

ゴルジ層板の集合と散在の分子機構

広島大学大学院統合生命科学研究科 B406 室
佐藤 明子

1. 背景

ゴルジ体は、膜タンパク質、分泌性タンパク質および脂質の翻訳後修飾および選別を担う細胞小器官である。小胞体(ER)で合成された積荷タンパク質はゴルジ体で修飾と選別を受け、最終目的地へと輸送される。出芽酵母を除くほとんどの生物では、ゴルジ体は扁平な袋状の膜嚢が積み重なったゴルジ層板を基本単位として存在しており、層板はシス嚢、メディアル嚢、トランス嚢に分かれている。また、ゴルジ層板のトランス面に付随した網状の膜構造はトランスゴルジ網(TGN)と呼ばれる。ERで合成されたタンパク質はゴルジ体のシス嚢に入り、タンパク質を乗せた嚢自身がシスからトランスへと成熟していくことで、積荷タンパク質の輸送が起こると考えられており、この仮説は槽成熟モデルと呼ばれている。その後、積み荷タンパク質はTGNで選別を受け、適切な膜へと輸送されると考えられている。一方、リサイクリングエンドソーム(RE)は、細胞内にエンドサイトーシスされた受容体や取り込み物質を再び細胞膜上へ戻す、リサイクリングに必要なオルガネラである。ゴルジ層板とREは通常、形態的・機能的に異なるオルガネラと考えられているが、私は以前、動物細胞でREマーカーとして知られているRab11が、ショウジョウバエの網膜においてゴルジ層板のトランス側に付着していることを報告していた(参考論文1)。そこで、本研究では、ハエおよび哺乳類培養細胞、さらにウニ幼生を用いて、ゴルジ層板とREの関係性を検討した。

2. 方法

本研究では、ゴルジ層板とREの関係性を共焦点レーザー顕微鏡・電子顕微鏡・ライブイメージングにより観察した。また、ドミナントネガティブタンパク質発現, RNAi, ゲノム編集を用いてARFGEF機能を改変し、ゴルジ層板とREの関係性に与える影響を解析した。

3. 結果

ハエおよび哺乳類培養細胞、さらにウニ幼生を用いて、上記方法によりゴルジ層板とREの関係性を調べた結果、ハエと哺乳類細胞、ウニ幼生においてREがゴルジ体のTGN近傍に付着しており、さらにREはゴルジ体付着型REと遊離型REの2種類の異なるパターンで存在することを明らかにした(発表論文1,2)。さらに、ゴルジ層板とREのライブイメージングの結果から、REがゴルジ層板に対して、付着と遊離を繰り返すことでゴルジ付

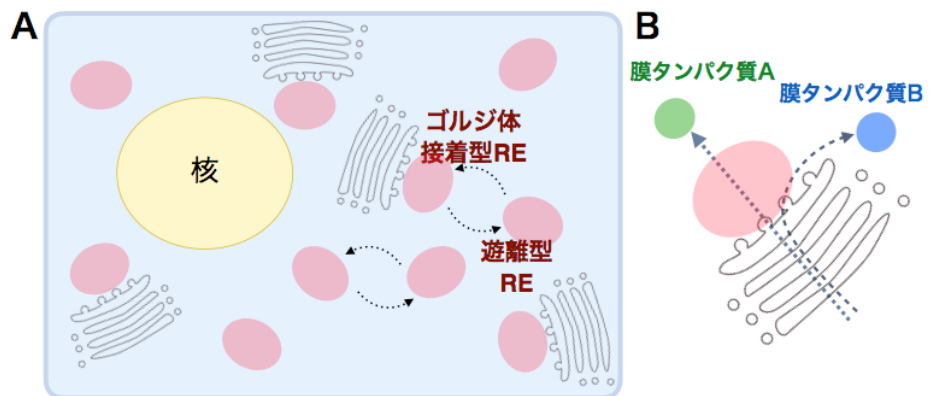


図1 ゴルジ体とREの関係

ゴルジ層板とREは各々グレーとピンクで表した。

A 1つの細胞内には多数のゴルジ体とREが存在する。REにはゴルジ体接着型REと遊離型REの2種類が存在しており、REはゴルジ体への接着と解離を繰り返している。また、RE同士も接着と解離を繰り返している。

B 小胞体からゴルジ体へ送られてきた膜タンパク質の一部のみ、ゴルジ体接着型REを経由して細胞膜へと輸送される。ここでは緑で示した膜タンパク質AはREを経由して、青で示した膜タンパク質BはREを経由しないで、細胞膜へと輸送されている。

着型 RE と遊離型 RE が生じること、また RE 同士も融合と分離を繰り返していることがわかった。植物細胞では、RE は定義づけられておらず、ゴルジ体の一部と考えられているトランスゴルジ網(TGN)がゴルジ層板のトランス側への接着と解離を繰り返していることが報告されている(参考文献 2)。今回発見した動物細胞における RE の挙動は、この植物細胞の TGN の挙動と一致しており、植物 TGN と動物 RE が同一細胞小器官である可能性を示唆している。今後、TGN と RE という細胞小器官のアイデンティティと、これらを指し示す用語の再定義が必要と考えられた。

さらに、新規に合成された膜タンパク質の輸送をライブイメージング観察したところ、限られた種類の膜タンパク質のみが、ゴルジ体から RE へと輸送されることを見出した。膜タンパク質や分泌タンパク質はゴルジ層板のトランス側で選別を受け、各々特異的な細胞小器官や細胞膜ドメインに輸送されることが知られている。RE のゴルジ層板のトランス側への付着が、少なくとも一部の膜タンパク質の選別に重要な役割を果たしていると考えられた。

また、ショウジョウバエの分散型ゴルジ層板/RE 同士が、トランス側で接着と分離を繰り返しながら活発に運動していることを見出した。ショウジョウバエ細胞を ARFGEF 阻害剤である Brefeldin A (BFA)で処理すると、ゴルジ層板/RE 同士の接着は正常に起こるが、分離が特異的に阻害された結果、ゴルジ層板が RE を中心として、シス、メディアル、トランス極性を保ったまま集合することを見出した(発表論文 3)。自然状態の哺乳類細胞では、ゴルジ層板と RE は共に微小管とモータータンパク質の機能により核周辺部に集積しているが、このようなシス-トランス極性をもったゴルジ層板/RE の集合体も、しばしば観察される(参考文献 3)。ショウジョウバエにおける BFA のターゲットをゲノム編集により探索した結果、ゴルジ層

板のトランス側でポストゴルジ小胞の形成に関わると考えられている Sec71 が BFA の唯一の標的であることがわかった。従って、ハエにおけるゴルジ層板の分離には Sec71 が必要であり、Sec71 欠損により哺乳類細胞のようにゴルジ層板が集合することがわかった。この発見は、動植物種で行っているゴルジ層板の分散型・集合型という 2 つの状態が、ゴルジ層板の接着と解離の活性のバランスによって決まっていることを示唆している。

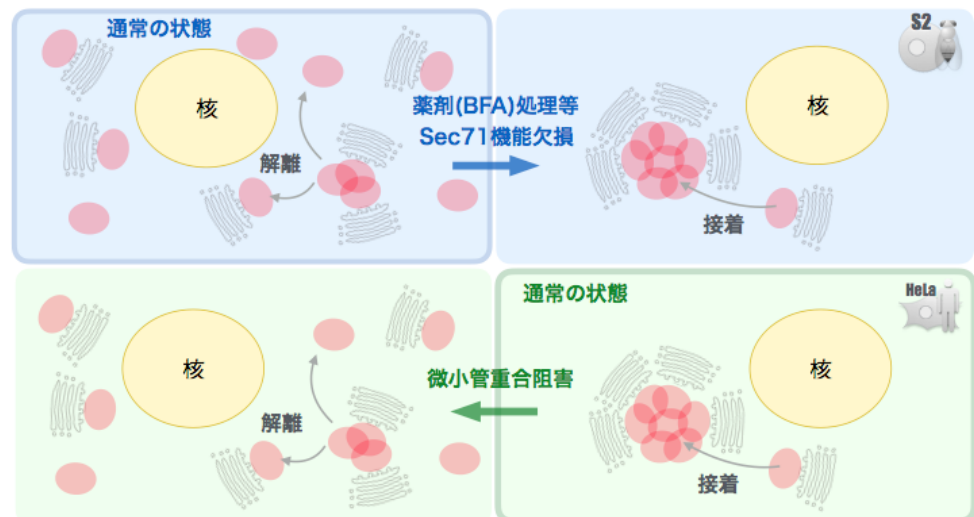


図2. ゴルジ層板/REの融合と分離のモデル

ゴルジ層板とREは各々グレーとピンクで表した。上の段はショウジョウバエ培養細胞(S2細胞)、下の段はヒト培養細胞(HeLa細胞)を示している。無処理のS2細胞では、ゴルジ層板/REは融合と分離を繰り返しながら細胞中に分散している。薬剤(BrefeldinA)を投与することでSec71の機能を欠損させると、ゴルジ層板/REの融合は正常だが、分離が阻害されることによりREを中心としてゴルジ層板/REが集合した。一方、ヒトなどの脊椎動物の細胞では、通常の状態ではゴルジ層板/REは核周辺部に集合している。微小管重合阻害剤を投与するとゴルジ層板/REが細胞質中に分散することが知られている。

4. 考察 まとめ

本研究で見出した、REとゴルジ層板の接着と解離と、ゴルジ層板同士のトランス側での接着と解離は、ライブイメージング観察を行った顕微鏡が異なっており、タイムスケールが異なるが、同一の現象と考えている。つまり、ゴルジ層板同士のトランス側での接着と解離は、RE同士、もしくはREとゴルジ層板の接着が基盤となっているだろう。この考えが正しければ、ショウジョウバエではSec71、哺乳類ではBIG1,2 の欠損により、REがゴルジ層板のトランス側に付着したまま、解離しなくなることが予測される。本研究では細胞膜に輸送される積荷タンパク質の一部がゴルジ付着型REを経由して細胞膜に輸送されることを示したが、この過程がSec71またはBIG1,2 の欠損により阻害されるかを検討することが今後の課題と考えられる。

5. 参考論文・本助成金による発表論文

参考論文

1. Satoh A. K., O'Tousa, J. E., Ozaki, K. and Ready, D. F. (2005). Rab11 mediates post-Golgi trafficking of rhodopsin to the photosensitive apical membrane of *Drosophila* photoreceptors. *Development* 132, 1487-1497. doi:10.1242/dev. 01704
2. Misaki, R., Uemura, T. and Nakano, A. (2013). Plant TGNs: dynamics and physiological functions. *Histochem. Cell Biol.* 140, 341-345. doi:10.1007/s00418-013-1116-7
3. Misaki, R., Morimatsu, M., Uemura, T., Waguri, S., Miyoshi, E., Taniguchi, N., Matsuda, M. and Taguchi, T. (2010). Palmitoylated Ras proteins traffic through recycling endosomes to the plasma membrane during exocytosis. *J. Cell Biol.* 191, 23-29. doi:10.1083/jcb.200911143

本助成金による発表論文

1. Fujii S., Kurokawa K., Inaba R., Hiramatsu N., Tago T., Nakamura Y., Nakano A., Satoh T. and Satoh A. K. Recycling endosomes are attached to trans-side of Golgi units both in *Drosophila* and mammalian cells. *Journal of Cell Science*, 133: jcs236935, 2020.
2. Fujii S., Tago T., Sakamoto N., Yamamoto T., Satoh T and Satoh A. K. Recycling endosomes are attached to trans-side of Golgi stacks in sea urchin embryos. *Communication and Integrated Biology*, 13: 59-62, 2020.
3. Fujii S., Kurokawa K., Tago T., Inaba R., Takiguchi A., Nakano A., Satoh T. and Satoh A. K. Sec71 separates Golgi stacks in *Drosophila* S2 cells. *Journal of Cell Science*, 133: jcs245571, 2020.