

30-0001 W28-1

コンドロイチン硫酸の重合反応は複数のコンドロイチン合成酵素からなる酵素複合体によって行われる

○宇山 徹¹, 北川 裕之¹, 泉川 友美¹, 菅原 一幸¹ (¹神戸薬大・生化)

[目的] コンドロイチン硫酸 (CS) は細胞表面や細胞外マトリックスに存在する直鎖状の硫酸化糖鎖で、GalNAc と GlcA の二糖が繰り返し重合した構造からなる。生体内で CS は、コアタンパク質の特異的な Ser 残基に四糖結合領域を介して結合し、プロテオグリカンとして存在している。今までの演者らの研究から、CS 生合成には chondroitin synthase-1¹⁾ (ChSy-1) を始めとする複数の糖転移酵素²⁾ が関与しており、これらが示す機能は部分的に重複している事が明らかになってきた。さらに、ChSy-1 と ChSy-1 に相同性を示す chondroitin polymerizing factor (ChPF)³⁾ とを同一細胞内で共発現させると、これらは複合体を形成し、四糖結合領域上に CS を重合する活性を示す事を明らかにした。一方で演者らは、ChSy-1 にアミノ酸配列で 60%の同一性を示すタンパク質 (ChSy-2) を見つける事に成功し、ChSy-2 が ChSy-1 のアミノ酸配列に見られる膜貫通ドメインと 2 カ所の糖転移活性ドメインを含む事から、ChSy-1 と同様の機能を持つと考えた。そこで、ChSy-2 と ChPF、さらに ChSy-2 と ChSy-1 を共発現させた時、CS 重合活性を調べた。[方法] ChSy-2、ChSy-1 および ChPF の膜貫通ドメイン以降の配列を分泌型発現ベクターに組み込み、可溶性タンパクとして COS-1 細胞で発現させた後、精製し、四糖結合領域のみを持つ α -thrombomodulin をアクセプター基質として用いて重合活性を測定した。[結果・考察] ChSy-2 と ChPF、および ChSy-2 と ChSy-1 の共発現体は、共に相互作用し、重合活性を示した。しかしながら、これらの共発現体が合成するコンドロイチンの長さには違いが見られた。1) *J. Biol. Chem.*, (2001) **276**, 38721-38726, 2) 蛋白質・核酸・酵素, (2003) **48**, 1019-1026, 3) *J. Biol. Chem.*, (2003) **278**, 23666-23671