

30-0002 W28-2

コンドロイチン 4-O-硫酸基転移酵素-1 (C4ST-1)のゼブラフィッシュにおける機能解析

○水本 秀二¹, 小林 直樹¹, 三上 雅久¹, 三宅 歩², 伊藤 信行², 菅原 一幸¹
(¹神戸薬大・生化,²京大院薬・遺伝子)

【目的】コンドロイチン/デルマトン硫酸 (CS/DS) は、ウロン酸と *N*-アセチルガラクトサミン (GalNAc) の 2 糖繰り返し構造から成る硫酸化多糖で、細胞接着、分化、増殖といった機能に重要な役割を果たしている。CS/DS は、様々な硫酸基転移酵素 (ST) により特異的に硫酸化され、多様な構造をとりうるが、その特徴的な硫酸化構造と機能との相関は未だ十分に解明されていない。そこで我々は、GalNAc の 4 位の硫酸化が脊椎動物の CS/DS 鎖に見られる主要な硫酸化構造であることに着目し、CS/DS の GalNAc の 4 位に硫酸基を転移するコンドロイチン/デルマトン 4-O-硫酸基転移酵素 (C4ST/D4ST) のゼブラフィッシュ胚発生における機能解析を試みた。

【方法および結果】ヒトの C4ST/D4ST¹⁾とのホモロジーに基づき、ゼブラフィッシュ胚 cDNA ライブラリーから 3 種の C4ST/D4ST をクローニングし、それらの組み換え酵素を発現させ、基質特異性を明らかにした。特に、コンドロイチンに対して高い基質特異性をもつ C4ST-1 の胚発生過程における発現を *whole mount in situ hybridization* 法により解析したところ、脳、脊索、体節、ヒレ原基などにおいて時間的・空間的に制御された発現が見られた。さらに、C4ST-1 に対するアンチセンスモルフォリノオリゴを利用したノックダウン解析を行なったところ、体軸の形成異常が観察された。

【考察】C4ST-1 ノックダウンによる上記の表現型とその発現部位が一致することから、CS は脊索や体節で重要な機能を担っていると考えられる。今後、CS がどのようなメカニズムでこれらの形成に関わっているのか解析する必要がある。

¹⁾ Mikami *et al.* (2003) *J. Biol. Chem.* 278, 36115-36127.