




## 論文審査結果の要旨

報告番号	甲 創 第 82 号	氏 名	桐 山 慧
審査委員	主 査	藤野裕道	
	副 査	篠原康雄	
	副 査	山崎尚志	

## 学位論文題目

アミノ酸置換型 GlcNAc-1-phosphotransferase  $\alpha\beta$ を用いた昆虫細胞におけるマンノース 6-リン酸型糖鎖修飾の技術構築

## 審査結果の要旨

哺乳類細胞において、小胞体で N 型糖鎖が付加されるリソソーム酵素の多くは、ゴルジ体で糖鎖末端にマンノース 6-リン酸が付加され、これがリソソームへの移行シグナルとなり、輸送される。この M6P 修飾は、①シスゴルジで N 型糖鎖の末端マンノースへ GlcNAc-1-リン酸が転移、②トランスゴルジにて末端 GlcNAc が切断されることでリン酸基が露出し、M6P 糖鎖が生成の 2 段階で起こる。桐山氏は、昆虫細胞では起こらないリソソーム酵素の M6P 修飾系を人工的に構築することを目的とし、まずヒト GlcNAc-1-phosphotransferase  $\alpha\beta$  遺伝子の昆虫細胞での発現実験を行った。その結果、昆虫細胞では発現産物のほとんどが小胞体に留まり、成熟体への変換効率が低いことが判明した。そこで膜貫通領域付近の二アミノ酸置換体を発現させたところ、シスゴルジへの移行と成熟化が促進されることを明らかにした。さらに、正常型 GNPTAB を共発現した場合に比べ、二アミノ酸置換型 GNPTAB を共発現したサンプルでは、吸着溶出面分に有意に高いリソソーム酵素活性が観察されることを見出した。桐山氏が見出した「2アミノ酸置換型 GNPTAB を用いることで、昆虫細胞におけるその発現産物のシスゴルジ局在化と成熟化を促進できる」という知見は、昆虫細胞におけるリソソーム酵素への人為的な修飾を実現する上で極めて重要であり、学位論文として十分な成果であると判断された。