

京都大学	博士 (理 学)	氏名	高木 純平
論文題目	植物における小胞体—ゴルジ体間のタンパク質輸送機構		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>真核生物の細胞内には、膜によって囲まれた小区画 (オルガネラ) が多数存在する。オルガネラの恒常性の維持に重要な役割を果たすのが、小胞輸送を中心とするタンパク質輸送システム、メンブレントラフィック (膜交通) である。植物の細胞内膜系の特徴として、ゴルジ体が細胞質中に点在しており、細胞内を流動していることが挙げられる。本研究では、植物において小胞体—ゴルジ体間の細胞内タンパク質輸送機構を明らかにするために、正遺伝学的手法を用いて解析を行った。</p> <p>種子は、登熟期という限られた期間に、小胞体で大量の種子貯蔵タンパク質前駆体を合成し、タンパク質蓄積型液胞へと輸送する。液胞において種子貯蔵タンパク質前駆体は液胞プロセシング酵素によってプロセシングを受け、成熟型へと変換される。貯蔵タンパク質の液胞輸送に異常のある変異体では、貯蔵タンパク質は液胞へ到達できないため、プロセシングを受けられず前駆体のまま蓄積することになる。この考えをもとに、貯蔵タンパク質前駆体の蓄積を指標として、液胞輸送変異体が8系統単離され <i>maigo1</i> ~ <i>maigo8</i> (<i>mag1</i> ~ <i>mag8</i>) 変異体と名付けられた。</p> <p><i>mag3</i> 変異体と <i>mag5</i> 変異体種子では、主要貯蔵タンパク質 2S アルブミンと 12S グロブリンの両方の前駆体が異常に蓄積していただけでなく、これらの前駆体は小胞体から出ることができずに、異常な構造体となって蓄積していた。このことから、<i>mag3</i> 変異体と <i>mag5</i> 変異体では小胞体—ゴルジ体間のタンパク質輸送が異常になっていることが示唆された。</p> <p><i>MAG5</i> がコードするタンパク質は、酵母やヒトの <i>Sec16</i> のホモログであった。<i>Sec16</i> は、小胞体からゴルジ体への輸送に関わる coat protein complex II (COPII) 小胞の出芽に関わる因子であるが、植物における知見は乏しい。解析の結果、<i>MAG5</i> は COPII コートタンパク質よりも安定に ERES に局在し、COPII コートタンパク質と相互作用することが判明した。さらに、<i>MAG5</i> の欠損によって、ERES における COPII コートタンパク質のターンオーバーが早くなることが明らかになった。以上の結果から、<i>MAG5</i> は ERES において COPII コートを安定化することにより、小胞体からの効率的なタンパク質の搬出を担っていることが示唆された。</p> <p>シロイヌナズナのゲノム上には、<i>MAG5</i> のホモログ <i>SEC16B</i> が存在していた。<i>SEC16B</i> は <i>mag5</i> 変異体の表現型を相補できたことから、<i>MAG5</i> と <i>SEC16B</i> は非常によく似た機能を持っていると考えられる。しかし、<i>sec16b</i> 変異体は貯蔵タンパク質の輸送に異常を示さなかった。以上の結果から、<i>MAG5</i> と <i>SEC16B</i> は冗長的に機能し、組織や器官によって使い分けられている可能性が示唆された。</p> <p>一方、<i>MAG3</i> は、膜貫通領域を持つ、コイルドコイルタンパク質であった。解析の結果、<i>MAG3</i> は小胞体膜上のリング状の構造体に局在しており、膜貫通領域が機能に重要であることが判明した。小胞体に局在する繫留因子としては既に <i>MAG2</i> 複合体が明らかにされているが、<i>MAG2</i> 複合体に <i>MAG3</i> は含まれておらず、また、<i>MAG2</i> 複合体は小胞体膜上に一様に局在することから、<i>MAG3</i> は <i>MAG2</i> 複合体とは独立に機能していることが示唆される。本研究で同定された <i>MAG5</i> と <i>MAG3</i> の 2 つの因子の解析によって、小胞体—ゴルジ体間の新たなタンパク質輸送機構が明らかになると同時に、植物における ERES とゴルジ体の関わりについて新しい視点を提供した。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

高木純平氏が注目した小胞体とゴルジ体は、真核細胞の内膜系を構成する重要な構造体である。真核生物は、小胞輸送による物質の流れを介して生命の基本単位である細胞の恒常性の維持を行っている。この小胞輸送を担っているのが、細胞内膜系であり、小胞体、ゴルジ体、トランスゴルジ網、液胞、原形質膜、エンドソームなどの外、これらの構造体間を行き来する輸送小胞から構成される。これらは真核細胞に共通のものであるが、植物細胞に際立った特徴として、細胞質ゾル中におけるゴルジ体の分散がある。本論文では、この特徴に焦点を絞り、植物特有の小胞体-ゴルジ体間の輸送機構を明らかにすることを目的としている。

高木氏は、モデル植物シロイヌナズナの分子遺伝学的手法を用いて、植物の小胞体-ゴルジ体間のタンパク質輸送に異常をもつ変異体を2系統単離し、それらを *maigo3 (mag3)* と *maigo5 (mag5)* と命名した。高木氏は、これらの変異の原因となる遺伝子 (*MAG3* と *MAG5*) の同定と変異体の詳細な解析から下記のような興味深い結果を得ている。

MAG5 タンパク質は、酵母や動物で知られている *Sec16* の機能的オーソログであることが初めて示された。*Sec16* は、小胞体からゴルジ体へのタンパク質輸送に関わる coat protein complex II (COPII) 小胞の出芽に関わる因子であることから、植物特有の小胞体-ゴルジ体間の輸送機構解明の重要な鍵因子が初めて単離できたといえる。*MAG5* の機能解析の結果、*MAG5* は、COPII 小胞が形成される小胞体膜上のドメイン endoplasmic reticulum exit site (ERES) に安定に局在していること、また、COPII 小胞のコートタンパク質である *SEC13* や *SEC31* と物理的に相互作用をすることを証明している。細胞内の膜系の動態解析の結果、*MAG5* が欠損が、COPII 構成因子である *SEC24* や *SEC13* が ERES から解離しやすくすることを示すことにも成功している。以上の結果から、*MAG5* は ERES において COPII 構成因子のターンオーバーを制御することで、COPII コートを安定化し、適切な COPII 小胞形成を、ひいては小胞体からゴルジ体への効率的なタンパク質輸送を担うという機能モデルが提示された。

これまでこの研究分野では、蛍光タンパク質ラベルした COPII 小胞構成因子が、ERES マーカーとして用いられてきた。しかし、これらの COPII 小胞構成因子は、単に小胞体から出芽した COPII 小胞をラベルしているだけであり、小胞体膜上のドメインである真の ERES を直接ラベルしているのではないという指摘がなされてきた。FRAP 解析の結果、*MAG5* は COPII 小胞構成因子とは異なる動態を示したことから、*MAG5* が、COPII とは独立に ERES に局在する因子であることが示された。小胞体膜上の ERES の理想的なマーカーを確立した点でも、本研究は高く評価された。

本研究は、植物細胞の謎であった小胞体-ゴルジ体間の細胞内輸送機構を明らかにしたもので、この分野の研究に新しい視点を与えたものとして高く評価された。本論文の内容の一部は、植物科学の有力国際学術誌の一つである *The Plant Cell* 誌に掲載された。高木純平氏が実施した研究の質は高く、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成26年1月30日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った。その結果合格と認めた。