

1. 膜輸送の分子機構と細胞内区画の多様性維持

小胞体からゴルジ体,ゴルジ体から細胞内膜系の他の区画への輸送は輸送小胞 transport vesicle の 出芽 と 融合 の繰り返しで行われている.

| | | | |
|--------------------------|-----|--------|------------------------|
| 分泌経路 secretory pathway | 小胞体 | ゴルジ体 | 細胞表面 (開口分泌 exocytosis) |
| 飲食作用経路 endocytic pathway | 細胞膜 | エンドソーム | リソソーム |

それぞれの区画から出芽する輸送小胞が正しく機能するためには目的にあったタンパク質だけを取り込み,標的となる核とだけ正確に融合しなければならない.そのための識別作業は全て,輸送小胞の膜に結合しているタンパクが行っている.

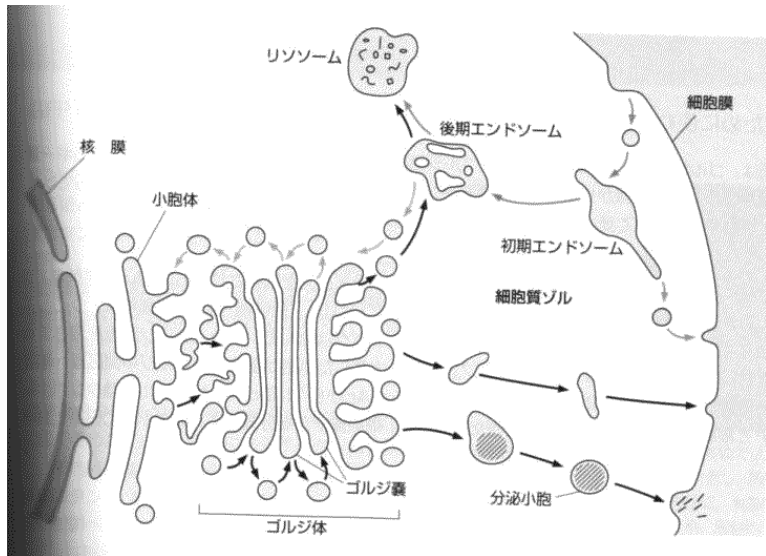


Fig. 13-3 生合成-分泌経路とエンドサイトーシス経路にかかわる真核細胞の細胞内区画。各区画の内部(内腔)は空間的に細胞の外部と等価であり,ここに示すすべての区画と細胞の外部は輸送小胞を介して相互に連絡し合っている。生合成-分泌経路(赤色矢印)では,タンパク分子は小胞体から細胞膜へ,あるいは(後期エンドソームを経て)リソソームへと送られる。エンドサイトーシス経路(緑色矢印)では,分子は細胞膜から生じた小胞中に取り込まれ,初期エンドソームに入り,(後期エンドソームを経て)リソソームに送り込まれる。エンドサイトーシスにかかわる分子の多くは初期エンドソームで回収されて細胞表面に送り返され,再利用される。同様に後期エンドソームから回収されてゴルジ体に戻るもの,ゴルジ体から回収されて小胞体に戻るものもある。回収経路は青色の矢印で示す(Fig. 13-1 も参照)。

被覆

膜から出芽する小胞は決まった被覆を持ち,被覆小胞 coated vesicle と呼ばれる.出芽が完了すると被覆は失われ,小胞膜は融合する膜と直接接触する.

被覆の重要な機能は 2 つである.膜を出芽できる形に丸める,輸送する分子を取り込むという役割である.

小胞のうち,研究の進んでいるのが,クラスリン被覆小胞, COP 被覆小胞, COP 被覆小胞である.クラスリン被覆小胞はゴルジ体や細胞膜からの輸送に,COP 被覆小胞,COP 被覆小胞は小胞体や,ゴルジ嚢(ゴルジ体を作る袋 1 個分)からの輸送に最も多く使われる.

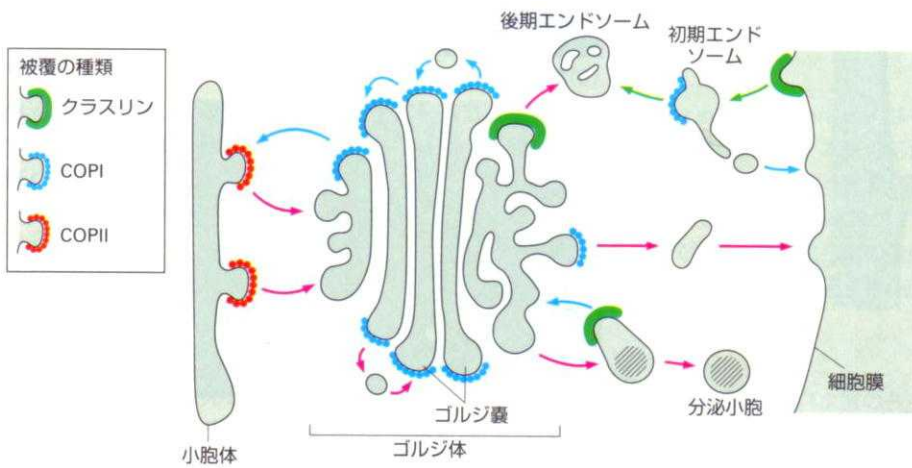
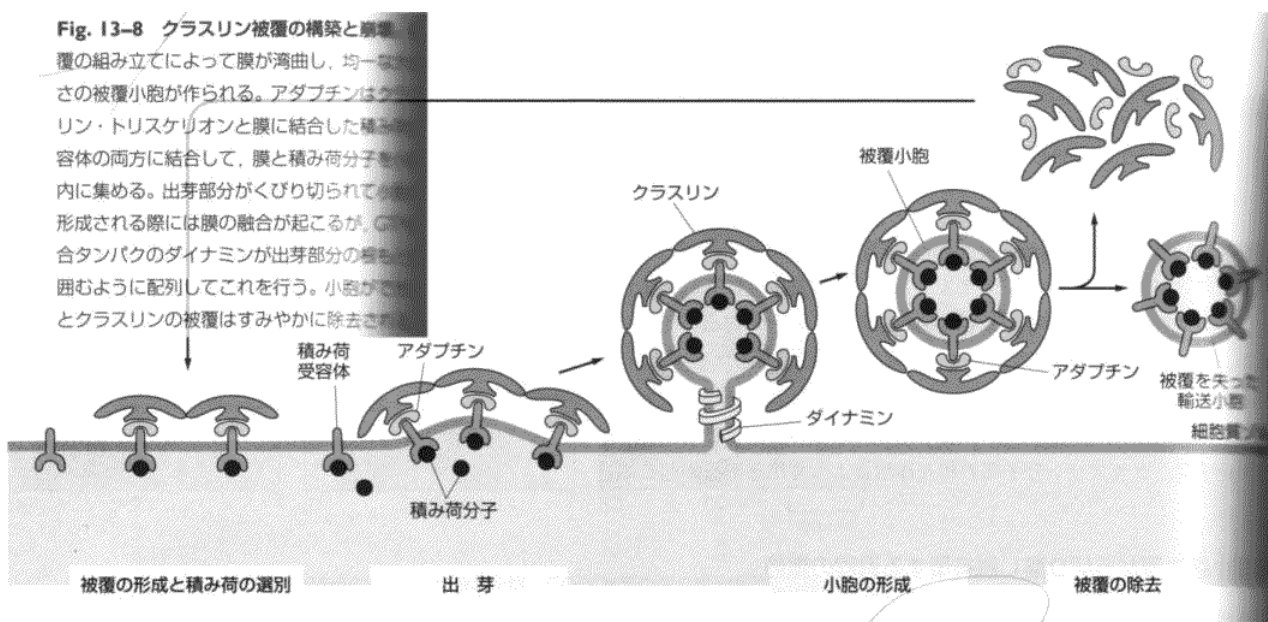


Fig. 13-5 小胞輸送における異なる被覆の適用。生合成-分泌経路とエンドサイトーシス経路の各段階にかかわる輸送小胞は、その被覆の種類によって積み荷が選ばれ、形が決まる。同じ被覆であっても、細胞内の異なる場所で機能する際に、異なる被覆タンパクのサブユニットが取り込まれてその性質が変わる(図示していない)。分化した細胞の多くには、図に示すものほかに、トランスゴルジ網から極性をもつ細胞の頂端部表面に向かうものや、ニューロンのシナプスでシナプス小胞のタンパク質を回収・再利用する特殊な経路などもある。

クラスリン被覆小胞 clathrin-coated vesicle はクラスリン clathrin, 積み荷受容体 cargo receptor からなり、これが出芽形成を起こす。そしてある程度出芽が成長すると(膜がつままれると), ダイナミン dynamin という小型の GTP 結合タンパクが, GTP 分解で得た IPLK^+ で小胞を膜からくびり切る。

COP 被覆小胞 COP-coated vesicle の小胞はゴルジ嚢から, COP 被覆小胞は小胞体 ER から出芽する。

Fig. 13-8 クラスリン被覆の構築と崩壊。被覆の組み立てによって膜が湾曲し、均一な大きさの被覆小胞が作られる。アダプチンはクラスリン・トリスケリオンと膜に結合した積み荷受容体の両方に結合して、膜と積み荷分子を内に集める。出芽部分がくびり切られて小胞が形成される際には膜の融合が起こるが、GTP 結合タンパクのダイナミンが出芽部分の膜をくびり切るように配列してこれを行う。小胞が形成されるとクラスリンの被覆はすみやかに除去される。



SNARE

ゴルジ体から長い軸索末端までのように長距離輸送をする場合、細胞骨格に沿ってモータータンパクが移動する。標的の細胞器官にたどり着いた輸送小胞がそれを識別し、接着すると、小胞膜が標的膜と融合し、積み荷が降ろされる。このためには小胞の表面に、小胞が作られた場所と積み荷を示す分子標識がなければならない。これは SNARE と呼ばれる膜貫通タンパクが行っている。小胞に存在する SNARE(v-SNARE)を標的膜の細胞質表面にある相補的な SNARE(t-SNARE)が識別する。

標的膜を識別して接着した輸送小胞は、膜と融合して積み荷を送り込むが、融合によって小胞の膜は、細胞器官の膜に付け加わる。

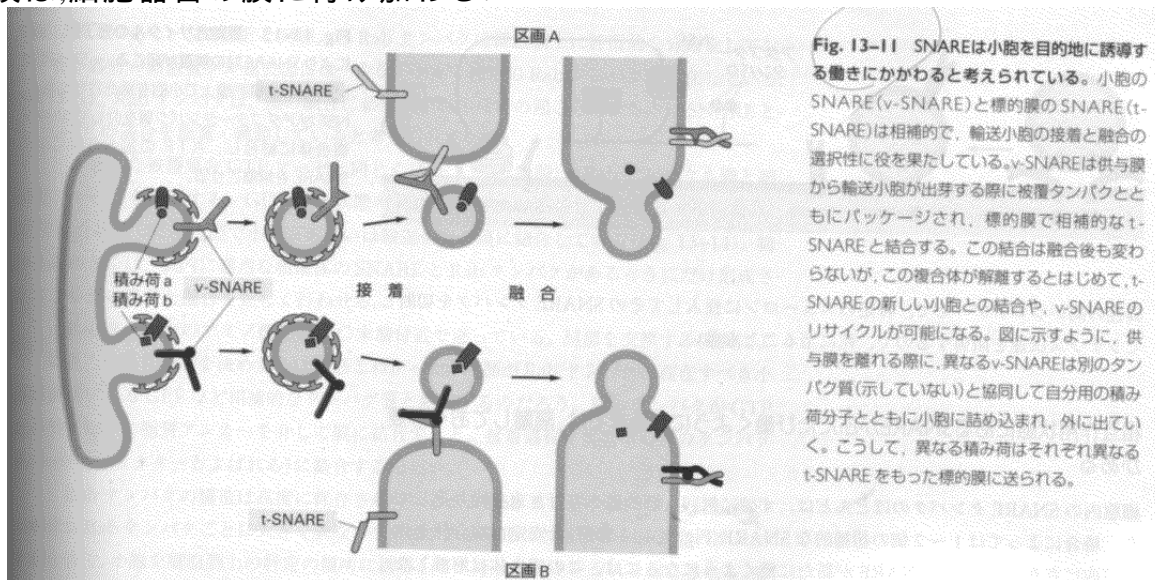


Fig. 13-11 SNAREは小胞を目的地に誘導する働きにかかわると考えられている。小胞のSNARE(v-SNARE)と標的膜のSNARE(t-SNARE)は相補的で、輸送小胞の接着と融合の選択性に役を果たしている。v-SNAREは供与膜から輸送小胞が出芽する際に被覆タンパクとともにパッケージされ、標的膜で相補的なt-SNAREと結合する。この結合は融合後も変わらないが、この複合体が解離するとはじめて、t-SNAREの新しい小胞との結合や、v-SNAREのリサイクルが可能になる。図に示すように、供与膜を離れる際に、異なるv-SNAREは別のタンパク質(示していない)と協同して自分用の積み荷分子とともに小胞に詰め込まれ、外に出ていく。こうして、異なる積み荷はそれぞれ異なるt-SNAREをもった標的膜に送られる。

実際には v-SNARE と t-SNARE はどちらも相補的なヘリックスドメインを持っていて、相互作用によってtrans SNARE 複合体 trans-SNARE complex が出来て、膜同士を近づけ、融合を開始させる。

Fig. 13-12 対を作ったSNAREの構造。



Rabタンパクは、単量体 GTPase で、小胞輸送の特異性に重要な役割を担っている。

接着過程を促進する Rab 17因子は、細胞膜上にあるが、機能としては、GTP加水分解を防止するなど様々である。

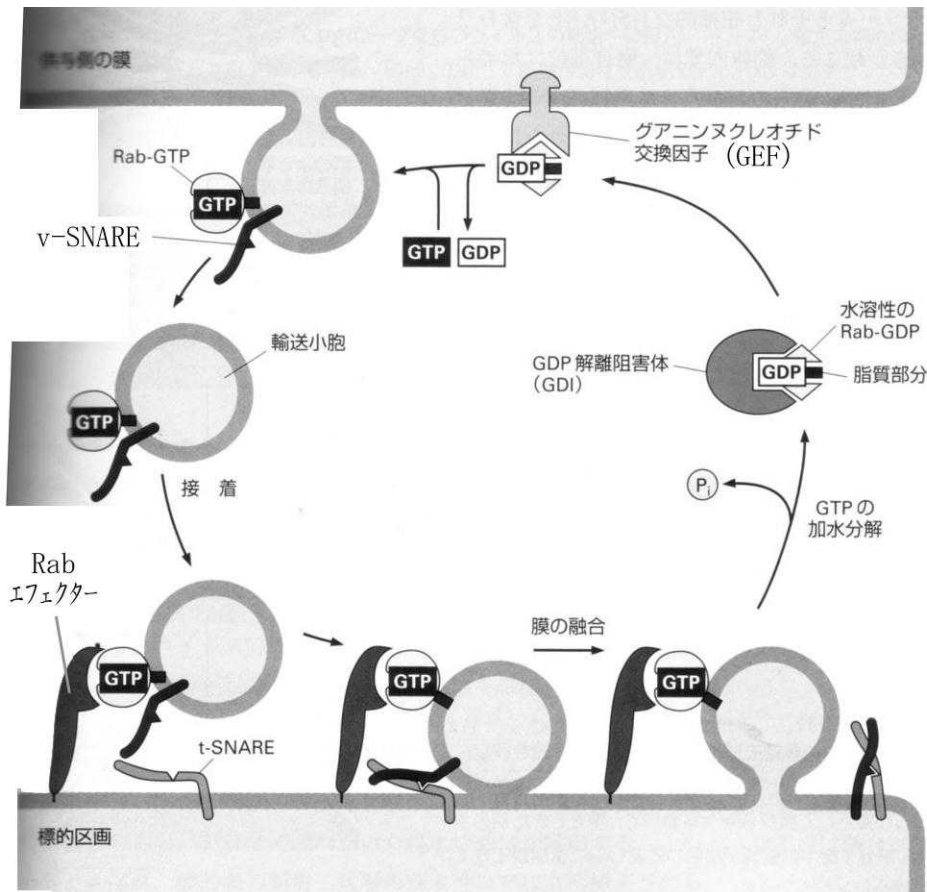


Fig. 13-14 輸送小胞の接着促進にかかわると考えられる Rab タンパク。 供与膜にある GEF が、特異的な Rab タンパクに、GDP から GTP への交換を起こさせる。GTP 型となった Rab タンパクのコンホメーションは変化して共有結合している脂質を露出させて Rab を膜に係留する。同様な機構が働いていた、被覆集 GTP アーゼの膜への結合 (GEF の種類は違う) を参照 (Fig. 13-10)。Rab-GTP は輸送小胞が供与膜からくびり切れたあと小胞の表面に結合しており、次いで標的膜上の Rab エフェクターと結合する。この Rab とエフェクターの結合体が小胞の接着を助け、v-SNARE が適当な t-SNARE と対を形成する。小胞と標的膜の融合後、Rab タンパクは結合 GTP を加水分解し、Rab-GDP となって細胞質ゾルに遊離され、新たな輸送に再利用される。細胞質ゾルの Rab-GDP は GDP 解離阻害体 (GDI) と結合しており、Rab が供与膜にある適当なタンパク質と結合するまで、GDP の遊離は阻害される。図では、小胞の被覆は除いて示してある (Fig. 13-10 参照)。

グアニンヌクレオチド交換因子 guanine-nucleotide-exchange factor GEF は GDP にリン酸結合させ、GTP にする。GDP 結合状態の Rab タンパクは不活性で細胞質ゾルにあり、GTP 結合状態では活性状態で細胞内小器官や輸送小胞の膜に結合している。v-SNARE と t-SNARE の対が出来ると、接着状態にあった小胞は融合を始める。その後、Rab タンパクは結合している GTP を加水分解して不活性な GDP 結合タンパクとなり、細胞質ゾルに戻って、次の輸送サイクルに入る。(GTP を加水分解する物は未知)