

論文審査の要旨および学識確認結果

報告番号	甲第 号	氏 名	丹羽 祐貴
論文審査担当者：			
主査	慶應義塾大学准教授	博士(工学)	清水 史郎
副査	慶應義塾大学教授	農学博士	井本 正哉
	慶應義塾大学教授	工学博士	佐藤 智典
	慶應義塾大学教授	博士(理学)	藤本 ゆかり
<p>(論文審査の要旨)</p> <p>学士(工学)、修士(理学)の丹羽祐貴君提出の学位請求論文は、「分泌型タンパク質における糖鎖修飾の解析とその機能評価」と題し、全5章から構成される。タンパク質の翻訳後修飾の理解は、様々な細胞現象を分子レベルで理解する上で必要不可欠であり、近年になり、より一層その重要性を増してきている。本論文では、それぞれ癌の悪性化への関与が示唆されているタンパク質である「cathepsin V (CTSV)」、「CCN1」、「R-spondin1 (Rspo1)」の3つのタンパク質に対し、糖鎖修飾の存在を示し、それぞれの機能に与える影響を評価した。</p> <p>第1章は序論であり、タンパク質の機能を理解する上での翻訳後修飾、特に糖鎖修飾の重要性と本研究で注目したタンパク質について概説し、本研究の目的を述べている。</p> <p>第2章では、CTSVのN型糖鎖修飾とその役割の解析を行っている。CTSVはAsn²²¹とAsn²⁹²の2ヶ所のN型糖鎖修飾が予測されていたが、その存在は示されておらず、機能解明も行われていなかった。著者は、CTSVの過剰発現細胞を樹立し、精製したCTSVをMALDI-TOF MS解析することで、CTSVのAsn²²¹とAsn²⁹²のN型糖鎖修飾を明らかにした。さらに、N型糖鎖修飾が起らない変異体CTSVの過剰発現細胞を樹立し、野生型発現細胞と比較解析を行うことで、CTSVのN型糖鎖修飾がCTSVの分泌や酵素活性に重要であることを示した。</p> <p>第3章では、CCN1のO型糖鎖修飾とその役割の解析を行っている。CCN1はThr²⁴²にO型糖鎖修飾が予測された。そこで著者は、CCN1の過剰発現細胞を樹立し、精製したCCN1をMALDI-TOF MS解析することで、CCN1のThr²⁴²のO型糖鎖修飾を明らかにした。さらに、O型糖鎖修飾が起らない変異体CCN1を用いた比較実験や、CCN1のO型糖鎖修飾を触媒すると考えられた酵素であるPofut2のノックダウン実験から、CCN1のO型糖鎖修飾がCCN1の分泌を制御していることを明らかにした。</p> <p>第4章では、Rspo1のC型糖修飾の役割と責任酵素の解析を行っている。Rspo1はTrp¹⁵³とTrp¹⁵⁶の2ヶ所でC型糖修飾が予測された。そこで著者は、Rspo1の過剰発現細胞を樹立し、精製したRspo1をLC-MS解析することで、Rspo1のTrp¹⁵³とTrp¹⁵⁶のC型糖修飾を明らかにした。さらに、C型糖修飾が起らない変異体Rspo1を作製し、野生型と比較実験を行うことで、Rspo1のC型糖修飾が分泌やWntシグナル増強活性に重要であることを示した。また、ヒトにおいては未同定であったC型糖転移酵素の同定も試みた。機能欠損及び機能獲得の実験から、Rspo1のTrp¹⁵⁶に対するC型糖転移酵素としてDPY19L3を初めて同定し、またRspo1のTrp¹⁵³に対するC型糖転移酵素としてDPY19ファミリー以外のタンパク質が関与している可能性を示唆した。同時に、同定したDPY19L3をノックダウンすることで、Rspo1の分泌が抑制されることを見出した。以上より、DPY19L3によるRspo1のTrp¹⁵⁶のC型糖修飾が、Rspo1の分泌を制御していることを明らかにした。</p> <p>第5章では総括として、各章により得られた成果のまとめについて記述するとともに、糖鎖修飾研究の展望について述べている。</p> <p>本論文の成果は、各タンパク質の糖鎖修飾の重要性を示しただけでなく、糖鎖修飾の疾患治療標的やバイオマーカーとしての可能性について言及し、今後の糖鎖修飾を指標とした癌の治療法や診断法の開発に貢献することが期待される。さらにC型糖修飾の解析では、ヒトで初めてC型糖転移酵素の同定に至り、新たなC型糖転移酵素の存在を示唆するなど、学術的にも極めて意義深い貢献を含んでいる。よって、本論文の著者は博士(理学)の学位を受ける資格があるものと認める。</p>			
学識確認結果	学位請求論文を中心にして関連学術について上記審査委員で試問を行い、当該学術に関し広く深い学識を有することを確認した。 また、語学(英語)についても十分な学力を有することを確認した。		