

日時: 2019/10/1 (火) 14:00 –15:00

場所: 遺伝子実験センター, セミナー室 (211)

## CRISPR-CAS9 による糖鎖遊離酵素遺伝子欠損トマトの構築

前田 恵 博士

岡山大学大学院環境生命科学研究科

植物には遊離 *N*-グリカン (free *N*-glycans, FNGs) が遍在している。それら FNGs の生成酵素としてペプチド:*N*-グリカナーゼ (PNGase) とエンド- $\beta$ -*N*-アセチルグルコサミニダーゼ (ENGase) が存在している。植物の糖鎖遊離機構は主にふたつ考えられており, (1) 細胞質にて糖タンパク質の小胞体関連分解機構 (ERAD) に関わる脱糖鎖酵素 (細胞質 PNGase および ENGase) が協調的に作用する経路と, (2) 液胞や細胞外空間にてプロテアーゼ分解物である糖ペプチドに酸性 PNGase が作用する経路である。我々は, FNGs の生理機能を解明するため, 遊離 *N*-グリカンを欠損した植物体の作成を目的として, 脱糖鎖酵素 (細胞質 PNGase/ENGase あるいは酸性 PNGase) の遺伝子を欠損した *A. thaliana* を構築し, 遊離 *N*-グリカン構造解析および表現型解析に取り組んできた。その結果, 野生株では還元末端側に GlcNAc を 1 残基有するハイマンノース型遊離 *N*-グリカン (GN1-HMT-FNGs) が存在している一方で, 細胞質 PNGase/ENGase 欠損体では, それらは検出されず, 還元末端側にキトビオースを有するハイマンノース型遊離 *N*-グリカン (GN2-HMT-FNGs) が存在していることを明らかにした。この結果から, 植物細胞には, 酵母や動物細胞などと同様に, ERAD を介さない遊離 *N*-グリカン生成機構が存在している可能性を推定した。また, 酸性 PNGase 欠損体では, 野生株に比べて 3 分の 1 程度の植物複合型遊離 *N*-グリカン (GN2-PCT-FNGs) が検出され, aPNGase 非依存的な GN2-PCT-FNGs 生成機構の存在を示唆した。「形質転換植物デザイン研究拠点」共同研究課題では, これら FNGs の植物細胞における生理学的重要性を解明する研究の一環として, ゲノム編集技術を用いて PNGase/ENGase を欠損させたトマト植物体の構築を計画している。