



Title	Biosynthesis of blood group I and i antigens in rat tissues : Identification of a novel $\beta$ 1-6N-acetylglucosaminyltransferase
Author(s)	顧, 建国
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38135">https://hdl.handle.net/11094/38135</a>
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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	顧 建 国
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 6 1 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 5 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科生理系専攻
学 位 論 文 名	Biosynthesis of blood group I and i antigens in rat tissues : Identification of a novel $\beta$ 1 - 6 N-acetylglucosaminyltransferase (ラットにおける I 及び i 抗原合成酵素—新しい $\beta$ 1 - 6 N-acetylglucosaminyltransferase の発見)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 谷口 直之 (副査) 教 授 田川 邦夫 教 授 濱岡 利之

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目 的)

糖タンパクや糖脂質の糖鎖構造は、発生や癌化の過程で著しく変化することが知られており、さらに一部糖鎖構造が白血球や血管内皮細胞との接着においても重要な役割を演じることが証明されてきた。このような糖鎖構造の発現の調節には、糖鎖合成にかかわる糖転移酵素が重要であると考えられている。血液型の一つ I/i 抗原は昔から分化抗原としてよく知られている。I/i 抗原の決定基は血液型 ABO 式, Lewis 式, P 式などと同様に、糖鎖部分にあることが知られている。I 抗原は分枝構造合成酵素  $\beta$  1 - 6 N-acetylglucosaminyltransferase ( $\beta$  1 - 6 GnT) の産物であり、i 抗原は直鎖上に延びる合成酵素  $\beta$  1 - 3 N-acetylglucosaminyltransferase ( $\beta$  1 - 3 GnT) の産物である。現在までに、ヒト赤血球における発育に伴う I 抗原の出現や、マウス白血病細胞株の分化に伴う i 抗原から I 抗原への変化などが報告されている。I 抗原の生合成には数種類の  $\beta$  1 - 6 N-acetylglucosaminyltransferase が報告されてきたが、血液細胞に優位である 2 型糖鎖の I 抗原の生合成経路はよく知られていない。そこで本研究は異なる acceptor を用いて、ラットにおける I および i 抗原合成経路を明らかにすることを目的とした。

#### (方法ならび成績)

糖脂質パラグロボシドの糖鎖部分であり、血液型抗原としてもっとも基本的な糖鎖であるラクト-N-ネオテトラオース (nLcOse<sub>4</sub>) の還元末端を 2-アミノピリジンで蛍光標識した nLcOse<sub>4</sub>-PA 酵素基質とし、一方、ドナー基質として、UDP-GlcNAc を用い、HPLC にて分離定量する方法により、ラットにおける  $\beta$  1 - 6 および  $\beta$  1 - 3 GnT の簡便でしかも高感度の活性測定法を確立した。ラット血清、小腸などのホモジネートを用いて酵素活性を測定すると、2 種類の産物が観察された。一つは分枝構造を取り、 $\beta$  1 - 6 GnT による産物であり、もう一つは直鎖構造を取る  $\beta$  1 - 3 GnT による産物であることが NMR およびメチル化分析で明らかになった。ラットにおける両酵素の臓器分布を見ると、 $\beta$  1 - 6 GnT は小腸に非常に多く、 $\beta$  1 - 3 GnT は小腸、血清などに多い。酵素活性条件として、 $\beta$  1 - 3 GnT は至適 pH7.5, Mn<sup>2+</sup> を要求するが、 $\beta$  1 - 6 GnT は至適 pH7.0, 金属を要求しないという特徴がある。 $\beta$  1 - 3 GnT の一番良い基質は Gal  $\beta$  1 - 4 GlcNAc-OR である。 $\beta$  1 - 6 GnT は、以前、他のグループが lacto-triaose (三糖) を基質とする酵素の存在を報告した。そこで、この酵素が我々のものと同一かどうかを検討するため、小腸の粗酵素抽出液を QAE-Sepharose につけ、0.2M と 0.5M NaCl 溶液の段階溶出で分画してみたところ、両酵素活性のピークは全く異なる位置に溶出された。0.2M NaCl で溶出されたのが四糖 (Gal  $\beta$  1 - 4 GlcNAc  $\beta$  1 - 3 Gal

$\beta$  1-4 Glc) を基質とする  $\beta$  1-6 GnT であり, 一方, 0.5M NaCl で溶出されたのが従来より報告された三糖 (GlcNAc  $\beta$  1-3 Gal  $\beta$  1-4 Glc) を基質とする  $\beta$  1-6 GnT である。つぎに, それぞれ溶出段階で活性の高い画分を集め両  $\beta$  1-6 GnT の基質特異性を調べると, 0.2M NaCl で溶出された  $\beta$  1-6 GnT は作用する至適基質が Gal  $\beta$  1-4 GlcNAc  $\beta$  1-3 Gal-OR であるが, 0.5M NaCl で溶出された方は GlcNAc  $\beta$  1-3 Gal-OR であることが判明した。

(総 括)

以上の結果から, ラットにおける i 抗原合成酵素  $\beta$  1-3 GnT はおそらく以前報告されたものと同一の性質を有するものと思われる。一方, 2 型糖鎖の I 抗原合成酵素  $\beta$  1-6 GnT は 2 種類が存在し, 一つは従来の報告と同一の三糖を基質とする  $\beta$  1-6 GnT であり, もう一つはまったく新しい基質特異性をもった 4 糖を基質とする  $\beta$  1-6 GnT であった。これにより, ラットにおける I 抗原の生合成経路は二つあることが明らかになった。また, 本研究で見いだした  $\beta$  1-6 GnT はパラグロボンドにも作用することから, 生体内でもパラグロボンドが生理的な基質となっていることが考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は 2 型糖鎖の I/i 抗原生合成経路を明らかにする目的で, ラット組織を用いて lacto-N-neotetraose を基質とする  $\beta$  1-3 及び  $\beta$  1-6 N-acetylglucosaminyltransferase の新しい活性測定法を開発した。さらに基質特異性の研究から, 従来の報告に無い全く新しい  $\beta$  1-6 N-acetylglucosaminyltransferase を発見し, 生体における新たな I 抗原合成経路を見いだした。

本研究は今後, 細胞分化に伴う i 抗原から I 抗原への変化の機構や生体における I 抗原の真の合成経路を解明する上で大きな意義を有し, 学位に値するものと認める。