

## 4 章

### まとめ

#### 【結果】

第2章では、高等植物の原形質膜ATPaseについて解析をするため、ヤエナリ下胚軸を材料にして原形質膜ATPaseの精製とその構造について行った研究の結果を記述した。ヤエナリ下胚軸より水性二層分配法で単離した原形質膜画分より、膜結合ATPaseを両イオン性の界面活性剤Zwittergent 3-14またはlysolecithinで可溶化し、グリセロール密度勾配遠心で部分精製した。この部分精製画分に存在していたATPaseは、その活性の阻害剤に対する感受性からは、従来報告されている原形質膜に存在するPタイプATPaseと同じであった。すなわち、PタイプのATPaseの阻害剤であるバナジン酸で阻害を受け、FタイプATPaseの阻害剤であるアジ化ナトリウムやVタイプATPaseの阻害剤である硝酸イオンでは阻害を受けなかった。しかし、SDS-PAGEでサブユニット構造を解析したところ、67kDと55kDのポリペプチドが観察され、従来PタイプATPaseで報告されているような100kDのポリペプチドは観察されなかった。また、 $[^{14}\text{C}]$ -DCCDによるラベル実験で、17kDのポリペプチドがラベルされた。これらのサブユニット構成はVタイプATPaseのものと類似しており、このような新しいタイプのATPaseが植物原形質膜に存在するとすれば、生理学的にもきわめて重要であり、非常に興味深いことである。そこで我々は、この新しいタイプのATPaseの67kDサブユニットに対する抗体を調製し、免疫学的手法によって上記の結果の確認を行った。まずこの抗体がATPase活性を阻害するか調べたが、抗体が活性測定のための発色を阻害したため明確な結果は得られなかった。次に、トウモロコシ

根の原形質膜ATPase(100kDタイプ)に対して調製された抗体(本学農学部肥料及び植物栄養学研究室より譲渡されたもの)<sup>(57)</sup>を用いて、ヤエナリ下胚軸の原形質膜に100kDタイプのATPaseが存在するかどうか免疫ブロッティング法で調べたところ、この抗体に反応するポリペプチドが存在することが示された。そこで可溶化ATPase画分をグリセロール密度勾配遠心で分画して、密度勾配中の100kDタイプATPaseと67kDポリペプチドの分布を調べたところ、100kDタイプは密度勾配の中部におもに分布し、67kDは密度勾配の上部に分布していた。そしてATPaseの各画分のうち、100kDタイプの分布する画分はlysolecithinにより活性化されたが、67kDが分布する画分は活性化されなかった。以上の結果より、ヤエナリ下胚軸の原形質膜には、従来分類されていたATPaseとは異なったATPaseが存在しているものと結論した。

第3章では、高等植物のミトコンドリア $F_1$ ATPaseについて、そのサブユニット構造と生合成を中心にした研究の結果を記述した。既に、岩崎と旭<sup>(117)</sup>によりサツマイモミトコンドリアより $F_1$ ATPaseが精製され、6種のサブユニットより構成されることが示されていた。このうち $\alpha$ と $\beta$ については、小林ら<sup>(122)</sup>が高速液体クロマトグラフィーを用いて各サブユニットを単離し、 $\beta$ についてはN末端アミノ酸配列を決定し、他の $F_1$ の $\beta$ と相同性を比較している。そこで本研究では、残りの4つのマイナーサブユニットに関して、他の $F_1$ のサブユニットとの対応関係を明らかにするために、各サブユニットをSDS-PAGEで分離して、N末端アミノ酸配列33~36残基を決定した。その結果、 $\gamma$ は他の $F_1$ の $\gamma$ と、 $\delta$ は動物や酵母のOSCPおよび細菌 $F_1$ や葉緑体 $C F_1$ の $\delta$ と、 $\varepsilon$ は動物や酵母の $\varepsilon$ とそれぞれ相同性が認められた(図3-4~6)。しかし、 $\delta'$ については他の $F_1$ サブユニットや関連タンパク質とは相同性を見つけることはできなかった。 $\delta$ サブユニットに関しては、動物や酵母の

ミトコンドリア $F_1$ ではサブユニットとはされていないOSCPと相同性が認められたこと、さらに単子葉植物であるトウモロコシのミトコンドリア $F_1$ の $\delta$ と免疫学的に相同性が認められたことから、さらに詳細に比較するため、cDNAを単離してその塩基配列より、前駆体の一次構造を推定した。この結果、サツマイモ $\delta$ は、OSCPとの方が細菌の $F_1$ や $CF_1$ の $\delta$ より相同性がいくらか高いことが判明した(図3-14)。このことは、 $\epsilon$ の相同性と考えあわせると、植物ミトコンドリアの $F_1$ は細菌 $F_1$ や $CF_1$ よりも動物や酵母のミトコンドリアの $F_1$ に進化的に近いことを示している。ミトコンドリア $F_1$ および葉緑体 $CF_1$ の $\delta$ は双方とも核遺伝子に支配されており、細胞質で前駆体が合成された後、それぞれの移行シグナルにしたがって各々のオルガネラへ特異的に輸送されていると推察される。 $F_1$ の $\delta$ 前駆体に存在するプレ配列を用いた異種タンパク質の移行実験から、この配列がミトコンドリアへの特異的移行シグナルとなっていることが示された。以上のことを総合的に考えると、植物ミトコンドリア $F_1$ と葉緑体 $CF_1$ は分子進化の上でそれほど近いのではないことが推察される。

#### 【総合討論】

細胞は様々な生体膜で仕切られたオルガネラより構成されている。これら生体膜で仕切られたオルガネラの間で物質を出し入れしながら、あるいは細胞外より物質を出し入れしながら恒常性を維持している。物質の輸送と恒常性の維持という生体にとってきわめて基本的で、生命活動に必須の中心的な役割を演じている酵素がイオン輸送性のATPaseである。このATPaseは全ての生物において存在しており、その構造と性質より大きく3つのグループに分けられている。それらは、原形質膜に存在し、反応の過程でリン酸化中間体を形成するPタイプATPase、細菌やミトコンドリア、葉緑体に存在しATPの

合成をするFタイプATPaseおよび液胞膜など細胞内膜系に存在するVタイプATPaseである。これらは当初、構造と性質がともに異なることから別々のATPaseとして区別されていた。しかし近年の分子生物学の発達にともない、その一次構造が明らかになるにつれ、共通の構造が見つかるようになり、共通の祖先より進化したのではないかと考えられるようになった<sup>(1,2)</sup>。さらに最近になり、古細菌の原形質膜よりFタイプとVタイプの間中型と思われるようなATPase(AタイプATPase)が発見され、ATPaseの分子進化に新たな知見を与えた。NelsonとTaiz<sup>(2)</sup>によれば、VおよびFタイプのATPaseのATP結合部位の比較やサブユニット構造の比較から、両ATPaseの祖先にあたるひとつの酵素からFタイプとVタイプが分かれて現在のようになったとしている。Pタイプについてはその構造と反応機構からは他の2つのタイプとは共通性を見つけにくい、ATP結合部位にFタイプのβのATP結合部位と相同性を見いだすことができ、FとVタイプが分かれるよりもさらに以前にこれらと同じ祖先から分かれたと考えても不思議ではない。このように考えれば、いくつかのアミノ酸の置換によって、2章で述べたように本研究によって、植物細胞の原形質膜にPタイプとよく似た反応をするVタイプの構造をしたATPaseが存在する可能性が指摘されたことはきわめて意義深い。最近、動物の原形質膜にはVタイプのATPaseが存在することもいくつか報告されており<sup>(94-98)</sup>、これらのことを考えれば、ATPaseの細胞内分布をもう一度考え直すことが必要なかも知れない。

またVタイプATPaseについて、直接ATPase活性とは関係のないいくつかのマイナーサブユニットが存在していることが報告されてきており、FタイプATPaseの高次構造と類似している可能性が高まってきている。本研究で、高等植物のミトコンドリアF<sub>1</sub>のマイナーサブユニットの一次構造が、他のF<sub>1</sub>、特に葉緑体CF<sub>1</sub>のマイナーサブユニットの構造との比較が明らかにされた。今

Faint, illegible text on the left page, likely bleed-through from the reverse side.

後解明されるであろうVタイプATPaseのマイナーサブユニットの構造と比較されることによって、酵素やオルガネラの進化的由来をさらに詳しく説明する手がかりとなるのではないだろうか。

- 1. ...
- 2. ...
- 3. ...
- 4. ...
- 5. ...
- 6. ...
- 7. ...
- 8. ...
- 9. ...
- 10. ...
- 11. ...
- 12. ...
- 13. ...
- 14. ...
- 15. ...
- 16. ...
- 17. ...
- 18. ...
- 19. ...
- 20. ...
- 21. ...
- 22. ...
- 23. ...
- 24. ...
- 25. ...
- 26. ...
- 27. ...
- 28. ...
- 29. ...
- 30. ...
- 31. ...
- 32. ...
- 33. ...
- 34. ...
- 35. ...
- 36. ...
- 37. ...
- 38. ...
- 39. ...
- 40. ...
- 41. ...
- 42. ...
- 43. ...
- 44. ...
- 45. ...
- 46. ...
- 47. ...
- 48. ...
- 49. ...
- 50. ...

## References

1. Pedersen, P. L. and Carafoli, E. (1987) Trends in Biochem. Sci. 12, 186.
2. Nelson, N. and Taiz, L. (1989) Trends in Biochem. Sci. 14, 113.
3. Serrano, R. (1989) Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 40, 61.
4. Boutry, M., Michelet, B. and Goffeau, A. (1989) Biochem. Biophys. Res. Commun. 162, 567.
5. Harper, J. F., Surowy, T. K. and Sussman, M. R. (1989) Proc. Natl. Sci. USA 86, 1234.
6. Pardo, M. M. and Serrano, R. (1989) J. Biol. Chem. 264, 8551.
7. Ewing, N. N., Wimmers, E.L., Meyer, D. J., Chetelat, R. T. and Bennett, A. B. (1990) Plant Physiol, 94, 1874.
8. Futai, M., Noumi, T. and Maeda, M. (1989) Annu. Rev. Biochem. 58, 113.
9. Hay, R., Bohni, P. and Gasser, S. (1984) Biochem. Biophys. Acta 779, 65.
10. Iwasaki, Y. and Asahi, T. (1985) Plant Mol. Biol. 5, 339.
11. Hack, E. and Leaver, C. J. (1983) EMBO J. 2, 1783.
12. Ellis, R. J. (1981) Ann. Rev. Plant Physiol. 32, 111.
13. Uchida, E., Ohsumi, Y. and Anraku, Y. (1985) J. Biol. Chem. 260, 1090.
14. Xie, X. S. and Stone, D. K. (1986) J. Biol. Chem. 261, 2492.
15. Arai, H., Terres, G., Pink, S. and Forgac, M. (1988) J. Biol. Chem. 261, 8796.
16. Moriyama, Y. and Nelson, N. (1987) J. Biol. Chem. 263, 9175.
17. Percy, J. M., Pryde, J. G. and Apps, D. K. (1985) Biochem. J. 232, 557.
18. Mandala, S. and Taiz, L. (1986) J. Biol. Chem. 261, 12850.
19. Manolson, M. F., Rea, P. A. and Poole, R. J. (1985) J. Biol. Chem. 260, 12273.
20. Randall, S. K. and Sze, H. (1986) J. Biol. Chem. 261, 1346.
21. Marin, B., Preisser, J. and Komor, E. Eur. J. Biochem. 151, 131.
22. Matsuura-Endo, C., Maeshima, M. and Yoshida, S. (1990) Eur. J. Biochem. 187, 745.
23. Bowman, E. J. (1983) J. Biol. Chem. 258, 15238.
24. Nelson, H. Mandiyan, S. and Nelson, N. (1987) J. Biol. Chem. 262, 15780.
25. Lichko, L. P. and Okorakov, L. A. (1985) FEBS Lett. 187, 349.
26. Gluck, S. and Caldwell, J. (1987) J. Biol. Chem. 262, 15780.
27. Moriyama, Y. and Nelson, N. (1987) J. Biol. Chem. 262, 14723.
28. Manolson, M. F., Quелlette, B. F., Filion, M. and Poole, R. J. (1988) J. Biol. Chem. 263, 17987.
29. Zimnak, L., Dittrich, P., Gogarten, J. P., Kibak, H. and Taiz, L. (1988) J. Biol. Chem. 263, 9102.
30. Bowman, B. J., Allen, R., Wechser, M. and Bowman, E. J. (1988) J. Biol. Chem. 263, 14002.
31. Bowman, E. J., Tenny, K., Bowman, B. J. (1988) J. Biol. Chem. 263, 13994.

32. Nelson, H., Mandiyan, S. and Nelson, N. (1989) *J. Biol. Chem.* 264, 1775.
33. Nandel, M., Moriyama, Y., Hulmes, J. D. and Pan, Y. C., Nelson, H. and Nelson, N. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 5521.
34. Nelson, H. and Nelson, N. (1989) *FEBS Lett.* 247, 147.
35. Lai, S., Watson, J. C., Hansen, J. N. and Sze, H. (1991) *J. Biol. Chem.* 266, 16078.
36. Meagher, L., Mclean, P. and Finbow, M. E. (1990) *Nucle. Acid Res.* 18, 6712.
37. Birman, S., Meunier, F. M., Lesbats, B., Le Caer, J. P. and Rossier, J. and Israel, M. (1990) *FEBS Lett.* 261, 303.
38. Hanada, H., Hasebe, Y., Moriyama, Y., Maeda, M. and Futai, M. (1991) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 151, 1339.
39. Konishih, J., Wkagi, T., Oshima, T. and Yoshida, M. (1987) *J. Biochem.* 102, 1379.
40. Lubben, M., Lunsdorf, H. and Schafer, G. (1987) *Eur. J. Biochem.* 167, 211.
41. Inatomi, K. (1986) *J. Bacteriol.* 167, 837.
42. Nanba, T. and Mukohata, Y. (1987) *J. Biochem.* 102, 591.
43. Hochstein, L. I., Kristijansson, H. and Altekav, W. (1987) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 147, 295.
44. Konishi, J., Oshima, T., Wakagi, T., Uchida, E., Ohsumi, Y., Anraku, Y., Matsumoto, T., Wakabayashi, T., Mukohata, T., Ihara, K., Inatomi, K., Ohta, T., Allison, W. S. and Yoshida. (1990) *J. Biochem.*
45. Mukohata, Y., Ihara, K., Yoshida, M., Konishi, J., Sugiyama, Y. and Yoshida, M. (1987) *Arch. Biochem. Biophys.* 259, 650.
46. Inatomi, K., Eya, S., Maeda, M. and Futai, M. (1989) *J. Biol. Chem.* 264, 10954.
47. Denda, K., Konishi, J., Oshima, T., Date, T. and Yoshida, M. (1988) *J. Biol. Chem.* 263, 17251.
48. Denda, K., Konishi, J., Oshima, T. and Yoshida, M. (1988) *J. Biol. Chem.* 263, 17251.
49. Mukohata, Y. and Yoshida, M. (1987) *J. Biochem.* 102, 797.
50. Hodges, T. K., Leonard, R. T., Bracker, C. E. and Keenan, T. W. (1972) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 69, 3307.
51. Dupont, F. M., Burke, L. L., Spanswick, R. M. (1981) *Plant Physiol.* 67, 59.
52. Briskin D. P. and Poole, R. J. (1983) *Plant Physiol.* 71, 350.
53. Sze, H. (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77, 5940.
54. O'Neillk, S. D., and Spanswick, R. M. (1983) submitted for publication
55. Serrano, R. (1985) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 121, 735.
56. Anthond, G. E. and Spanswick, R. M. (1986) *Plant Physiol.* 81, 1080.
57. Nagao, T., Sasakawa, H. and Sugiyama, T. (1987) *Plant Cell Physiol.* 28, 1181.
58. Clement, J. D., Chislain, M., Dufour, J. P. and Scalla, R. (1986) *Plant Science* 5, 43.
59. Serrano, R. (1988) *Biochim. Biophys. Acta* 947, 1.

60. Hager, A., Menzel, H. and Krauss, A. (1971) *Planta* 100, 47.
61. Rayle, D. L. and Cleland, R. (1970) *Plant Physiol.* 46, 250.
62. Marre, E. (1979) In recent advances in the biochemistry of cereals, ed, R.G.WynJones D. L. Laidman 3-25 New York Academic press
63. Poole, R. J. (1978) *Annu. Rev. Plant. Physiol.* 29, 437.
64. Serrano, R. (1985) *Plasma membrane ATPase of Plants and Fungi*. Boca Raton Fla: CRC press
65. Reihold, L., Seiden, A. and Voloketa, M. (1984) *Plant Physiol.* 75, 846.
66. Reuveni, M., Colombo, R., Lerner, H. R., Pradet, A. and Poljakoff-Mayer, A. (1987) *Plant Physiol.* 85, 383.
67. Wyse, R. E., Zamski, E. and Tomos, A. D. (1986) *Plant Physiol.* 81, 478.
68. Assmann, S. M., Simoneini, L. and Schroeder, J. I. (1985) *Nature* 318, 285.
69. Serrano, E. E., Zeiger, E. and Hagiwara, S. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 436.
70. Shimazaki, K., Iino, M. and Zeiger, E. (1986) *Nature* 319, 324.
71. Brummell, D. A. and Hall, J. L. (1987) *Plant Cell Environ.* 10, 523.
72. Evans, M. L. (1985) *CRC Crit. Rev. Biol.* 2, 317.
73. Rayle, D. L. and Cleland, R. (1977) *Curr. Top. Dev. Biol.* 11, 187.
74. Luttge, U. and Higinbotham, N. (1979) *Transport in Plants* Berlin: Springer Verlag
75. Bidwai, A. P. and Takemoto, J. Y. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84, 6755.
76. Bidwai, A. P., Zhang, L., Bachmann, R. C. and Takemoto, J. Y. (1987) *Plant Physiol.* 83, 39.
77. Schaller, G. E. and Sussman, M. R. (1988) *Planta* 173, 509.
78. Nelson, N. (1989) *J. Bioenerg. Biomembrane* 21, 553.
79. Amory, A., Foury, F. and Goffeau, A. (1980) *J. Biol. Chem.* 255, 9353.
80. Jordan, E. M. and Raymond, S. (1969) *Anal. Biochem.*
81. Maeshima, M. and Asahi, T. (1978) *Arch. Biochem. Biophys.* 187, 423.
82. Lowry, O. H., Rosenbraough, N. JH., Farr, A. L. and Landall, R. J. (1951) *J. Biol. Chem* 236, 1680.
83. Laemmli, U. K. (1970) *Nature* 227, 680.
84. Wiedell, S., Lundborg, T. and Larsson, C. (1982) *Plant Physiol.* 70, 1492.
85. Lurie, S., Hendrix, D. L. (1979) *Plant Physiol.* 63, 936.
86. Pierce, W. S. and Hendrix, D. L. (1979) *Planta* 146, 161.
87. Perlin, D. S. and Spanswick, R. M. (1980) *Plant Physiol.* 65, 1053.
88. Nagahashi, G., Leonard, R. T. and Thomson, W. W. (1978) *Plant Physiol.* 61, 993.
89. Bowman, B. J., Berenski, C. J. and Jung, C. Y. (1985) *J. Biol. Chem.* 260, 8726.
90. Kasamo, K. (1986) *Plant Physiol.*, 80, 818.
91. Cocucci, M. C. and Marre, E. (1991) *Plant Science* 73, 45.
92. Dharmaram, R. M. and Konisky, J. (1989) *J. Biol. Chem.* 264, 14085.



93. Pugin, A., Maginin, T. and Gaudemer, Y. (1991) *Plant Science* 73, 23.
94. Brown, D., Hirsch, S. and Gluck, S. (1988) *Nature* 331, 622.
95. Brown, D., Gluck, S. and Hartwig, J. (1988) *J. Cell Biol.* 105, 1637.
96. Blair, H., Teitelbaum, S. and Gluck, S. (1989) *Science* 245, 855/
97. Wang, Z. and Gluck, S. (1990) *J. Biol. Chem.* 265, 21957.
98. Wieczorek, H., Putzenlechner, M., Zeiske, W. and Klein, V. (1991) *J. Biol. Chem.* 266, 15340.
99. Johnson, R. A. and Walseth, T. F. (1979) *Adv. Cyclic Nucleotide Res.* 10, 135.
100. Saccomi, G., Stewart, H. B., Shaw, D., Lewin, M. and Sachs, G. (1977) *Biochim, Biophys. Acta*, 465, 311.
101. Ikemoto, N., Bhatnager, G. M. and Gergely, J. (1971) *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 44, 1510.
102. Bowman, F. J., Blasco, F. and Slaymen, C. W. (1981) *J. Biol. Chem.* 256, 12343.
103. Malpartida, F. and Serrano, R. (1980) *FEBS Lett.* 111, 69.
104. Walker, J. E., Fearnley, I. M., Gay, N. J., Gibson, B. W., Northrop, F. D., Powell, S. J., Runswick, M. J., Saraste, M. and Tybulewicz, V. L. J. (1985) *J. Mol Biol.* 184, 677.
105. Futai, M. (1977) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 79, 1231.
106. Kagawa, Y. and Nukiwa, N. (1981) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 100, 1370.
107. Hiki, J., Maeda, M., Mukohata, Y. and Futai, M. (1988) *FEBS Lett.* 232, 221.
108. Yoshida, M., Okamoto, H., Sone, N., Hirata, H. and Kagawa, Y. (1977) *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 74, 936.
109. Kagawa, Y., Sone, N., Ysohda, M., Hirata, H. and Okamoto, H. (1976) *J. Biochem.* 80, 141.
110. Sternweis, P. C. and Smith, J. B. (1980) *Biochemistry* 19, 526.
111. Dupuis, A., Lunardi, J., Issartel, J. P. and Vignais, P. V. (1985) *Biochemistry* 24, 734.
112. Arselin, G., Gandar, J., Guerin, B. and Velours, J. (1991) *J. Biol. Chem.* 226, 723.
113. Hack, E. and Leaver, C. J. (1983) *EMBO J.* 2, 1783.
114. Spitsberg, V. L., Pfeifer, N. E., Patridge, B., Wylie, D. E. and Schuster, S. M. (1985) *Plant Physiol.* 77, 339.
115. Randall, S. K., Wang, Y. and Sze, H. (1985) *Plant Physiol.* 79, 957.
116. Dunn, P. P. J., Slabas, A. R. and Moore, A. L. (1985) *Biochem. J.* 225, 821.
117. Iwasaki, Y. and Asahi, T. (1983) *Arch. Biochem. Biophys.* 227, 164.
118. Horack, A. and Packer, M. (1985) *Biochim. Biophys. Acta* 810, 310.
119. Horak, A., Horak, H. and Pakcer, M. (1987) *Biochim. Biophys. Acta* 893, 190.
120. Boutry, M., Briquet, M. and Goffeau, A. (1983) *J. Biol. Chem.* 258, 8254.
121. Twobin, H., Staehelin, T. and Gordon, J. (1979) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76, 4350.
122. Kobayashi, K., Iwasaki, Y., Sasaki, T., Nakamura, K. and Asahi, T. (1986) *FEBS Lett.* 203, 144.

123. Boutry, M. and Chua, N. H. (1985) *EMBO J.* 4, 2159.
124. Kobayashi, I., Nakamura, K. and Asahi, T. (1987) *Nucleic Acids Res.* 15, 7177.
125. Kanazawa, H., Hama, H., Rosen, B. P. and Futai, M. (1985) *Arch. Biochem. Biophys.* 241, 364.
126. Miki, J., Takayama, M., Noumi, T., Kanazawa, H., Maeda, M. and Futai, M. (1986) *Arch. Biochem. Biophys.* 251, 458.
127. Yoshida, N. and Nakamura, K. (1991) *J. Biochem.* 110, 196.
128. Nakamura, K., Iwasaki, Y. and Hattori, T. (1986) *Gene* 44, 347.
129. Okayama, H. and Berg, P. (1982) *Mol. Cell Biol.* 2, 161.
130. Hanahan, D. (1983) *J. Mol. Biol.* 166, 557.
131. Watanabe, A. and Price, C. A. (1982) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79, 6304.
132. Yanisch-Perron, C., Vieira, J. and Messing, J. (1985) *Gene* 33, 103.
133. Kyte, J. and Doolittle, R. F. (1982) *J. Mol. Biol.* 157, 105.
134. Maniatis, T., Fritsch, E. F. and Sambrook, J. (1982) *Molecular cloning: A laboratory manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY
135. Kozak, M. (1986) *Cell* 44, 283.
136. Elliston, K. and Messing, J. (1988) *Architecture of Eukaryotic Genes*, ed. Kahl, G. 21. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim
137. Hattori, T., Nakagawa, T., Maeshima, M., Nakamura, K. and Asahi, T. (1985) *Plant Mol. Biol.* 5, 313.
138. Yoshida, N. and Nakamura, K. (1991) *J. Biochem.* 110, 196.
139. Sakajo, S., Nakamura, K. and Asahi, T. (1987) *Eur. J. Biochem.* 165, 437.
140. Herrmans, J., Rother, C., Bichler, J., Steppuhn, J. and Herrmans R. G. (1988) *Plant Mol. Biol.* 10, 323.
141. Walker, J. E., Gay, N. J., Powell, S. J., Kostina, M. and Dyer, M. R. (1987) *Biochemistry* 26, 8613.
142. Lee, M., Jones, D. and Mueller, D. M. (1988) *Nucleic Acid Res.* 16, 8181.
143. von Heijine, G. (1986) *EMBO J.* 5, 1335.
144. Roise, D., Theiler, F., Horraath, S. J., Tomich, J. M., Richards, J. H., Allison, D. S. and Schatz, G. (1988) *EMBO J.* 7, 649.
145. Eisenberg, D., Schwrz, E., Komaromy, M. and Wall, R. (1984) 179, 125.
146. Hurt, E. C. (1987) *Trends in Biochem. Sci.* 12, 369.
147. Mori, M., Morita, T., Ikeda, F., Amaya, Y., Tatibana, M. and Cohen, P. P. (1981) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78, 6056.
148. Hurt, E. C., Pesold-Hurt, B. and Schatz, G. (1984) *EMBO J.* 3, 3149.
148. Hurt, E. C., Pesold-Hurt, B., Suda, K., Oppliger, W. and Schatz, G. (1985) *EMBO J.* 4, 2061.
150. Emer, S. D., Vassaroti, A., Garret, J., Geller, B. L., Takeda, M. and Douglas, M. G.

- (1986) *J. Cell Biol.* 102, 523.
151. Hurt, E. C., Muller, U. and Schatz, G. (1985) *EMBO J.* 4, 3509.
152. Smagula, C. and Douglas, M. G. (1986) *J. Biol. Chem.* 263, 6783.
153. Horwich, A., Kalowsek, F., Mellman, I. and Rosenberg, L. E. (1985) *EMBO J.* 4, 1129.
154. Horwich, A., Kolowsek, F., Fenton, W. A., Pollock, R. A. and Rosenberg, L. E. (1986) *Cell* 44, 451.
155. Pfanner, N., Hoelen, P., Tropshung, M. and Neupert, W. (1987) *J. Biol. Chem.* 262, 14851.
156. Allison, D. S. and Schatz, G. (1986) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83, 9011.
157. Allison, D. S. and Schatz, G. (1988) *EMBO J.* 7, 649.
158. Hurt, E. C. and von Loon, A. P. G. M. (1986) *Trends in Biochem. Sci.* 11, 204.
159. Hase, T., Muller, U., Rienzman, H. and Schatz, G. (1984) *EMBO J.* 3, 3157.
160. Deshaies, R. J., Koch, B. D., Werner-Washburne, M., Craig, E. A. and Schekman, R. (1988) *Nature* 332, 800.
161. Murakami, H., Pain, D. and Blobel, G. (1988) *J. Cell, Biol.* 107, 2051.
162. Ono, H. and Tuboi, S. (1988) *J. Biol. Chem.* 263, 3188.
163. Ono, H. and Tuboi, S. (1990) *Arch. Biochem. Biophys.* 277, 368.
164. Ono, H. and Tuboi, S. (1990) *Arch. Biochem. Biophys.* 280, 299.
165. Baker, K. P. and Schatz, G. (1991) *Nature* 349, 205.
166. Sollner, T., Griffiths, G., Pfaller, R., Pfanner, N. and Neupert, W. (1989) *Cell* 59, 1061.
167. Sollner, T., Pfaller, R., Griffiths, G., Pfanner, N. and Neupert, W. (1990) *Cell* 62, 107.
168. Kiehler, M., Pfaller, R., Sollner, T., Griffiths, G., Horstmann, H., Pfanner, N. and Neupert, W. (1990) *Nature*, 348, 610.
169. Ono, H. and Tuboi, S. (1990) *J. Biochem.* 107, 840.
170. Keegstra, K. and Olsen, L. J. (1989) *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 40, 471.
171. Waegemann, K. and Paulsen, H. and Sol, J. (1990) *FEBS Lett.* 261, 89.
172. White, J. A. and Scandalios, J. G. (1987) *Biochem. Biophys. Acta.* 926, 16.
173. Whelan, J., Dolan, L. and Harmey, M. A. (1988) *FEBS Lett.* 236, 217.
174. Unger, E. A., Hand, J. M., Cashmore, A. R. and Vasconcelos, A. C. (1989) *Plant Mol. Biol.* 13, 411.
175. Chaumont, F., O'Riordan, V. and Boutry, M. (1990) *J. Biol. Chem.* 265, 16856.
176. Boutry, M., Nagy, F., Poulsen, C., Aoyagi, K. and Chua, N. H. (1987) *Nature* 328, 340.
177. Schmitz, U. K. and Lonsdale, D. M. (1989) *Plant Cell* 1, 783.
178. Boulter, C., Alliotte, T., Blucke, M. V. D., Bouw, G., Vandekarckhove, J., Montagu, M. V. and Inze, D. (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 3237.
179. Hurltl, F.U., Pfanner, N., Nicholson, D. W. and Neupert, W. (1989) *Biochim. Biophys. Acta* 988, 1.
180. Pfanner, R., Pfanner, N. and Neupert, W. (1989) *J. Biol. Chem.* 264, 34.

181. Haung, J., Hack, E., Thornburg, R. W. and Myers, A. M. (1990) *Plant Cell* 2, 1249.
182. Jefferson, R. A., Kavanagh, T. A., Bevan, M. W. (1987) *EMBO J.* 6, 3901.
183. Ohta, S., Nakamura, K. in preparation.
184. Itoh, H., Fukuda, Y., Murata, K. and Kimura, A. (1983) *J. Bacteriol.* 153, 163.
185. Nagta, T., Okada, K., Kawazu, T., Takebe, I. (1987) *Mol. Gen. Genet.* 207, 242/
186. An, G. (1985) *Plant Physiol.* 79, 568.
187. Matuoka, K., Matumoto, S., Hattori, T., Machida, Y. and Nakamura, K. (1990) *J. Biol. Chem.* 265, 19750.
188. Kanarek, L., Hill, R. L. (1964) *J. Biol. Chem.* 239, 4202.
189. Ikeda, T., Matsumoto, T., Kisaki, T. and Noguchi, M. (1980) *Agric. Biol. Chem.* 44, 135.
190. White, J. A. and Scandalios, J. G. (1989) *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 86, 3534.
191. Walker, J. E., Gay, N. J., Saraste, M. and Eberle, N. (1984) *Biochem. J.* 224, 799.
192. Falk, G. H. A. and Walker, J. E. (1987) *J. Mol. Biol.* 194, 359.
193. Tybulewicz, V. L. and Walker, J. E. (1987) *J. Mol. Biol.* 194, 359.
195. Ovchinnikov, Y. A., Modyanov, N. N., Grinkevich, V. A., Aldanva, N. A., Trubetskaya, O. E., Nazimov, I. V., Hundal, T. and Ernster, L. (1984) *FEBS Lett.* 166, 19.

## 謝辞

本研究を遂行するに当たり、終始親身なご指導をいただきました旭正先生、中村研三先生に厚くお礼申し上げます。

貴重な抗体を提供していただきました杉山達夫先生、渡辺昭先生に厚くお礼申し上げます。

本研究に関して日頃より貴重なご意見をいただきました前島正義先生（北海道大学）、岩崎行玄先生（名城大学）、水戸信彰博士（住友化学）にこの場を借りてお礼申し上げます。

日頃より討論に参加していただいたり、様々なアドバイスをいただきました生物化学研究室の皆様にお礼申し上げます。また本論文の作成に当たりご協力いただきました愛知県食品工業技術センターの皆様には感謝いたします。