

ヒト *O*-マンノース転移酵素における *N* 型糖鎖修飾の解析

○萬谷 博¹, 赤阪-萬谷 啓子¹, 遠藤 玉夫¹(¹都健康長寿医療セ)

O-マンノース転移酵素 (POMT) はタンパク質の Ser および Thr にマンノースを転移する酵素である。哺乳類の POMT には相同性のある 2 つのサブユニット POMT1 と POMT2 があり、酵素活性の発現には POMT1-POMT2 複合体の形成が必要である。ヒト POMT1 と POMT2 には *N* 型糖鎖修飾のコンセンサス配列 (Asn-X-Ser/Thr) がそれぞれ 4 ケ所と 5 ケ所存在する。今回、POMT における *N* 型糖鎖の役割について検討した。

site-directed mutagenesis 法により *N* 型糖鎖修飾され得る Asn を Gln に置換した変異体を作製し、分子量の変化から *N* 型糖鎖の修飾部位を決定した。また、変異による POMT 活性への影響を調べた。

変異体の解析から POMT1 では 3 ケ所に、POMT2 では 5 ケ所全ての Asn で糖鎖修飾が確認された。*N* 型糖鎖の修飾は ER の内腔側で行われることから、*N* 型糖鎖が修飾される Asn は内腔側に位置することが分かる。POMT1 と POMT2 は二次構造予測から触媒活性領域を内腔側に持つ多回膜貫通型のモデルが考えられており、今回の結果はこのモデルを支持するものであった。また、POMT1 あるいは POMT2 の Asn を 1 ケ所置換しても、POMT 活性は保持された。さらに、POMT1 か POMT2 のどちらか一方の Asn をすべて置換して *N* 結合型糖鎖を欠失させると、POMT 活性が完全に消失することが分かった。また、糖鎖修飾阻害剤であるツニカマイシンで細胞を処理し、*N* 型糖鎖の修飾を阻害した場合も POMT 活性は消失した。これらの結果から、POMT1 と POMT2 の *N* 型糖鎖は POMT 活性に必要であることが明らかとなった。