Osaka University Knowledge Archive

Title	Substrate Specificity of Cytosolic α－Mannosidase from Japanese Quail Oviduct
Author(s)	奥, 久司
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38038
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【14】

氏　　名	奥（おく）　久（ひさ）　司（し）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学位記番号	第　10120　号
学位授与年月日	平成4年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科　有機化学専攻
学位論文名	Substrate Specificity of Cytosolic α－Mannosidase from Japanese Quail Oviduct（ウズラ輸卵管の細胞質 α－マンノシダーゼの基質特異性について）
論文審査委員	（主査） 教　授　長谷　純宏 （副査） 教　授　福井　俊郎　　教　授　崎山　文夫

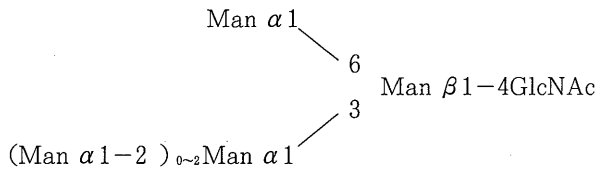
論文内容の要旨

細胞内における糖蛋白質の異化は従来リソソームで行なわれていると考えられてきたが，最近細胞質でも行なわれていることが示唆されている。私は糖蛋白質のオリゴマンノース型糖鎖の分解に関与していると思われる細胞質α－マンノシダーゼの機能を探るため，まずその基質特異性を解析する方法の開発を行なった。

様々な糖蛋白質から調製したオリゴマンノース型糖鎖計21種類のピリジルアミノ（ＰＡ－）誘導体を，分子サイズで分画する高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）と逆相ＨＰＬＣを組み合わせることにより分離した。これによりα－マンノシダーゼ消化物の構造を微量でしかも系統的に解析することが可能になった。

一方，細胞質α－マンノシダーゼとして，ウズラ輪卵管中にCo^{2+}により活性化される中性の至適pHを有する可溶性のα－マンノシダーゼを検出した。これらの特徴が従来報告されている細胞質α－マンノシダーゼの特徴であることと細胞分画で本酵素活性のほとんどが輪卵管ホモゲネートの105,000×g上清画分に得られたことより，本酵素は細胞質α－マンノシダーゼであると考えられた。そこでウズラ200羽の輪卵管より本酵素を種々のクロマトグラフィーにより，比活性で約3,000倍に精製した。この酵素はＰＡＧＥ及びＳＤＳ－ＰＡＧＥで単一なバンドを示し，還元した後ＳＤＳ－ＰＡＧＥで調べると100,000，65,000，50,000の3種類のサブユニットからなると推定され，ゲルろ過から測定した分子量は約330,000であった。本酵素はp-Nitrophenyl α-D-mannopyranosideと$Man_5GlcNAc_2$-PA（Km値，3 mM）を水解した。活性の至適pHは7.0で二価の金属イオンにより活性化され，Co^{2+}が最も有効であった。

このα－マンノシダーゼの基質特異性を，21種類のオリゴマンノース型糖鎖を基質に用いて詳細に解析した。還元末端が$GlcNAc_2$からなる基質に対し，本酵素は非還元末端Man α1－3，Man α1－6残基をよく水解したが，Man α1－2残基は水解しにくかった。また，還元末端の立体構造が大きい基質に対し反応速度は減少する傾向を示したが基質特異性は同じであった。これらの反応の最終生成物は$Man\ \beta1-4GlcNAc_2$であった。一方，還元末端がGlcNAcからなる基質に対して反応速度は著しく上昇し（16倍以上），これらの最終生成物は次のような構造であった。



以上の結果より，還元末端がGlcNAcからなるオリゴマンノース型糖鎖は本酵素の細胞質内の基質と推定され，本酵素が細胞質においてオリゴマンノース型糖鎖のエンド-β-*N*-アセチルグルコサミニダーゼ消化物を水解している可能性が推定された。

論文審査の結果の要旨

本論文は，細胞質中のCo^{++}で活性化される330kDaのα-マンノシダーゼを見出し単一に精製した。種々の蛍光標識糖鎖とＨＰＬＣを用いてこの酵素の基質特異性を詳細に解析した結果，このエキソ型酵素は特異な基質水解様式を示すことが明らかとなった。基質特異性からこの酵素は糖蛋白質糖鎖の細胞質中における異化を行っており，新しい経路があることを示唆した，以上より本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。