

平成 30 年度「地神芳文記念研究助成」

成果報告要旨

研究題目： 細胞質分裂において局所的アクトミオシン相互作用が
収縮環全周の運動に統合されるメカニズム

研究者： 上原 亮太

所属： 北海道大学大学院 先端生命科学研究院

菌類や動物類における細胞質分裂の細胞膜変形は、収縮環のアクチン細胞骨格とミオシンモータータンパク質の相互作用によって駆動される。しかし、筋サルコメアのような厳密に整列した構造を持たない収縮環におけるアクトミオシンのミクロの相互作用が、高度の制御された収縮環運動に統合されるメカニズムは明らかでない。この問題にアプローチするためには、収縮環の一部でアクトミオシンの相互作用を局所的に人為改変して、収縮環全体の構造や運動への影響を評価する実験系の構築が有用であると考えられる。

そこで本研究では、北海道大の玉置信之教授研究室で開発された光応答性 ATP アナログ (Kumar et al., 2014 *ACS Nano*; Menezes et al., 2017 *Org. Biomol. Chem.*) を、学習院大馬淵一誠教授研究室で開発された分裂酵母 *in vitro* 収縮環モデル (Mishra et al., 2013 *Nat. Cell Biol.*) に導入することで、収縮環のアクトミオシン相互作用を局所光制御できる実験系を構築することを目的とした。現在までに、ATP アナログが収縮環モデルの収縮運動を駆動するエネルギー供与体として機能することを明らかにし、照射光波長依存的に収縮環運動の効率を変化させることにも成功している。一方、局所的な運動制御の実現に克服しなければいけない技術的課題も明らかになってきたため、これについても報告する。さらに、上記の目的達成のための展望と関連して、我々がごく最近玉置研究室と共同開発した光応答性の分裂期染色体運動阻害剤 (Mafy et al., 2020 *J. Am. Chem. Soc.*) についても紹介したい。

※ 本研究は、インド Tata 研究所の Mithilesh Mishra 博士および北海道大学電子科学研究所の玉置信之博士、北海道大学生命科学院の比留間翔太氏との共同研究として実施した。

令和元年度「地神芳文記念研究助成」

成果報告要旨

研究題目： 黄麹菌を用いた均一糖鎖含有糖タンパク質生産に向けた解析

研究者： 樋口裕次郎

所属： 九州大学大学院農学研究院

真核生物が産生する分泌タンパク質の多くには糖鎖が付加され、その糖鎖構造はタンパク質の安定性や機能性に関与している。近年拡大しているバイオ医薬品市場では、糖タンパク質が多くを占め、生産量の確保が重要課題である。糖タンパク質バイオ医薬品の糖鎖構造は、その薬効に大きな影響を与えることが多い。しかし、細胞を用いて調製された糖タンパク質の糖鎖構造は一般的にヘテロであるため、その薬効も同様に不均一なものになる。そこで、糖タンパク質のバイオ医薬品生産において、特に糖鎖構造の均一性が求められている。現在、均一な糖鎖構造を持つ糖タンパク質を調製する手法として、糖タンパク質をまず *endo-β-N-acetylglucosaminidase* (ENGase) で処理し、得られた *N-GlcNAc* タンパク質を基質に、均一な糖鎖を糖供与体とした糖転移酵素により均一糖鎖タンパク質を作製する方法がある。そこで、均一糖鎖構造を有する糖タンパク質を調製する前段階として、*N-GlcNAc* タンパク質を多量に調製することが必要となる。近年、植物種子細胞を用いて、ゴルジ体において ENGase の一種である *Hypocrea jecorina* 由来の EndoT を発現させることで、異種糖タンパク質を *N-GlcNAc* タンパク質として多量に生産した報告がなされ、この手法は GlycoDelete と名付けられた。しかし、植物を用いているため、*N-GlcNAc* タンパク質生産には手間がかかり、より簡便な方法が求められた。一方、黄麹菌 *Aspergillus oryzae* は、異種タンパク質の生産宿主としてよく利用され、安全でかつ高いタンパク質分泌能力を有する。そこで本研究では、黄麹菌を用いて *N-GlcNAc* タンパク質を多量に調製するために、AoGlycoDelete 株を作製するとともに、その株の諸性質解析を行った。その結果、AoGlycoDelete 株を用いて黄麹菌由来の分泌糖タンパク質である α -アミラーゼに対して、*N*型糖鎖の *GlcNAc* が 1 分子だけ残存した *N-GlcNAc-α*-アミラーゼを安定に分泌生産し、かつ酵素活性を保持していることを明らかにした。現在、異種糖タンパク質の *N-GlcNAc*-タンパク質生産および均一糖鎖の糖転移反応についても試みており、そうした結果についてもお示ししたいと思います。