

27Q-am01S

トランスジェニックカイコ絹糸腺由来ヒトカテプシン A の分子特性と生物機能評価

○日高 朋¹, 西岡 宗一郎¹, 小林 功², 近藤 まり³, 笠嶋 めぐみ², 月本 準¹, 辻 大輔¹, 瀬筒 秀樹^{2,3}, 伊藤 孝司¹ (徳島大薬・創薬生命工学分野,²生物研・遺伝子組換えカイコ研究開発ユニット,³東大院・新領域・応用生物資源学分野)

【目的】 Protective protein/cathepsin A (CTSA) は、それ自体セリンカルボキシペプチダーゼ (CathA) 活性を示すとともに、リソソーム内で Neuraminidase1 (NEU1) 及び β -Galactosidase (GLB1) と多酵素複合体を形成し、両酵素の活性発現及び安定性を維持している。リソソーム病の一種である Galactosialidosis (GS) は、CTSA をコードする遺伝子変異が原因で発症する常染色体劣性遺伝病であり、CTSA の欠損により多酵素複合体が形成されず、二次的に NEU1 活性が低下する。そのため、末端シアル酸含有糖鎖がリソソームに過剰蓄積し、中枢神経症状などを含む全身症状を引き起こすが、未だ有効な治療法は開発されていない。近年、トランスジェニックカイコ (Tg カイコ) は、そのタンパク質生産能の高さから有用タンパク質の発現系として注目されている。本研究では、リソソーム病治療薬開発を目的として、ヒトリソソーム酵素である CTSA を中部絹糸腺で発現する Tg カイコ (Tg-CTSA) を作製し、絹糸腺由来 CTSA の分子特性と有効性を検討した。

【方法】 Tg-CTSA の中部絹糸腺抽出液から 3 段階のクロマトグラフィー (ConA→Butyl→SP) により CTSA を精製した。繭からは疎水性クロマトグラフィー (Butyl) 等により CTSA を精製した。

【結果・考察】 Tg-CTSA の中部絹糸腺抽出液からは CathA 活性を示す成熟体 CTSA (30/20kDa) を約 15mg/1000 頭精製でき、一方、繭からは前駆体 (50kDa) を部分精製できた。精製成熟体は 37°C、酸性 pH 条件下で自己消化を起こしたが、前駆体は二量体として安定に存在した。現在、各分子種のマンノースレセプターを介した単球細胞内への取り込みとリソソームへの輸送について検討中であり、合わせて報告する予定である。