

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏名	下川倫子
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 北原兼文
	副査 鹿児島大学 准教授 南雄二
	副査 佐賀大学 教授 渡邊啓一
	副査 鹿児島大学 教授 杉元康志
	副査 佐賀大学 教授 光富勝
審査協力者	鹿児島大学 名誉教授 八木史郎
題目	シバフタケとアフリカパンノキの新規レクチンに関する研究 - 一次構造と糖結合特異性 - (Studies on new lectins from <i>Marasmius oreades</i> and <i>Treculia africana</i> - the primary structures and sugar-binding specificities -)
<p>レクチンは自然界に広く分布する糖鎖を認識するタンパク質であり、血液型の分類や、糖タンパク質の単離、炭水化物の構造研究、細胞から生命体全体における糖鎖構造解析に応用されてきた。生物学的なレクチンの役割は多くの場合、細胞表面糖鎖に対するレクチンの結合の結果により生じるものである。従って、応用に用いられるレクチンの糖結合特異性については、新規の結合特異性をもつものが探索されている。</p> <p>本研究では、きのこであるシバフタケ子実体からのレクチン (MOL) とアフリカパンノキ種子からの二種のレクチン (TAA-GとTAA-M) を精製し、それらの糖結合特異性を明らかにするとともに、MOLとTAA-Gについては一次構造を決定した。</p> <p>米国産シバフタケからはリシンタイプのレクチン (MOA) が精製されていたが、日本産シバフタケにはMOAが有するB型血球凝集活性がなく、別のレクチンの存在を予想されたので新規のMOLを見出した。MOLはアシアロフェチュイン固定カラムを用いて精製し、電気泳動では単量体は13 kDaであり、HPLCのゲルろ過では二量</p>	

体であることを明らかにした。N-末端アミノ酸は検出されずブロックされていると考えられた。プロテアーゼでMOLを切断後、生じたペプチドをHPLCで分離し、配列の決定を試みたが全配列を決定することは出来なかった。そのため部分配列からプライマーを作製しmRNAからMOLのcDNA配列を決定した。MOLのオープンリーディングフレームは360塩基長で120残基のアミノ酸配列であることを推定した。また、MOLの64-72残基と96-104残基の配列はQTDGNCGYとQNDGNLVVYで単子葉植物スノードロップのマンノース認識レクチンのファミリーに見られるマンノース結合モチーフQXDXNXVXYを持つこと、針葉樹*Picea abies*レクチンや単子葉植物トウモロコシレクチンとは30%前後の相同性があることを示した。さらに、血球凝集活性阻害とグリカンアレイではN-型結合糖鎖をもつ糖タンパク質のアシアロ化およびアガラクト化糖タンパク質と強く反応し、新規糖結合特異性を持つことを見出した。

アフリカパンノキに見出されたTAA-GとTAA-Mはマンノースアガロースとメリビオースアガロースカラムを用いて精製した。電気泳動とHPLCゲルろ過でTAA-Gは2 kDaと15 kDaの二鎖から、TAA-Mは16 kDaの単鎖からなり、それぞれさらに四量体となっていることを明らかにした。プロテアーゼ消化したTAA-G断片から一次構造を決定し、これが桑科植物にのみ発見されるガラクトース認識ジャカリン近縁レクチン (gJRL) であることを明らかにした。しかし、従来のgJRLとは異なり糖結合部位近傍のアミノ酸残基78と79番目の間に2残基のアミノ酸の挿入が見られた。血球凝集活性阻害とグリカンアレイによる糖結合特異性を調べた結果、T抗原とは反応せず、がん細胞の悪性化との関連が認められるCore3 O-結合型糖鎖と特異的に結合することを見出した。一方、TAA-Mはマンノオリゴ糖を認識し、抗原抗体反応よりマンノース認識ジャカリン近縁レクチンであることを示した。

本研究では、植物に存在するスノードロップ型レクチンを担子菌・日本産シバフタケに初めて見出した。また、アフリカパンノキからのTAA-Gは従来のgJRLとは異なるCore3 O-結合型糖鎖に選択性の高いレクチンであることを明らかにした。本研究結果は、レクチンの応用において新規糖鎖認識レクチンを提供するものである。

以上のことから、本論文は博士（農学）の論文として十分に価値のあるものと判定した。