

25V-am01

α -ジストログリカンのラミニン結合性糖鎖形成するポストリン酸修飾の構造解析

○矢木 宏和¹, Chu-Wei KUO², 尾林 卓幸¹, 蛭川 暁³, Kay-Hooi KHOO², 加藤 晃一^{1,3}
(¹名市大薬, ²台湾中央研究院, ³自然科学研究機構統合バイオ)

【目的】ジストログライカノパチーは、 α -ジストログリカン (α DG) のラミニン結合性を有する糖鎖の発現異常が認められる先天性筋ジストロフィーの総称である。ごく最近、ISPD、FKTN、FKRP、TMEM5 などのジストログライカノパチーの原因遺伝子産物の *in vitro* 活性が明らかにされ、ラミニン結合性糖鎖の形成の初期過程を担っていることが報告されている。しかしながら、生体内におけるこれらの酵素の役割は十分に明らかにされていない。そこで本研究では、これら一連の原因遺伝子産物のノックアウト (KO) 細胞にリコンビナント α DG を発現させ、液体クロマトグラフータンデム質量分析 (LC-MS/MS) 法により α DG 上の糖鎖の構造を分析することを通じて、生体内におけるこれら遺伝子産物の機能の解明を目指した。

【結果および考察】LC-MS/MS 分析の結果、HEK293T 細胞で発現した α DG にはラミニン結合性糖鎖修飾部位と考えられている T317/T319 サイトのみに、リン酸化 3 糖構造 Man-(phosphate)-GlcNAc-GalNAc の非還元末端側にポストリン酸構造の存在が認められた。その構造は、リビトールリン酸 (RboP) が 2 つタンデムに結合し、その還元末端にさらにキシロースとグルクロン酸が結合した配列を有していた。FKRP の KO 細胞には還元末端側の RboP 修飾のみが認められたことから、本酵素は非還元末端側の RboP 修飾を担っていることが予想された。FKTN および TMEM5 は異なる *in vitro* 活性を有するにも関わらず、両遺伝子産物の KO 細胞で発現させた α DG には、いずれもリン酸化 3 糖構造先に RboP の存在が認められず、還元末端側の RboP の修飾に関与していることが考えられる。一方で、プルダウンアッセイにより、FKTN、および TMEM5 が複合体を形成していることを明らかにした。本研究により、生体内ではこれらの原因遺伝子産物は酵素複合体を形成することで、お互いに糖転移活性を制御し合い、ラミニン結合性糖鎖の形成の初期過程を担っていることが予想される。