

130 バイセクト糖鎖の選択的発現機構と作動原理の解明	木塚 康彦
------------------------------------	-------

【目的】 本研究では、「神経系の糖鎖」に着目し、その発現制御機構と作動原理の解明を目的とする。特に、我々の研究によりアルツハイマー病発症を促進させることが見出された「バイセクト糖鎖」に焦点を絞り、いまだ不明であるバイセクト糖鎖の発現制御メカニズムと作動原理を明らかにする。具体的には、本糖鎖がどのように限られたタンパク質に発現するのか、そしてその発現が疾患でどのように破綻するのか、また本糖鎖が物理的にどう働いているのか、という未解決の基本的な問に対する答えを探す。これにより、アルツハイマー病の病態形成メカニズムの解明や新規治療薬の開発へ貢献し、基礎科学・医学の発展に資する基礎研究を目指す。

【方法】 バイセクト糖鎖合成酵素 GnT-IIIや神経系の糖鎖制御因子であるアルギニンメチル化酵素 PRMT1 の遺伝子欠損マウスの脳を対象とし、グライコミクス解析、糖転移酵素の活性測定、遺伝子発現解析、プロテオミクス解析等を行った。

【結果】 バイセクト糖鎖の生理機能を明らかにするため、GnT-III欠損マウスの脳のグライコミクス解析を行ったところ、ルイス型フコース、シアル酸、HNK-1 抗原など、N 型糖鎖の末端構造がおしなべて増加していることがわかった。このメカニズムを詳細に解析した結果、これらの糖鎖末端構造を合成する酵素は、バイセクト型の糖鎖構造に対して親和性が低く、非バイセクト型の糖鎖に比べて低い活性しか示さないことがわかった。このメカニズムを調べるために MD 計算を行ったところ、N 型糖鎖がバイセクト型になると、糖鎖全体のコンフォメーションが変化して、修飾酵素との相互作用が失われて親和性が低下することが推定された。このことから、バイセクト糖鎖は N 型糖鎖の末端修飾全体の生合成を抑制する働きがあると考えられる（下図）。また、生理的な条件の脳でバイセクト糖鎖が付加されているタンパク質を同定するため、野生型と GnT-III 欠損マウスの糖タンパク質をトリプシンで消化し、バイセクト糖鎖を認識する E4-PHA レクチンで濃縮した糖ペプチドをプロテオミクス解析した。その結果、バイセクト糖鎖が付加されている 32 の N 型糖鎖付加部位を同定した。それらの N 型糖鎖付加部位周辺には特徴的なモチーフは見出されなかったことから、GnT-III は立体構造や局在制御など、異なるメカニズムで基質タンパク質を選別していると考えられた。さらに、神経の糖鎖の発現を小脳特異的に抑制する因子として、アルギニンメチル化酵素 PRMT1 を新規に同定した。これまでアルギニンのメチル化と糖鎖修飾の関連性は報告がないことから、小脳における新たな糖鎖発現制御機構の存在が示唆された。

バイセクト糖鎖は N 型糖鎖の末端構造の修飾を抑制する生理機能を持つ

