

Title	CONTROLLED EXPRESSION OF BRANCH-FORMING MANNOSYLTRANSFERASE IS CRITICAL FOR MYCOBACTERIAL LIPOARABINOMANNAN BIOSYNTHESIS
Author(s)	Sena, Chubert Bernardo Castro De
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/58152">https://hdl.handle.net/11094/58152</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	セナ チュベルト ベルナルド カストロ デ SENA, CHUBERT BERNARDO CASTRO DE
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 24097 号
学位授与年月日	平成 22 年 4 月 19 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科予防環境医学専攻
学位論文名	CONTROLLED EXPRESSION OF BRANCH-FORMING MANNOSYLTRANSFERASE IS CRITICAL FOR MYCOBACTERIAL LIPOARABINOMANNAN BIOSYNTHESIS (側鎖形成に関わるマンノース転移酵素の発現制御はマイコバクテリアの リポアラビノマンナン生合成に重要である)
論文審査委員	(主査) 教授 木下タロウ (副査) 教授 杉本 央 教授 堀口 安彦

## 論文内容の要旨

## [ 目 的 ]

Lipomannan (LM) and lipoarabinomannan (LAM) are phosphatidylinositol-anchored glycans, which are components of the mycobacterial cell wall. In *Mycobacterium smegmatis*, the mannan core of LM/LAM constitutes a linear chain of 20-25  $\alpha$ 1,6-mannoses, elaborated by 8-9  $\alpha$ 1,2-mono-mannose side branches. At least two  $\alpha$ 1,6-mannosyltransferases mediate the linear mannose chain elongation, and one branching  $\alpha$ 1,2-mannosyltransferase (encoded by *MSMEG\_4247*) transfers mono-mannose branches. A *MSMEG\_4247* deletion mutant accumulates branchless LAM, and interestingly fails to accumulate LM, suggesting an unexpected role of mannose branching for LM synthesis or maintenance. To understand the physiological roles of *MSMEG\_4247*-mediated branching more clearly, we analyzed the *MSMEG\_4247* deletion mutant in detail.

## [ 方法ならびに成績 ]

Our study showed that the *MSMEG\_4247* deletion mutant restored the synthesis of wild-type LM and LAM upon the expression of *MSMEG\_4247* at physiological levels. In striking contrast, over-expression of *MSMEG\_4247* resulted in the accumulation of dwarfed LM/LAM even though mono-mannose branching was restored. The dwarfed LAM carried a mannan chain, which appeared to be at least half the length of wild-type LAM. Furthermore, its arabinan size was at least 4 times smaller than that of wild-type.

These dwarfing effects of over-expression were dependent on the mannosyltransferase activity of *MSMEG\_4247*. Induced over-expression of an elongating  $\alpha$ 1,6-mannosyltransferase could compete with the over-expressed branching enzyme, alleviating the dwarfing effect of the branching enzyme.

## [ 総 括 ]

These data suggest that branching mannosyltransferase plays a critical role in mannan backbone elongation, apparently in coordination with elongating mannosyltransferases.

## 論文審査の結果の要旨

リポアラビノマンナンは、結核菌など抗酸菌の細胞壁に存在する主要な糖脂質である。リポアラビノマンナンは、宿主の免疫反応を阻害して感染の持続化に働くので、その生合成メカニズムの理解は、抗酸菌感染の効果的な制御を実現するために重要である。リポアラビノマンナン生合成に必要なマンノース転移酵素群が明らかになりつつあるが、それらがどのように協調して多糖部分を作り上げるのか良くわかっていない。本研究は、モデル抗酸菌であるスメグマ菌を用い、マンナン部分に側鎖の付加を行う $\alpha$ 1-2マンノース転移酵素であるMSMEG\_4247が、リポアラビノマンナン生合成に果たす役割を明らかにしようとした。MSMEG\_4247遺伝子を破壊すると、予想通り側鎖がないリポアラビノマンナンができたが、リポアラビノマンナンの前駆体であると考えられているリポマンナンが消失するという予想外の現象が起こった。この破壊株に、MSMEG\_4247を野生株レベルで発現させると、リポアラビノマンナンとリポマンナンは正常になったが、強力なプロモーターで高発現させると、リポアラビノマンナンとリポマンナンがともに非常に小さくなった。糖組成分析から、側鎖の頻度は変わらないが、マンナン主鎖が著しく短くなって、全体が小さくなっていることがわかった。このことから、側鎖を付加するマンノース転移酵素が高発現すると主鎖の伸長が阻害されることが示唆されたので、主鎖の伸長に働く $\alpha$ 1-6マンノース転移酵素であるMSMEG\_4241を同時に高発現させたところ、リポアラビノマンナンの大きさが復元した。すなわち、側鎖形成に関わるマンノース転移酵素の発現制御がリポアラビノマンナンの正常な生合成に重要であることが明らかになった。本研究は抗酸菌の感染メカニズムの理解に寄与する重要な成果であり、学位の授与に値する。