

トランスゴルジネットワーク及び分泌小胞塊に局在するタンパク質は、シヨ糖欠乏条件で分解される

小田, 大和人

<https://hdl.handle.net/2324/4110567>

出版情報：九州大学, 2020, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏 名 : 小田 大和人

論文題名 : トランスゴルジネットワーク及び分泌小胞塊に局在するタンパク質は、シヨ糖欠乏条件で分解される

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

植物の小胞輸送系は小胞体に始まり、中間に存在するゴルジ体、それに引き続くトランスゴルジネットワーク (TGN) を経由する。ゴルジ体では、小胞体上のリボソーム上で合成されたタンパク質の修飾や細胞壁多糖の合成が行われる。TGN はこれらが細胞壁や細胞膜、液胞へと、輸送・選別される際に分岐点となる非常に重要な細胞小器官である。TGN 以降の輸送系には、単独の輸送小胞のほか、分泌小胞塊 (SVC) が知られている。

SUT2 は、TGN に局在するタバコのシヨ糖輸送体である。シヨ糖欠乏条件にさらされた対数増殖期の BY-2 において、タバコ SUT2 量が著しく減少することが判明した。また、SNARE タンパク質であるタバコ SYP41 は TGN と SVC に局在するが、SUT2 と同様に、シヨ糖欠乏条件にさらされた対数増殖期の BY-2 において減少することが明らかとなった。さらに、通常の培地条件では SCAMP2-mRFP は TGN、SVC 及び細胞膜に局在するが、シヨ糖欠乏条件下においては、細胞膜上の SCAMP2-mRFP は分解されないものの、TGN 並びに SVC に局在する SCAMP2-mRFP は液胞で分解されることが判明した。このように、TGN や SVC に局在するタンパク質はシヨ糖欠乏条件で選択的に分解を受けることを明らかにした。

しかし、シヨ糖欠乏条件において、TGN そのものが分解されるか否かは不明であった。そこで、FM1-43 に BY-2 をさらし、共焦点蛍光顕微鏡観察を行うこととした。FM1-43 はエンドサイトーシス経路によって BY-2 内部に取り込まれ、取り込み開始から約 30 分後に TGN に到達する。このとき蛍光顕微鏡下において TGN は緑色のドット状構造として観察されることが報告されている。このドット状構造の数を解析したところ、シヨ糖存在条件、シヨ糖欠乏条件のいずれにおいても、30 個から 40 個のドット状構造が観察された。このことは、シヨ糖欠乏条件にさらされたとしても、TGN そのものは分解されないことを示していた。

以上のように、シヨ糖欠乏条件において TGN 自体は分解されないものの、TGN や SVC に局在するタンパク質は分解される。TGN や SVC にはタバコ SYP41 のように、輸送・選別や小胞膜の融合に深くかかわるタンパク質が存在する。それゆえに、TGN 上のタンパク質が分解されることは、シヨ糖欠乏条件において TGN の機能変化を引き起こし、輸送経路に変化をもたらす可能性を示唆している。

細胞壁は多種の多糖により構成されているが、重要な構成成分の一つにペクチンがある。ペクチンは、細胞壁のセルロース骨格を架橋し細胞壁を安定化させる役割を果たす。そこで、シヨ糖存在、シヨ糖欠乏条件の両条件におけるペクチンの細胞壁蓄積量や培地画分への蓄積量を解析した。シヨ糖存在条件では、細胞壁画分に蓄積したペクチン量は経時的に増加したものの、シヨ糖欠乏条件では、細胞壁に蓄積するペクチン量の増加は観察されなかった。培地画分に分泌されるペクチン量は、シヨ糖存在条件、欠乏条件のいずれにおいても変化しないことが判明した。3-Deoxy-D-manno-oct-2-ulosonic acid (KDO) は、ペクチンを構成する糖の一つである。そこで、KDO と KDO がアジド化された KDO-N₃ を用いてパルスチェイス解析を行った。KDO-N₃ は Cy3-alkyne

によるクリック反応を用いて可視化した。シヨ糖存在条件では、KDO によるチェイスの開始後、0 時間から 5 時間にかけて、ゆっくりとではあるが KDO-N₃ が細胞壁に蓄積していく様子が確認された。また 24 時間以内に KDO-N₃ は分解され KDO に置き換わった。その一方で、シヨ糖欠乏条件では、チェイス開始直後には細胞壁に KDO-N₃ が蓄積しており、4 時間以内にすべて KDO に置き換わった。以上のことから、シヨ糖欠乏条件では、ペクチンの合成速度および分解速度がともに増大し、釣り合うことによって、細胞壁にペクチンが蓄積しないと考えられた。

さらに、シヨ糖存在条件、シヨ糖欠乏条件の両条件において、細胞外へ輸送されることが明らかとなっている、細胞外分泌型スボラミンや、多糖分解酵素、糖エステルの分解酵素の分泌量を解析したところ、いずれの条件においてもこれらのタンパク質の分泌は抑制されないことが判明した。

以上の結果は、BY-2 細胞がシヨ糖欠乏にさらされた際、TGN および SVC の機能変化とともに輸送物質の変化を引き起こし、エネルギー欠乏に対応していることを示していた。