

## 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			
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	丸山明子

## 論文審査の結果の要旨

分泌系は小胞体に始まり、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) を経由して細胞膜、細胞外に至る輸送系である。ゴルジ体では、小胞体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細胞小器官である。植物細胞において、TGN 以降の輸送系としては、単独の輸送小胞を介するもののほか、分泌小胞塊 (SVC) によるものが知られている。

SUT2 は、TGN に局在するシヨ糖輸送体である。細胞培養の際の炭素源であるシヨ糖の欠乏条件にさらした対数増殖期のタバコ培養細胞 BY-2 株において、SUT2 量が著しく減少することが判明した。また、TGN と SVC に局在し、膜融合に関与する SNARE タンパク質の一つである SYP41 も、SUT2 と同様にシヨ糖欠乏条件において減少することを見出した。遺伝子導入により発現させた **Secretory carrier membrane protein 2** と単量体赤色蛍光タンパク質の融合体 (SCAMP2-mRFP) は、通常の培地条件においては TGN、SVC に点状の赤色蛍光として見出され、また細胞膜にも検出される。シヨ糖欠乏条件においては細胞膜上の赤色蛍光は消失しないものの細胞内の点状の赤色蛍光は消失し、一方、液胞中に赤色蛍光が認められるという結果が得られた。これらのことは、TGN や SVC に局在するタンパク質がシヨ糖欠乏条件で選択的に分解を受けることを示していた。

脂質蛍光プローブである FM1-43 はエンドサイトーシスによって BY-2 細胞に取り込まれ、取り込み開始から約 30 分後に TGN に到達することが報告されている。このとき蛍光顕微鏡下において TGN は緑色の点状構造として観察される。そこで FM1-43 を BY-2 細胞に取り込ませ、共焦点顕微鏡観察によりこの点状構造の数を検討したが、シヨ糖存在条件下とシヨ糖欠乏条件下において差は認められなかった。このことは、シヨ糖欠乏条件下においても、TGN そのものは消失しないことを示していた。

ゴルジ体で合成され分泌される細胞壁の主要多糖として、ペクチンが知られる。そこでシヨ糖存在とシヨ糖欠乏の両条件におけるペクチンの細胞壁と培地への蓄積量を検討した。シヨ糖存在条件下では、細胞壁面分のペクチン量は細胞の増殖に伴い増加したが、シヨ糖欠乏条件下では細胞壁のペクチン量は増加しなかった。また、培地に分泌されるペクチン量は、いずれの条件においても変化しなかった。ケト-デオキシオクツロン酸 (KDO) は、植物においてはペクチンに特異的に見出される糖酸である。そこで、KDO と KDO のアジド化誘導体 (KDO-N<sub>3</sub>) を用いて、ペクチンの合成と分解について解析を行った。シヨ糖存在条件下では、KDO-N<sub>3</sub> による 4 時間の標識の後には KDO-N<sub>3</sub> に由来するシグナルは細胞に検出されなかったが、KDO によるチェイス開始後 5 時間にかけて KDO-N<sub>3</sub> 由来のシグナルが細胞壁に検出されるようになり、その後 24 時間以内にこのシグナルは消失した。シヨ糖欠乏条件下では KDO-N<sub>3</sub> による 4 時間の標識後、細胞壁に KDO-N<sub>3</sub> のシグナル

が検出されたが、KDO によるチェイス開始後 5 時間以内にすべてのシグナルは消失した。以上のことから、ショ糖欠乏条件下では、ペクチンの合成と分解の速度がともに増大し、この速度が釣り合うことによって細胞壁ペクチンが増加しないと考えられた。また、ショ糖存在条件とショ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知られている多糖および糖エステルの加水分解酵素等の分泌量を解析し、いずれの条件においてもこれらの分泌は抑制されないことを見出した。

以上要するに、本研究は植物細胞の炭素源欠乏条件下において、TGN 等に存在するタンパク質は減少するがタンパク質の分泌には大きな変化は生じず、また細胞壁構成多糖のペクチンにおいては合成と分解が共に亢進する可能性を見出したものであり、植物分子細胞生物学の発展に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）の学位を得る資格があるものと認める。