバコの UDP-グルクロン酸デカルボキシラーゼ 3 (NtUDPGlcADCX3) である。このタンパク質は、シロイヌナズナの UXS1 と UXS2 タンパク質と同様に、単一の膜貫通と予測されるドメインを含む N 末端アミノ酸配列と、UDP-グルクロン酸デカルボキシラーゼ相同ドメインを持つ。すなわち NtUDPGlcADCX3 は GLMT1 と同様に、N-末端領域、推定膜貫通領域、および 2 つの推定基質結合部位と NAD 結合部位からなる C-末端側ドメインを持ち、446 個のアミノ酸残基からなるタンパク質である。NtUDPGlcADCX3 もまた、mRFP との融合体の BY-2 タバコ細胞での発現による解析から、ゴルジ装置、特にそのうち中間囊に局在することが見出された。また、プロテアーゼ

消化実験による膜トポロジーの解析結果は、NtUDPGlcADCX3 についてもⅡ型膜タンパク質ではないことが示唆された。

以上の結果から、植物のゴルジ装置には活性ドメインが細胞質に面した状態で存在する酵素が複数種存在する可能性が考えられた。また、植物におけるゴルジ装置内の各嚢は、異なる機能を有することも示唆された。

以上要するに、本論文は、植物のゴルジ装置に、細胞質側に活性ドメインを持つ酵素が複数種存在することを見出したものであり、その内容は、植物栄養学を含む基礎及び応用植物科学の発展に大きく寄与する価値ある業績と認める。よって本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有すると認める。