ミニレビュー

植物ゴルジ複合体における機能局在

三ッ井敏明

ゴルジ複合体は、動植物細胞に普遍的に見られる細胞内膜系の一つである。このオルガネラは、湾曲した扁平嚢が数枚平行に重層したものと扁平嚢の側面に沿って存在する小胞とからなっている。ゴルジ複合体の構成成分はその形態および細胞化学的観察より極性を持つことが知られており、シス、中間、トランスゴルジ、およびトランスゴルジネットワーク (TGN) のコンパートメントに分けられる。植物細胞におけるゴルジ複合体は、糖蛋白質糖鎖のプロセッシング、細胞壁多糖の合成、ならびに分泌型や液胞局在型酵素蛋白質の選別に関する機能等を有することが知られている。しかしながら、植物ゴルジ複合体の機能については、選別機能をはじめ、まだまだミステリアスな部分が多い。

植物ゴルジ複合体の機能の中で最もよく調べられているのは、糖蛋白質のアスパラギン結合型 (N-結合型) 糖鎖のプロセッシングである。N-結合型糖鎖の合成経路の概略は以下のとおりである。粗面小胞体 (RER) において高マンノース型糖鎖前駆体がドリコールピロリン酸キャリアーを経て翻訳途中のポリペプチド鎖に導入され、ゴルジ複合体に輸送された後そこで Man 残基のトリミング、末端糖の付加が行われ、成熟した複合型糖鎖ができあがる¹⁾。赤沢らのグループ²⁾は、Xyl を含む植物特有の複合型糖鎖を持つラッカーゼ³⁾を活発に合成、分泌するシカモア培養細胞から高純度のゴルジ体膜を調製し、植物ゴルジ体膜にキシロシルトランスフェラーゼ、ガラクトシルトランスフェラーゼ、フコシルトランスフェラーゼ、 α -マンノシダーゼが局在することに加え、*in vitro* 系において二つの機能の異なるゴルジ体膜を同定した。さらに、シカモア培養細胞から調製したゴルジ体膜を用いて、N-結合型糖鎖のプロセッシングに関与する酵素の基質特異性が詳細に調べ

られ、そのプロセッシング経路が明らかにされた⁴⁾。RER で導入された糖鎖前駆体 ($\text{GlcNAc}_2\text{Man}_9\text{Glc}_3$) は、ER グルコシダーゼ、ER マンノシダーゼ、ゴルジマンノシダーゼ I によって順次トリミングされ ($\text{GlcNAc}_2\text{Man}_5$)、N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ I による GlcNAc の付加、ゴルジマンノシダーゼ II によるトリミング、N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ II による GlcNAc の付加 ($\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$) の後、キシロシルトランスフェラーゼによって末端の Xyl が付加される ($\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2\text{Xyl}_1$)。続いて、Fuc や Gal の付加が起こる ($\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2\text{Xyl}_1\text{Fuc}_3\text{Gal}_2$)。Faye のグループ⁵⁾は、 $\beta 1 \rightarrow 2\text{Xyl}$ 残基および $\alpha 1 \rightarrow 3\text{Fuc}$ 残基を特異的に認識する抗体を調製し、免疫細胞化学的にゴルジ複合体におけるこれらの付加部位を調べ、Xyl 付加は中間ゴルジ、一方 Fuc 付加はトランスゴルジで主に起こることを示した。この結果は、上述の Xyl 付加の後 Fuc 付加が起こるということを強く支持している。最近、N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ I が欠損しているシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の変異株が単離された。この変異細胞は、複合型糖鎖を生成できないが、通常の生育にはまったく支障がないことが報告された⁶⁾。このように、植物ゴルジ複合体における N-結合型糖鎖のプロセッシング機構の解明は進展したが、なぜ多くのエネルギーを費やして複合型糖鎖を作る必要があるのかという疑問は未だ闇の中である。

植物細胞壁のマトリックス多糖は、細胞増殖、細胞の形、細胞分化、細胞壁の浸透性および外敵に対する防御等の機能にかかわっている。植物ゴルジ複合体は、この細胞壁マトリックス多糖の合成、分泌に関して中心的役割を果たしている⁷⁾。Staelin らのグループ⁷⁾⁻⁹⁾は、ヘミセルロースの主成分であるキシログルカン (XG) およびペクチン多糖の一つであるポリガラクトuron酸/ラムノガラクトuronan-I (PGA/RG-I) の各主要構造部、末端糖および末端修飾部を特異的に認識する数種の抗体を用いて、ゴルジ複合体におけるそれらの合成・構築の過程を免疫細胞化学的に解析し、以下のようなモデルを提出している。XG について

は、XG 骨格部の合成は主にトランスゴルジで、末端 Fuc の付加はトランスゴルジから TGN で起こる。PGA/RG-I の非エステル化骨格部の合成はシスおよび中間ゴルジで起こり、一方、PAG ドメインにあるカルボキシル基のメチル化は中間ゴルジで、RG-I ドメインの Ara 含有側鎖の付加はトランスゴルジで行われる。しかしながら、このモデルはすべての植物細胞で認められるものではないらしい⁷⁾。

著者らの研究室では、イネ細胞におけるゴルジ複合体の構造と機能に関する研究を進めている。イネ細胞からのゴルジ体膜の単離は、他の植物細胞で用いられている一般的な単離法では成功しなかったが、グルセロール密度勾配遠心分離法を用いることによって高純度のイネゴルジ体膜を得ることができた^{10), 11)}。種々の結合特異性を持つレクチンを用いたレクチノプロットや細胞化学的解析の結果、イネゴルジ体膜にはピーナッツレクチン (PNA) で認識される O-結合型糖鎖を有する糖蛋白質が特異的に局在していることがわかった^{10), 12)}。さらに、ゴルジ複合体の破壊剤として知られている¹³⁾プレフェルディン A をイネ細胞に与えると、この薬剤によって O-結合型糖鎖の合成が特異的に抑制されることを見いだした¹²⁾。最近、われわれは単離イネゴルジ体膜から植物ゴルジ体膜の指標酵素として最もよく知られている IDPase の精製に成功した¹⁴⁾。本酵素は、ゲル濾過と SDS-PAGE で推定される分子量はそれぞれ 200 kDa, 55 kDa であり、IDP, UDP, GDP に特異的な NDPase であることが明らかになった。さらに興味深いことに、UDP-¹⁴C-Glc を用いてゴルジ体膜における ¹⁴C-標識 β -グルカンの生成に及ぼす本酵素の役割を調べたところ、本酵素は ¹⁴C-標識 β -グルカンの生成を促進した。この結果は、本酵素がゴルジ複合体に局在するグルカンシンターゼ I 活性を促進していることを示しており、植物ゴルジ複合体特有のイベントである β -グルカン合成が本酵素によって調節されていることが明らかになった¹⁴⁾。

植物ゴルジ複合体に関する研究の最近の進歩を紹介したが、ゴルジ複合体に局在し、構造維持や機能発現に関与している酵素蛋白質に関する分子レベルでの研究は数少ない。植物ゴルジ複合体を理解する上で、この問題はきわめて重

要であり、今後の研究の進展に期待したい。

Key Words : Golgi complex, glycoprotein, cell wall polysaccharide, UDP-¹⁴C-Glc, β -glucan

文 献

- 1) Kaushal, G. P. et al. : In ; "The Biochemistry of Plants", (Preiss, J. ed.), Vol. 14, pp. 421-463, Academic Press, San Diego (1988)
- 2) Ali, MD. S. et al. : *Arch. Biochem. Biophys.*, **27**, 421-431 (1986)
- 3) Takahashi, N. et al. : *Biochemistry*, **25**, 388-395 (1986)
- 4) Tezuka, K. et al. : *Eur. J. Biochem.*, **203**, 410-413 (1992)
- 5) Fitchette-Laine, A.-C. et al. : *Plant J.*, **5**, 673-682 (1994)
- 6) Schaewen, A. V. et al. : *Plant Physiol.*, **102**, 1109-1118 (1993)
- 7) Driouich, A. et al. : *Trends Biochem. Sci.*, **18**, 210-214 (1993)
- 8) Moore, P. J. et al. : *J. Cell Biol.*, **112**, 589-602 (1991)
- 9) Zhang, G. F. and Staehelin, L. A. : *Plant Physiol.*, **99**, 1070-1083 (1992)
- 10) Mitsui, T. et al. : *Plant Cell Physiol.*, **31**, 15-25 (1990)
- 11) Kimura, S. et al. : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **56**, 340-341 (1992)
- 12) Kimura, S. et al. : *Plant Cell Physiol.*, **34**, 855-863 (1993)
- 13) Stariat-Jeunemaitre, B. and Hawes, C. : *Plant Cell*, **6**, 463-467 (1994)
- 14) Mitsui, T. et al. : *Plant Physiol.*, **106**, 119-125 (1994)

糖に関する略号

Ara : アラビノース, Fuc : フコース, Gal : ガラクトース, Glc : グルコース, GlcNAc : N-アセチルグルコサミン, Man : マンノース, Xyl : キシロース

(新潟大学農学部応用生物化学科)