

平成 25 年度「地神芳文記念研究助成」 成果報告要旨

研究題目：出芽酵母 *cyc8* 変異株を用いたグローバル解析による新規エンド O-マンノシダーゼの同定

研究者：平山弘人

所属：理化学研究所 システム糖鎖生物学研究グループ

タンパク質への糖鎖修飾は、真核生物に共通して見られる翻訳後修飾の一つである。糖鎖修飾はその結合様式により大きく二つに分類することが出来る。一つはタンパク質上のアスパラギン残基のアミド基に対して起こる N-結合型糖鎖修飾、もう一つは、タンパク質のセリン・トレオニン残基の側鎖に含まれるヒドロキシル基に対して起こる O-結合型糖鎖修飾である。これらの修飾はタンパク質自体の安定性を向上させるだけでなく、様々な生体内プロセス(細胞間相互作用, シグナル伝達, 細胞分化, がん細胞の転移等)に深く関わっていることが明らかとなり、糖鎖の生合成経路およびその機能に関わる研究は近年一層注目を浴びている。

一方、糖鎖生合成・機能についての研究とは対照的に、糖鎖の分解・代謝の研究は立ち遅れている。特に 1990 年代後半に発見された細胞質における糖鎖の分解代謝のメカニズムについては、他の糖鎖研究分野に比べるとその格差は大きい。我々は、2008 年から出芽酵母をモデル型として、この細胞質における糖鎖代謝の生物学的意義を解明するための解析技術を確立し、解析を継続して行ってきた。その過程で、炭素源を変化させ、マンノースを炭素源とした細胞培養条件下では、タンパク質を修飾している O-結合型糖鎖が切り出され、大量の遊離 O 型糖鎖(fOGs)が生成されることを見出した。その他に得られた幾つかの知見も併せて考えると、出芽酵母は未知のエンド O-マンノシダーゼ(EOM)を有し、何らかの理由で、タンパク質上の O-結合型糖鎖の切り出しを行っている可能性が示唆された。

EOM の発現量はマンノース添加時に、転写レベルで変化しているのかを検討した。その結果、Cyc8 と呼ばれる転写抑制因子の欠損株は、マンノースを炭素源とした培養条件下で、過剰な fOGs を生成することを見出した。この EOM 活性化による過剰な糖鎖脱離反応の結果、細胞壁ストレスが上昇、最終的に生育阻害という表現型を示すことが判明した。現段階において、EOM の転写調節メカニズムについての詳細は不明であるが、EOM の活性は転写抑制因子 Cyc8 により厳密に制御されていることが示唆される。これらの知見を踏まえて、EOM をコードする遺伝子を取得するために、*cyc8* Δ 株の生育の有無を指標としたスクリーニングを考案・実施した、具体的には、*cyc8* Δ 株を突然変異誘起剤 EMS で処理して突然変異を促し、マンノース含有培地上で生育可能となった株を複数取得した。本研究会では、これら変異株の解析結果および fOGs 生成の生物学的意義について発表する予定である。