ロテアソームの機能解析がブレークスルーとなり、植物のもつ優れた環境適応能力の実態が明らかになることが期待される。

- 1) D. Voges, P. Zwickl & W. Baumeister: *Annu. Rev. Biochem.*, **68**, 1015 (1999).
- 2) S. Bar-Nun & M. H. Glickman: *Biochim Biophys Acta.*, **1823**, 67 (2012).
- 3) R. Verma, L. Aravind, R. Oania, W. H. McDonald, J. R. Yates III, E. V. Koonin & R. J. Deshaies: *Science*, **298**, 611

(2002).

- 4) T. Yao & R. E. Cohen: *Nature*, **26**, 403 (2002).
- 5) R. D. Vierstra: *Nature Rev. Mol. Cell Biol.*, **10**, 385 (2009).
- 6) Y. Sonoda, K. Sako, Y. Maki, N. Yamazaki, H. Yamamoto, A. Ikeda & J. Yamaguchi: *Plant J.*, **60**, 68 (2009).
- 7) I. C. Weaver, N. Cervoni, F. A. Champagne, A. C. D'Alessio, S. Sharma, J. R. Seckl, S. Dymov, M. Szyf & M. J. Meaney: *Nature Neurosci.*, **7**, 847 (2004).

(佐古香織, 北海道大学大学院理学研究院)

オルガネラ膜融合の *in vitro* 完全再構成 SNARE シャペロン複合体が膜融合の中心的な機構であることを証明

出芽酵母をはじめとする単細胞生物からヒトなどの高等動物に至るまで、すべての真核細胞は、形態的にも生理機能的にも多種多様な細胞内小器官「オルガネラ」をもつ。個々のオルガネラは、特有の脂質組成から構成される脂質二重膜に囲まれ、特異的で多様な膜タンパク質群が存在する。今回取り上げる「オルガネラ膜融合」は、小胞輸送などの細胞内膜交通（メンブレントラフィック）やオルガネラ形成・継承に必須の過程であり、細胞の生育に必要な生体反応である。たとえば、シナプス伝達、ホルモン分泌、そしてエンドサイトーシス・エキソサイトーシスなどはすべて膜融合が必要となる細胞内膜交通の一つである。ここでは、これまで主に遺伝学・細胞生物学・生化学的手法で同定されてきた、SNARE タンパク質 (soluble *N*-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor) などの膜融合の必須因子について概説し、*in vitro* 完全再構成系による近年の膜融合研究の進展について紹介する。

真核細胞の「膜融合」研究は、1980年代から、NovickとSchekmanらによる出芽酵母温度感受性 *sec* 変異株スクリーニングなどの遺伝学的解析や、BalchとRothmanらによる哺乳動物ゴルジ体間膜輸送アッセイをはじめとした生化学的解析により大きく進展し、これまでに数多くの必須タンパク質因子が同定されてきた⁽¹⁾。その中でもSNAREタンパク質は、膜融合をひき起こす上で最も重要な分子であり⁽²⁾、SNAREの特異的シャペロンタンパク質であるNSF (*N*-ethylmaleimide sensitive factor), α -SNAP (soluble NSF attachment protein), そしてSM (Sec1/Munc18) タンパク質は、SNAREタンパク質複合体の解離会合を制御すると考え

られている⁽³⁾。近年、さらに上記のようなタンパク質因子群に加え、ホスホイノシチド (イノシトールリン脂質)、ステロール、ジアシルグリセロール、ホスファチジン酸などの脂質が、膜融合で重要な役割を果たしていることが明らかになってきている⁽⁴⁾。

Rothmanらは、1993年にSNAREを発見し⁽²⁾、1998年には、精製SNAREタンパク質と人工脂質二重膜リポソームから、SNARE依存性プロテオリポソーム膜融合を*in vitro*で完全再構成することに初めて成功した⁽⁵⁾。シナプス伝達に関わるQ-SNAREタンパク質 (t-SNARE) とR-SNAREタンパク質 (v-SNARE) を別々のリポソームに再構成し、リポソームの脂質は、ホスファチジルコリン (PC) とホスファチジルセリン (PS) のシンプルな脂質組成を用いた。これらのQ-SNAREプロテオリポソームとR-SNAREプロテオリポソームは、他の膜融合因子の非存在下にもかかわらず、トランスSNARE複合体の形成を介して、自発的な膜融合をひき起こした。この結果により、「SNAREタンパク質は膜融合に必須かつ十分であり、膜融合の分子マシナリーそのものである」という考えが広く受け入れられた。

しかし一方で、遺伝学・細胞生物学的手法の*in vivo*研究や、単離オルガネラを用いた*in vitro*研究では、SNARE以外の他の膜融合因子群の重要性も数多く報告されてきた⁽³⁾。このように、実験手法の違いで大きな結論のギャップが存在する中、酵母液胞 (動物細胞のリソソームに相当するオルガネラ) をモデルに、90年代より膜融合研究を進めてきたWicknerらは、SNAREだけでなく他のタンパク質因子や脂質因子も含んだ、より生理的条件に近い再構成プロテオリポソーム系の構築を試

図1 ■ 酵母液胞オルガネラ膜融合の*in vitro*完全再構成
SNARE, SNARE シャペロン複合体 (Sec17p/Sec18p/ATP 複合体とHOPS複合体), およびホスホイノシチドを含む生理的脂質組成に依存した再構成SNAREプロテオリボソーム膜融合

みてきた。そして2008年に、従来からのSNAREタンパク質に加えて、2種類のSNARE シャペロン複合体

(NSF/SNAPのホモログであるSec17p/Sec18p/ATP複合体, およびSMタンパク質を含む HOPS (homotypic fusion and vacuole protein sorting) 複合体) が存在し、ホスホイノシチドを含む実際のオルガネラ膜を真似た生理的脂質組成を用いた, 新たな再構成SNAREプロテオリボソーム系を報告した⁽⁶⁾ (図1)。この*in vitro*完全再構成系では, これまでの単純で非生理的な脂質組成(PC/PS)では得られなかった, SNARE シャペロン複合体に依存した効率的なプロテオリボソーム膜融合が観測された。この成果によって, SNAREのみならずSNARE シャペロン複合体も, 膜融合におけるコアマシナリーであることが実証され, さらに複雑な生理的脂質組成が, SNARE シャペロン群の機能発現に非常に重要であることも初めて明らかとなった (図1)。

SNARE, SNARE シャペロン, 生理的脂質組成を含む, この酵母液胞オルガネラ膜融合の*in vitro*完全再構成系は, 多種類の膜タンパク質の精製を必要とするなど, 技術的に非常に挑戦的であるが, 他の実験手法では得られない新たな知見を多く生み出した。現在では, WicknerらやZerialらから, さらにRab GTPaseを加えた*in vitro*完全再構成系も報告されている^(4,7)。今後, 生理的環境を再現した多くの再構成系が構築され, 細胞内オルガネラ膜動態の精密な理解に向け, さらなるブレイクスルーが生まれることが期待される。

- 1) J. S. Bonifacino & B. S. Glick: *Cell*, **116**, 153 (2004).
- 2) R. Jahn & R. H. Scheller: *Nature Rev. Mol. Cell Biol.*, **7**, 631 (2006).
- 3) W. Wickner & R. Schekman: *Nature Struct. Mol. Biol.*, **15**, 658 (2008).
- 4) W. Wickner: *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **26**, 115 (2010).
- 5) T. Weber, B. V. Zemelman, J. A. McNew, B. Westermann, M. Gmachl, F. Parlati, T. H. Söllner & J. E. Rothman: *Cell*, **92**, 759 (1998).
- 6) J. Mima, C. M. Hickey, H. Xu, Y. Jun & W. Wickner: *EMBO J.*, **27**, 2031 (2008).
- 7) T. Ohya, M. Miaczynska, U. Coskun, B. Lommer, A. Runge, D. Drechsel, Y. Kalaidzidis & M. Zerial: *Nature*, **459**, 1091 (2009).

(三間穰治, 大阪大学蛋白質研究所)