ミニレビュー

単細胞藻類を用いたゴルジ体系の解析

- Brefeldin A がゴルジ体系に及ぼす影響 -

野口 哲子

奈良女子大学理学部生物科学科 (〒630-8506 奈良市北魚屋西町)

Insights into the Golgi apparatus through unicellular algae

- Effects of brefeldin A on the Golgi apparatus -

Tetsuko Noguchi

Department of Biological Science, Nara Women's University

Nara 630-8506, Japan

要旨：ゴルジ体から小胞体系（ER 系）への逆行輸送が植物細胞でも存在する証拠を得る目的で、ER 系とゴルジ体が近接している藻類細胞二種（単細胞緑藻 *Scenedesmus acutus* と *Botryococcus braunii*）を用い、brefeldin A (BFA)がゴルジ体と ER 系の微細構造に及ぼす影響および BFA 処理によってゴルジ体標識酵素のチアミンピロフォスファターゼが ER 系に移行するか否かを細胞周期のいろいろな時期について調べた。その結果、BFA によって誘導されるゴルジ体から ER 系への逆行輸送は哺乳類の細胞だけに特有な現象ではなく、植物細胞にも共通の現象であることが示唆された。この逆行輸送は、二種の藻類ともに、間期の細胞では誘導されたが、分裂期の細胞では誘導されなかった。更に、この逆行輸送にはアクチンフィラメント系が関与し、微小管系が関与している哺乳類の細胞とは異なる機構であることが判った。

Summary : The effects of brefeldin A (BFA) on the structure of the Golgi apparatus and the endoplasmic reticulum (ER) and on the thiamine pyrophosphatase activity in these organelles in two green algae, *Scenedesmus acutus* and *Botryococcus braunii*, were examined at various stages of the cell cycle, to obtain evidence for the existence of a retrograde transport from the Golgi bodies to the ER. The results demonstrated that a BFA-induced retrograde transport from the Golgi bodies to the ER occurred not only in mammalian cells but also in plant cells. In these two algae, the retrograde transport in the presence of BFA occurred in the interphase cells but not in dividing cells. We further investigated which cytoskeleton participated in this BFA-induced retrograde transport in *S. acutus*. The results demonstrate that actin filaments directly mediate the BFA-induced retrograde transport of vesicles. This mechanism differs from that found in mammalian cells, in which microtubules mediate BFA-induced retrograde transport.

Key words : *Botryococcus*, brefeldin A, Golgi apparatus, retrograde transport, *Scenedesmus*

1. はじめに

核、ミトコンドリア、葉緑体等のタンパク質はリボソーム上で合成され、直接各オルガネラに移行する（図 1）。これに対し、原形質膜、液胞・リソソーム系のタンパク質や分泌タンパク質の場合、リボソームは翻訳開始直後の mRNA と共に小胞体（ER）に移行し、ER 上でポリペプチド合成を行う。合成されたポリペプチドは ER 内腔に隔離され、糖鎖を付加された後、輸送小胞でゴルジ体に運ばれ、各シスターネ内で糖鎖のプロセッシングを受けながらゴルジ体の *cis* 側から *trans* 側に移行する。更に、*trans*-ゴルジネットワーク（TGN）で選別されて種々の小胞に取り込まれ、目的部位に運ばれる。タンパク質は各膜区画の間を膜小胞に詰め込まれた状態で輸送されるため、この輸送を小胞輸送という。ゴルジ体はこの小胞輸送の中心となるオルガネラである。藻類・植物細胞では、ゴルジ体は細胞壁物質や粘液等の多糖を合成する場としても重要である。

上に述べた小胞輸送経路は順行輸送と呼ばれる。これに対し、特定の膜区画の間では逆向きの小胞輸送も行われており、逆行輸送と呼ばれる。原形質膜から TGN への逆行輸送は古くから知られている。本総説では、ゴルジ体から ER への逆行輸送（図 1. 太い破線）の発見について概説し、藻類・植物細胞におけるこの逆行輸送を探索する目的で我々が行った研究を紹介する。

2. 動物細胞では brefeldin A が小胞輸送の研究を飛躍的に進めたが、植物細胞では？

小胞輸送を研究する手段として、種々の阻害剤を用いて小胞輸送の特定の過程を阻害し、その機構を解析する方法がある。例えば、cytochalasin B や nocodazole 等を用いて小胞移動のレールとなる細胞骨格系を特定する方法等である。しかし、ゴルジ体に直接作用する有効な薬剤は少なく、ゴルジ体シスターネ内の H^+ 勾配を破壊する Na^+ や K^+ のイオノフォアである monensin が注目されていた程度であった。1986 年に、池原らのグループは rat hepatocytes の培養細胞で、brefeldin A (BFA, 図 2) が分泌タンパク質の ER からゴルジ体への輸送を可逆的に阻害し (Misumi et al. 1986)、ゴルジ体の標識酵素が ER に移行することを報告した (Fujiwara et al. 1988)。

この日本の科学者の発見は小胞輸送を研究する者にとって大変魅力的であった。それは、BFA は即効性でかつ可逆的に作用し、またゴルジ体のダイナミックな形態変化を引き起こす薬剤だったからである。翌年、アメリカの若手女性科学者 Lippincott-Schwartz らは (Lippincott-Schwartz et al. 1989)、BFA 処理によってゴルジ体が消失し、ゴルジ体内の酵素が ER に移行する現象から、ER とゴルジ体の間には ER からゴルジ体への順行輸送に加えて、ゴルジ体から ER への逆行輸送も存在するという新しい考えを提出した。つまり、通常の細胞 (BFA 処理なし) では順行輸送と逆行輸送が共に起こっているが、BFA が順行輸送

図 1. 植物細胞におけるタンパク質と多糖の輸送経路。小胞体からの小胞輸送経路では、実線は順行輸送を、破線は逆行輸送を示す。

図 2. Brefeldin A の構造.

を阻害し、逆行輸送だけが続いた結果、ゴルジ体が消失したと推定した。その後、動物細胞と酵母では、通常の細胞でもゴルジ体から ER への逆行輸送が存在することが立証された (Jackson et al. 1993、Cole et al. 1998、Spang and Schekman 1998)。また、ゴルジ体から ER への逆行輸送は ER から誤ってゴルジ体に送り出された ER 滞留タンパク質を回収する機構であることも判明した (参照: Farquhar and Hauri 1997)。BFA の作用機構の解析が進むにつれ、被覆小胞として唯一発見されていたクラスリン被覆小胞に加え、COPI (coat protein I) 被覆小胞と COPII 被覆小胞が発見された (参照: 図 8)。各被覆小胞の被覆タンパク質は小胞内に積み荷として取り込むタンパク質を選別する。BFA の作用機構に関しては、初めに推定されたように ER からゴルジ体への順行輸送を直接阻害するのではなく、逆行輸送を行う COPI 被覆小胞の形成初期過程に作用し、ゴルジ体から ER への異常な逆行輸送を誘導するとの説が現在では有力である。

一方、植物や藻類細胞では、ゴルジ体から ER への逆行輸送を示すデータは全く得られていなかった。動物細胞で使われた $5\sim 10\mu\text{g/ml}$ の BFA では、植物・藻類細胞 (maize と onion の根端細胞、sycamore 培養細胞、rice の根、*Chlamydomonas*、*Euglena*) のゴルジ体は顕著な形態変化を起こさない (参照: Noguchi et al. 1998)。1992 年に Satiat-Jeunemaitre と Hawes は maize と onion の根を用い、 $200\mu\text{g/ml}$ もの高濃度の BFA を処理すると、顕著なゴルジ体の形態変化が起こることを報告した (Satiat-Jeunemaitre and Hawes 1992)。しかし、高濃度の BFA がゴルジ体の形態変化を引き起こした細胞でも、ゴルジ体から ER への逆行輸送を示すデータは得られなかった。このため、高等植物ではゴルジ体から ER への逆行輸送が存在しない可能性も論じられた (Satiat-Jeunemaitre and Hawes 1993)。高等植物では、ゴルジ体は原形質流動と共に細胞内を移動しており常には ER に近接していないため、逆行輸送が存在しないこともあり得と考えられた。しかし、ゴルジ体と ER が近接していない高等植物でも、ER からゴルジ体への順行輸送は起こっており、逆行輸送だけが存在しないという解釈は説得力に乏しい。折しも tobacco BY-2 細胞で、BFA 処理によって ER とゴルジ体シスターネが融合し、ER が異常に発達する現象が報告され (Yasuhara et al. 1995)、植物細胞でも逆行輸送が存在することを我々は確信した。そこで、藻類細胞ではゴルジ体が ER または核膜に常に近接していることに注目し、藻類細胞を用いて実験を始めた。その結果、二種の単細胞緑藻で細胞周期の特定の時期にのみ、BFA 処理によってゴルジ体から ER への逆行輸送が誘導されることを明らかにした。

3. 緑藻 *Scenedesmus acutus* を用いたゴルジ体から核膜 (ER 系) への逆行輸送の誘導

藻類では、ゴルジ体が輸送小胞を ER から受け取る典型的なタイプ (図 4 C) と核膜から受け取るタイプ (図 3 C) がある。褐藻や珪藻、また緑藻の *Chrolocooccales* に属する多くの種では、ゴルジ体は核膜から輸送小胞を受け取る。これらの細胞では、核膜の外膜表面にリボソームが付着し、核膜が ER の機能を果たすと共に細胞質の ER にも連続している。BFA 処理ではゴルジ体が分解するため、この様なゴルジ体の存在場所が明確な細胞は本解析に適している。そこで我々は緑藻の *Chlorococcales* に属する *Scenedesmus acutus* (図 3A) を研究材料に選び、実験を行った (Noguchi et al. 1998)。

分裂していない間期の細胞および分裂・成長中の細胞を $20\mu\text{g/ml}$ の BFA で 0, 10, 30, 60

分処理し、ゴルジ体と核の形態変化を調べると共に、BFA 処理によってゴルジ体内の物質が核膜に移行するか否かを、ゴルジ体標識酵素の一つであるチアミンピロフォスファターゼ (TPPase) の活性部位によって判定した。TPPase は細胞組織化学法で検出した。

間期の細胞では、TPPase の活性を示すリン酸鉛の沈着はゴルジ体全体に検出されたが、核膜には検出されなかった (図 3D)。BFA を 30 分処理した細胞では、ゴルジ体の分解が起こり、ゴルジ体に面した核膜の一部に TPPase の活性が検出された。更に、BFA を 1 時間処理した細胞では、ゴルジ体の分解が進み、シスターネの数も減少し、一方、核膜に連続していた ER が伸張した。TPPase の活性は核膜全体および核膜から伸張した ER に検出された (図 3E)。この結果から、BFA 処理によってゴルジ体の標識酵素である TPPase がゴルジ体膜と共に核膜に移行したと考えられた。

Scenedesmus は一細胞内に 4 または 8 個のオート胞子を形成して増殖する。複数の核を持った分裂期の細胞では、間期と同様に TPPase 活性はゴルジ体だけに検出され、核膜には検出されなかった (図 3F)。分裂期の細胞を BFA で 1 時間処理した場合、TPPase 活性を示すゴルジ体は分解して小胞化したにも関わらず、核膜と ER に TPPase 活性は検出されず、核膜に連続した ER も伸張しなかった (図 3G、H)。この結果から、分裂期の細胞では BFA によってゴルジ体から ER 系への逆行輸送が誘導されなかったと考えられた。

4. 単細胞緑藻 *Botryococcus braunii* を用いたゴルジ体から ER への逆行輸送の誘導

S. acutus での実験結果は、ゴルジ体から ER 系への逆行輸送は細胞周期の特定の時期だけに起こっていることを強く示唆した。これは新知見である。この現象の普遍性を示すためには、少なくとも他の藻類でもう一例示す必要がある。そこで *Botryococcus braunii* (図 4A) を材料を選び、研究を続けた。*B. braunii* のゴルジ体は ER から輸送小胞を受け取る一般的なタイプである。また、ゴルジ体は大型で、間期の細胞では *cis*-、*medial*-、*trans*-シスターネを明瞭に区別でき (図 4C)、細胞周期を通してダイナミックに形態変化することが既に確かめられている (図 5 上段、Noguchi and Kakami 1999)。しかし、*B. braunii* は細胞外表面に多量の炭化水素を蓄積するため (図 4A、B)、細胞組織化学法で鮮明な TPPase 活性を検出できないという欠点もあった。そこで本研究は、詳細な微細構造の解析を主テーマとして進めた (Noguchi and Watanabe 1999)。

B. braunii を 20 μ g/ml の BFA で 1 時間処理した場合、間期の細胞では、ゴルジ体の *cis*-シスターネ (3-5 層) と *medial*-シスターネ (3-5 層) は小胞化し、BFA 処理時間と共に層数を減少した (図 4C と D を比較)。*Trans*-シスターネ (6-11 層) も小胞化して、層数を減少した。しかし、*trans*-シスターネ由来の小胞は ER 付近には観察されず、ER に移行しないと考えられた。一方、ゴルジ体の *cis*-側に位置する ER の層数は増加した。これらの ER のうち、ゴルジ体から最も遠くに位置する 1~2 層の ER はリボソームを付着した rER であったが、ゴルジ体により近く位置する数層の ER はリボソームを付着しない sER であった。一方、分裂期の細胞では、ER とゴルジ体シスターネの層数は変化せず、ER への逆行輸送を示唆する結果は得られなかった (図 5B、C)。以上の結果は *B. braunii* でも *S. acutus* と同様に、ゴルジ体から ER 系への逆行輸送が間期の細胞では BFA によって誘導されるが、分裂期の細胞では誘導されないことを示した。更に、ゴルジ体から ER への逆行輸送はゴルジ体の *cis*-および *medial*-シスターネから起こり、*trans*-シスターネからは起こっていないと考えられた (図 5A)。

二種の緑藻での結果は、ゴルジ体から ER 系への逆行輸送は細胞周期の特定の時期だけに起こっていることを強く示唆した。

図3. *Scenedesmus acutus*. A. 光学顕微鏡像。矢印;分裂中の細胞, 小矢印;形成直後の娘細胞。バー=10 μ m B. 細胞の長軸断面像。矢印;ゴルジ体。バー=5 μ m C. 間期の細胞のゴルジ体。ゴルジ体は核膜から輸送小胞(矢尻)を受け取っている。バー=0.5 μ m D-H. TPPase 活性の検出。D. 間期の細胞。ゴルジ体全体に TPPase 活性の反応産物(電子密度の高いリン酸鉛の沈殿)が検出されているが、核膜および ER には検出されない。バー=0.5 μ m E. BFA を1時間処理した間期の細胞。小胞化したゴルジ体シスターネ、核膜および核膜から伸びた ER に活性が検出される。バー=0.5 μ m F. 分裂期の細胞。ゴルジ体全体に活性が検出されるが、核膜と ER には活性が検出されない。バー=1 μ m G. BFA 処理した分裂期の細胞。核膜に活性は検出されていない。バー=0.1 μ m H. G の一部の拡大像。小胞化したゴルジ体シスターネに活性が検出されているが、核膜には検出されていない。バー=0.5 μ m。G;ゴルジ体、N;核、ne;核膜、SE;発達中の隔壁、TGN;トランス-ゴルジネットワーク、矢尻2つ;核膜から ER が伸びているところ。

図4. *Botryococcus braunii*. A. 光学顕微鏡像. バー=10 μm B. 間期の細胞の長軸断面. バー=1 μm C. 間期の細胞のゴルジ体. 一層の ER から輸送小胞を受け取っている. バー=0.5 μm D. BFA 処理した間期の細胞. ゴルジ体の cis-シスターネは小胞化し、sERの層数が増している. バー=0.5 μm . Ch;葉緑体、N;核、G; ゴルジ体、矢印;炭化水素、矢尻;クラスリン被覆小胞.

5. ゴルジ体と核膜 (ER 系) 間の小胞輸送に關与する細胞骨格系

輸送小胞は各膜区画間を拡散によって移動するのではなく、細胞骨格系をレールとして移動するとの考えが一般的である (Kreis et al. 1997)。動物細胞では、BFA で誘導されるゴルジ体から ER への逆行輸送は nocodazole で阻害されるため、微小管系が関与していると考えられ、モータータンパク質としてキネシンが同定されている (Lippincott-Schwartz et al. 1995)。そこで我々は、植物・藻類細胞では初めて BFA で逆行輸送を誘導できた *S. acutus* の間期の細胞を用い、ゴルジ体と核膜 (ER 系) 間の小胞輸送に關与する細胞骨格系を調べた (Tanaka and Noguchi 2000)。

間期の細胞を 50 μM cytochalasin B または 50 μM oryzalin で 3 時間前処理し、続いて 20 $\mu\text{g/ml}$ の BFA と前処理した阻害剤の混合液で 1 時間処理した。その後、TPPase の活性を先に述べ

図5. *B. braunii* の細胞周期の各時期のゴルジ体系に及ぼす Brefeldin A の影響. 上段は無処理の細胞の ER、ゴルジ体と TGN で、下段は BFA を 1 時間処理した細胞のもの. (Noguchi and Watanabe 1999)

た方法で検出した。その結果を図 6 に示す。BFA と cytochalasin B、または BFA と oryzalin で処理すると、どちらの場合でも TPPase 活性はゴルジ体にもみられ、核膜には検出されなかった。この結果は、ゴルジ体から核膜への逆行輸送にはアクチンフィラメントと微小管の両方が関与している可能性を示唆した。

そこで、核膜とゴルジ体間にこれらの細胞骨格系が実際に存在するか否かを電子顕微鏡で調べた。その結果、核膜とゴルジ体を連結する直径約 8 nm の繊維が観察され、抗アクチン抗体を用いた免疫電子顕微鏡法でアクチンフィラメントであることを確認した。BFA 実験の結果を考え合わせると、このアクチンフィラメントが核膜・ゴルジ体間の少なくとも逆行輸送に関与していると考えられる。アクチンフィラメントの一部が核膜からゴルジ体への順行輸送に関与している可能性に関しては、以下の理由で否定的である。*S. acutus* を 50 μ M cytochalasin B だけで処理した場合、ゴルジ体の trans 側にゴルジ小胞が蓄積した (図 7)。同様の現象は、緑藻 *Microcystis* (Noguchi 1989) や高等植物 (Mollenhauer and Morre 1976) でも報告されており、ER 系からゴルジ体 trans 側までの小胞輸送にはアクチンフィラメントは関与せず、ゴルジ体から原形質膜や液胞への輸送にアクチンフィラメントが関与している可能性が高い。つまり、ER 系からゴルジ体への小胞輸送にはアクチンフィラメントは関与していないと考えられる。植物細胞で ER 系からゴルジ体へどのように小胞が移動するかに関しては、今後の課題として残った。

一方微小管に関しては、無処理の細胞でも、BFA を 5 分処理してゴルジ体から核膜への逆行輸送が活発に起きていると想定できる細胞でも、核膜とゴルジ体間に微小管は全く観察されなかった。

微小管が存在しないにも関わらず、微小管阻害剤の oryzalin で逆行輸送が阻害された原因はまだ不明だが、本研究を通して、我々は阻害剤実験の重大な落とし穴を実感することになった。もしも、我々が電子顕微鏡での観察を怠っていたら、図 6 の結果から微小管も小胞輸送のレールとしてゴルジ体から ER への逆行輸送に直接関与していると結論したであろう。電子顕微鏡による微細構造の確認がいかに大切かを強調したい。

6. TGN に対する BFA の影響

BFA はゴルジ体から ER への逆行輸送を誘導するだけでなく、TGN と初期エンドソームの融合を引き起こすことが 1991 年に動物細胞で連続して報告された (Lippincott-Schwartz et al. 1991, Wood et al. 1991)。この現象は TGN から COPI 被覆小胞が形成されることに伴った BFA の影響であると解釈されている。植物細胞では TGN に及ぼす BFA の影響に関しては一報告しかないが、TGN は動物細胞とは全く異なり小胞化して消失した (Driouich et al. 1993)。ゴルジ体から ER 系への逆行輸送を調べた *B. braunii* は、我々が調べた紅藻から高等植物において最も大型に発達した TGN を有する。そこで *B. braunii* では、BFA が TGN に及ぼす影響についても同時に調べた (Noguchi and Watanabe 1999)。

図 5 に TGN に関する結果も示している。TGN は、間期と分裂中の細胞では動物細胞と同様にゴルジ体スタックから離れて塊になったのに対し (図 5A, B)、細胞壁形成期では高等植物細胞と同様に小胞化し、消失した (図 5D)。つまり、TGN に及ぼす BFA の影響は動物細胞と植物細胞で異なるのではなく、その時の細胞内小胞輸送の状態を反映した差異であることが示唆された。

7. まとめ

二種の単細胞藻類を用いて、BFA がゴルジ体系に及ぼす影響を調べた。その結果、藻類細胞でも BFA がゴルジ体から ER 系への逆行輸送を誘導することを初めて明確に示した。更に、細胞周

図 6. *S. acutus* における BFA で誘導されるゴルジ体から核膜への逆行輸送に及ぼす骨格系阻害剤の影響. 100 細胞以上について調べた。黒カラム;TPase 活性がゴルジ体と核膜の両方に検出された細胞. 灰色カラム;TPase 活性がゴルジ体だけに検出された細胞. ORZ;oryzalin, CB;cytochalasin B. (Tanaka and Noguchi 2000)

図 7. Cytochalasin B を処理した *S. acutus*. ゴルジ体の trans-側にゴルジ小胞が蓄積している (図 3C と比較)。バー=0.5 μ m.

図8. *S. acutus* と哺乳類の細胞における ER 系とゴルジ体間の小胞輸送に関与する細胞骨格系. *S. acutus* では、BFA で誘導されるゴルジ体から核膜への逆行輸送にはアクチンフィラメントが関与している。核膜とゴルジ体間には、哺乳類と異なり中間コンパートメント (VTC) は存在しない。AF;アクチンフィラメント、MT;微小管、CCV;クラスリン被覆小胞、COPI;コートマー被覆小胞 I、COPII;コートマー被覆小胞 II. (Tanaka and Noguchi 2000)

期を通した解析は、ゴルジ体から ER 系への逆行輸送が細胞周期の特定の時期だけに起こっていることを強く示唆した。このことは、BFA で誘導されるゴルジ体から ER 系への逆行輸送が確認できなかった他の藻類や高等植物でも、特定の細胞や組織ではゴルジ体から ER 系への逆行輸送が存在する可能性を意味する。実際、我々が *S. acutus* での成果を報告した2ヶ月後に、植物細胞でのゴルジ体からの逆行輸送に懐疑的であったグループが BFA に誘導されるゴルジ体から ER への逆行輸送を *Arabidopsis* で報告した (Boevink et al. 1998)。

8. 謝辞

平瀬賞の対象となったゴルジ体から ER 系への逆行輸送に関する *B. braunii* での研究、また *S. acutus* での研究は渡辺寿恵さん、逆行輸送に関与する骨格系の研究は田中靖子さんの多大な貢献によるものです。お二人に心からお礼を申し上げます。

引用文献

- Boevink, P., Oparka, K., Cruz, S. S., Martin, B., Betteridge, A., Hawes, C. (1998) Stacks on tracks: the plant Golgi apparatus traffic on an actin/ER network. *Plant J.* 15: 441-447.
- Cole, N.B., Ellenberg, J., Song, J., DiEuliis, D., Lippincott-Schwartz, J. (1998) Retrograde transport of Golgi-localized proteins to the ER. *J. Cell Biol.* 140: 1-15.
- Driouich, A., Zhang, G.F., Staehelin, L.A. (1993) Effect of Brefeldin A on the structure the Golgi apparatus and on the synthesis and secretion of proteins and polysaccharides in sycamore maple (*Acer pseudoplatanus*) suspension-cultured cells. *Plant Physiol.* 101: 1363-1373.
- Farquhar, M.G., Hauri, H.P. (1997) Protein sorting and vesicular traffic in the Golgi apparatus. In *The Golgi Apparatus*. Edited by E.G. Berger, Roth, J. Birkhauser Verlag/Basel Boston, Berlin. pp 63-129.
- Fujiwara, T., Oda, K., Yokota, S., Takatsuki, A., Ikehara, Y. (1988) Brefeldin A causes disassembly of the Golgi complex and accumulation of secretory proteins in the endoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.* 263: 18545-18552.
- Jackson, M.R., Nilsson, T., Peterson, P.A. (1993) Retrieval of transmembrane proteins to the endoplasmic reticulum. *J. Cell Biol.* 121:317-333.
- Kreis, T.E., Goodson, H.V., Perez, F., Ronnholm, R. (1997) Golgi apparatus-cytoskeleton

- interactions. In *The Golgi Apparatus*. Edited by E. G. Berger, J. Roth. Birkhauser Verlag/Basel Boston, Berlin, pp 179-193.
- Lippincott-Schwartz, J., Yuan, L.C., Bonifacino, J.S., Klausner, R.D. (1989) Rapid redistribution of Golgi proteins into the ER in cells treated with brefeldin A: evidence for membrane cycling from Golgi to ER. *Cell* 56: 801-813.
- Lippincott-Schwartz, Yuan L, Tipper C, Amherdt M, Orci L, Klausner R.D. (1991) Brefeldin A's effects on endosomes, lysosomes, and the TGN suggest a general mechanism for regulating organelle structure and membrane traffic. *Cell* 67: 601-616
- Lippincott-Schwartz, J., Cole, N.B., Marotta, A., Conrad, P.A., Bloom, G.S. (1995) Kinesin is the motor for microtubule-mediated Golgi-to-ER membrane traffic. *J. Cell Biol.* 128: 293-306.
- Misumi, Y., Misumi, Y., Miki, K., Takatsuki, A., Tamura, G., Ikehara, Y. (1986) Novel blockade by brefeldin A of intracellular transport of secretory proteins in cultured rat hepatocytes. *J. Biol. Chem.* 261: 11398-11403.
- Mollenhauer HH, Morre DJ (1976) Cytochalasin B, but not colchicine, inhibits migration of secretory vesicles in root tips of maize. *Protoplasma* 87: 39-48.
- Noguchi, T. (1989) Vacuole development in cells of *Micrasterias crux-melitensis* treated with cytochalain B. *Plant Morphology* 1: 15-18.
- Noguchi, T., Watanabe, H., Suzuki, R. (1998) Effects of brefeldin A on the Golgi apparatus, the nuclear envelope, and the endoplasmic reticulum in a green alga, *Scenedesmus acutus*. *Protoplasma* 201: 202-212.
- Noguchi, T., Kakami F (1999) Transformation of *trans*-Golgi network during the cell cycle in a green alga, *Botryococcus Braunii*. *J Plant Res* 112: 175-186.
- Noguchi, T., Watanabe, H. (1999) Brefeldin A effects on the *trans*-Golgi network and Golgi bodies in *Botryococcus braunii* are not uniform during the cell cycle. *Protoplasma* 209: 193-206.
- Satiat-Jeunemaitre, B. Hawes, C. (1992) Redistribution of a Golgi glycoprotein in plant cells treated with brefeldin A. *J. Cell. Sci.* 103: 1153-1166.
- Satiat-Jeunemaitre, B. Hawes, C. (1993) Insights into the secretory pathway and vesicular transport in plant cells. *Biol Cell* 79: 7-15
- Spang, A., Schekman, R. (1998) Reconstitution of retrograde transport from the Golgi to the ER in vitro. *J. Cell Biol.* 143: 589-599.
- Tanaka, Y., Noguchi T. (2000) Cytoskeleton mediating transport between the ER system and the Golgi apparatus in the green alga *Scenedesmus acutus*. *Eur. J. Cell Biol.* 79: 750-758.
- Wood, S.A., Park, J.E., Brown, W.J. (1991) Brefeldin A causes a microtubule-mediated fusion of the *trans*-Golgi network and early endosomes. *Cell* 67: 591-600
- Yasuhara, H., Sonobe, S., Shibaoka, H. (1995) Effects of brefeldin A on the formation of the cell plate in tobacco BY-2 cells. *Eur. J. Cell Biol.* 66: 274-281.