

ゴルジ体の多様性とその生理学的意義の解明

後藤 聡

研究のねらい

細胞外に分泌または細胞膜上に提示される蛋白質のほとんどのものは、何らかの糖修飾を受けることによって正しい機能を発揮するようになる。そのような糖修飾は、蛋白質の種類や修飾位置、細胞の種類や生物種、ひいては個人の違いによって、大きく異なり複雑である。しかし、そういった複雑な糖修飾が、どのようにして制御されているかについては、現在のところほとんどわかっていない。我々は、糖修飾の重要な制御メカニズムのひとつとして、ゴルジ体には様々な種類があること、それぞれ異なる種類のゴルジ体では異なるタイプの糖修飾が行われている可能性を新たに見いだした。本研究では、そのような「ゴルジ体の多様性仮説」を検討し、その生理学的意義の解明を目指した。

研究成果

我々は、ショウジョウバエをモデル系に用いて解析を行った。その理由として、ショウジョウバエではゴルジ体が細胞内に分散しているので解析が容易であること、さらに遺伝学・細胞生物学的解析が可能であることが挙げられる。

我々は、先行実験から新規の糖核酸輸送体 fringe connection (frc) が細胞内の一部のゴルジ体にしか局在しないことを見いだしていた。本研究において、この FRC と異なるゴルジ体に局在する蛋白質の検索を行った結果、新たに sulfateless (sfl) と呼ばれる糖修飾酵素が FRC とは異なるゴルジ体に局在することがわかった。

次に、FRC が局在するゴルジ体と SFL が局在するゴルジ体が、機能的にも異なっているかを検討した。FRC は NOTCH 蛋白質の糖修飾に必要であること、SFL はプロテオグリカンの糖修飾に必要であることがわかってきた。また、FRC は多くの糖鎖の基質として用いられる UDP-sugars を輸送する活性を持っていることもわかってきた。そこで、frc 変異体においてプロテオグリカンの修飾に異常が生じないかを調べたところ、幼虫の成虫原基という組織においては、異常ないことがわかった。この結果は、FRC が局在するゴルジ体と SFL が局在するゴルジ体が機能的にも異なっていることを示している。

さらに、frc 変異体の胚においては NOTCH の糖鎖に加えてプロテオグリカンの糖鎖も異常になることが知られていた。そこで、胚期における FRC と SFL の局在を調べたところ、幼虫期とは異なり、FRC と SFL は同じゴルジ体に局在していることがわかった。さらに、同じ幼虫でも異なる種類の細胞である唾液腺を用いて FRC の局在を調べたところ、成虫原基細胞とは異なり、FRC はすべてのゴルジ体に局在していることもわかった。これらの結果は、ゴルジ体の種類は一定ではなく、細胞の種類や発生段階において変化しうることを示している。

次に、異なるゴルジ体では実際に異なる糖修飾が行われているかを直接調べてみることにした。方法は、特定の糖鎖構造を認識するレクチンをプローブにして、成虫原基のゴルジ体を染色した。PNA レクチンを用いると、細胞内のアピカル側に局在するゴルジ体には多くシグナルが観察されたが、ベーサル側に局在するゴルジ体にはあまり観察されなかった。さらに、その PNA レクチンで認識される糖鎖は細胞のアピカル側に分泌されることもわかった。これらの結果は、異なるゴルジ体では異なる糖鎖が生成されていることを直接的に示すとともに、細胞のアピカル・ベーサルといった極性に応じて異なる糖鎖が生成・分泌されていることを示している。つまり、ゴルジ体の多様性は細胞の分泌方向にも関与している可能性が示された。

以上の結果をまとめて、現在論文投稿中である¹⁾。

今後の展開

ショウジョウバエの細胞内で分散しているゴルジ体は、機能的に異なっていることが強く示唆される結果をえることができた。今後は、その機能の違いを生み出す分子メカニズムおよび哺乳動物においても保存されているかを明らかにしていく予定である。

研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1. Yano, H., Yamamoto-Hino, M., Abe, M., Kuwahara, R., Haraguchi, S., Toyoda, A., and Goto, S.: Distinct functional blocks of the Golgi complex in *Drosophila* cells. (submitted)

(2)特許出願

なし

(3)その他の成果

1) 国際学会

2. Satoshi Goto and Hiroyuki Yano: Distinct functional subcomplex of the Golgi in a *Drosophila* cell.; 46th Annual *Drosophila* Research Conference (San Diego; 2005/3/30-4/3)

2) 国内学会

3. 山本(日野)美紀, 桑原玲子, 原口朱夏, 日下勇, 服部成介, 上田龍, 西原祥子, 後藤聡: 糖鎖修飾の制御メカニズムを解明するゲノムワイドなスクリーニング系の構築; 第27回分子生物学会年会(神戸ポートアイランド; 2004年12月)
4. 阿部将人, 桑原玲子, 原口朱夏, 日下勇, 高橋邦明, 上田龍, 後藤聡: ショウジョウバエを用いた小胞輸送機能の網羅的解析; 第77回生化学会年会(パシフィコ横浜; 2004年10月)

5. 矢野弘之、桑原玲子、原口朱夏、後藤聡: Diversity of the Golgi apparatus as functional units; 第6回日本ショウジョウバエ研究会(東京駒場エミナース; 2003年7月)
6. 阿部将人、桑原玲子、原口朱夏、日下勇、後藤聡: Genome-wide analysis of vesicle transports in *Drosophila*; 第6回日本ショウジョウバエ研究会(東京駒場エミナース; 2003年7月)
7. 山本(日野)美紀、桑原玲子、原口朱夏、日下勇、西原祥子、後藤聡: Functional analysis of glycans in *Drosophila melanogaster* using genome-wide RNAi screening; 第6回日本ショウジョウバエ研究会(東京駒場エミナース; 2003年7月)
8. 矢野弘之、阿部将人、後藤聡: Distinct functions of Golgi UNITS; 第56回日本細胞生物学会大会(ピアザ淡路滋賀県立県民交流センター; 2003年5月)