生細胞における膜交通のダイナミクス

中野明彦

東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻 〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1
理化学研究所 基幹研究所 中野生体膜研究室 〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1

Dynamics of Membrane Traffic in Living Cells

Akihiko Nakano

Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo
Molecular Membrane Biology Laboratory, RIKEN Advanced Science Institute

昨年5月13日に行われた日本膜学会第32年会において、特別講演として標記の演題で話をさせていただいた。その講演に用いたスライドの一部を収録することで、講演録に代えさせていただきたい。

生体膜は、生命の基本単位である細胞が自らの生命活動の空間を外界と仕切るための境界であり、またそれ自身がさまざまな反応の場でもある。真核生物では、さらに細胞内に生体膜で仕切られたさまざまな小区画（細胞小器官）を分化させ、それぞれ固有の生化学反応の効率を極限にまで高めている。

これらの細胞小器官の多くは、もともと細胞膜が陥入して生じたことに由来する単膜系の構造であり、相互に小胞や細管の連絡によって物質を輸送、交換することが可能である。この過程を小胞輸送あるいは膜交通と呼ぶ (Fig. 1)。膜交通は、分泌経路、リソソーム／液胞経路、エンドサイトーシス経路といった主要な経路が複雑に絡み合って構成され、またその輸送の過程は非常にダイナミックかつ精巧なものである。多くの過程で交通は双方向性であるが、個々の細胞小器官の特異性と自律性を保つため、輸送されるタンパク質は厳密な選別を受け、正しい局在性を保つメカニズムが何重にも施されている。

私たちは、これらの膜交通の過程で、輸送されるタンパク質が、細胞小器官に留まるタンパク質とどのように選別されるのか、その分子機構を明らかに

するため、主に酵母を用いて遺伝学および生化学的な研究を行い、さまざまな分子装置の機能を明らかにしてきた。例えば、膜交通の個々のステップに固有の低分子量GTPaseが機能することが明らかになり (Fig. 2)、とくに小胞体からゴルジ体行きのCOPII小胞の形成に必須なSar1 GTPaseについて詳細な解析を進めてきている (Fig. 3, 4)^{1,2)}。

さらに、その作用機作を詳細に明らかにする目的と、遺伝学・生化学だけでは解くことのできない問題にアプローチするために、新しいライブイメージングの方法論を開発してきた。その一例として、ゴルジ体に関する論争について紹介する。ゴルジ体の中を積荷タンパク質がどのように輸送されていくかについて、1990年ころから世界を二分する大論争が続いていた (Fig. 5)。2つのモデルがあり、小胞輸送モデルでは、ゴルジ槽は安定な区画であり、その間を積荷タンパク質が小胞に乗って前進していくと考える。もう1つの槽成熟モデルでは、ゴルジ体のシス側に新たな槽が形成され、これが時間と共に性質をトランスに変えていくと考える。積荷は槽の中でじっとしていればよく、一方性質を変えるためにゴルジ酵素などがトランス側からシス側に逆行輸送すると考える。この問題について、出芽酵母を材料に用い、ライブイメージングによって槽成熟モデルを全面的に支持する結果を得た (Fig. 6)³⁾。この過程で、超高感度高速レーザー共焦点顕微鏡 (Fig. 7) の開発を行い、その成果として、きわめて高い時空間分解能を達成した (Fig. 8)。3D動画により、ゴルジ体の槽が時間と共に変化していくことを明確に示し、大

論争に一つの決着をもたらした (Fig. 9~11)^{3,4)}.

一方で、このような細胞内での膜交通の選別輸送過程は、多細胞生物におけるさまざまな高次生命機能に必須の役割を果たしていることが明らかになりつつある。神経活動や免疫など、分化した膜交通そのものが高次機能に必須である場合もあれば、細胞極性の確立と維持など、生物の発生、形態形成に広く関与する働きもある。私たちは、モデル植物シロイヌナズナを研究材料に用い、発生における膜交通の役割を解明しようという研究も続けている。動物とは大きく異なる進化を遂げた植物は、基本的には真核生物共通の分子機構を保存しながら、植物独自の戦略も獲得し、これがまた生命活動における膜交通の役割を考える上で大きなヒントを与えてくれている。例えば、上記のゴルジ体の体制についても、酵母と動物と植物では大きく異なっている (Fig. 12~16)^{4,5)}.

ゴルジ体がどのように形成されるかを理解するために、酵母の小胞体から積荷が運び出される部位 (小胞体出口) とゴルジ体との関係を詳細に調べたところ、ゴルジ体のシス槽は、小胞体出口の直下に形成されることが多いことが明らかになった (Fig. 17, 18). また小胞体出口そのもののダイナミクスもライブイメージングによって詳しく観察した (Fig. 19). 一方、ゴルジ体からその先の目的地へどのように積荷タンパク質が運び出されるのかを調べるために、酵母のゴルジ体とトランスゴルジ網との関係を詳細に調べた (Fig. 20). ここでもライブイメージングの方法論はきわめて有効であった。

本特別講演で紹介した仕事は、主に理研中野生体膜研究室で行われたものであり、佐藤 健氏 (現東大総合文化)、松浦 (時田) 公美氏 (現九大医)、黒川量雄氏、須田恭之氏およびその他のメンバーに感謝します。

動画については、次のホームページをご覧ください。

<http://www.biol.s.u-tokyo.ac.jp/users/hasseipl/HP/japanese/video/index.html>

文 献

- 1) Sato K, Nakano A : *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **12**, 167-174 (2005)
- 2) Sato K, Nakano A : *FEBS Lett.*, **581**, 2076-2082 (2007)
- 3) Matsuura-Tokita K, Takeuchi M, Ichihara A, Mikuriya K, Nakano A : *Nature*, **441**, 1007-1010 (2006)
- 4) Nakano A, Luini A : *Curr. Opin. Cell Biol.*, **22**, 471-478 (2010)
- 5) Glick BS, Nakano A : *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **24**, 113-132 (2009)

出典) Fig13. 20 Glick and Nakano (2009) *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, **25**: 113-32

(Received 16 May 2011; Accepted 24 May 2011)

<編集担当: 原 諭吉>

著者略歴

中野 明彦 (なかの あきひこ)

学歴

1975年 東京大学 理学部 生物化学科 卒業

1980年 東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻博士課程 修了 (理学博士)

職歴

1980~1986年 国立予防衛生研究所 化学部 研究員

1984~1986年 米国カリフォルニア大学バークレイ校 博士研究員

1986~1988年 国立予防衛生研究所 化学部 主任研究官

1988~1991年 東京大学理学部生物学科 講師

1991~1997年 東京大学理学部生物学科 助教授

1997~現在 理化学研究所中野生体膜研究室 主任研究員

2003~現在 東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻教授

受賞

2000年 井上学術賞

2008年 産学官連携功労者表彰・日本学術会議会長賞

Fig. 1 Scheme of intracellular membrane traffic (vesicular transport).

Fig. 2 Two families of small GTPases regulate membrane trafficking.

Fig. 3 Concept of protein sorting: between the endoplasmic reticulum (ER) and the Golgi apparatus for example.

Fig. 4 Roles of GTP hydrolysis by Sar1: proof-reading of cargo selection and removal of COPII coat.

Fig. 5 Two models of protein transport within the Golgi apparatus: vesicular transport model (left) and cisternal maturation model (right).

Fig. 6 Live imaging of budding yeast demonstrates cisternal maturation.

Fig. 7 High-speed and high-sensitivity confocal laser scanning microscope developed by a support of a NEDO project.

Fig. 8 High spatial resolution achieved by oversampling and deconvolution. Vesicles and tubules of 50~60 nm diameter that connect Golgi cisternae are clearly observed.

Fig. 9 4D movie showing cisternal maturation of yeast Golgi. Medial and trans cisternae are visualized by red and green fluorescent proteins. A network structure in a mosaic of red and green (arrowhead) turns full green over time (also see the webpage of the Nakano laboratory). A complex structure as shown in the right, which was not observable without electron microscopy before, is now vividly seen in living cells.

Fig. 10 Selected frames from the movie of Fig. 9. Numbers indicate time in seconds.

Fig. 11 Model of cisternal maturation we propose from the live imaging results. Not only the change of cisternal properties but also dynamic mixing and re-segregation of membrane domains are going on.

Fig. 12 Cellular organization of the Golgi apparatus is different even in budding yeast species.

Fig. 13 Organization of the Golgi apparatus in higher animals (left) and higher plants (right).

Fig. 14 Model plant *Arabidopsis thaliana*. The Golgi apparatus can be visualized in a variety of tissues and organs in a transgenic plant.

Fig. 15 The Golgi apparatus in epidermal cells of *Arabidopsis* root. When cis and trans cisternae are marked green and red, respectively, individual Golgi stacks are seen in a green-yellow-red sandwich structure.

Fig. 16 The Golgi apparatus in epidermal cells of *Arabidopsis* root. Two neighboring Golgi stacks are connected by a tubular network.

Fig. 17 cis Cisternae of the Golgi are formed from ER-derived COPII vesicles.

Fig. 18 cis Cisternae of the Golgi are often located in the vicinity of the ER exit sites (ERES).

Fig. 19 Dynamics of the ERES. They repeat expanding and shrinking depending on the balance of cargo accumulation and vesicle budding.

Fig. 20 Post-Golgi traffic. The trans-Golgi network (TGN) is located at the intersection of exocytic and endocytic pathways and plays a pivotal role as a platform of protein sorting.