POMGnT1 の構造解析による筋ジストロフィー疾患 発症機序解明

高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学研究所・構造生物学研究センター

桑原直之, 加藤龍一

東京都健康長寿医療センター研究所 萬谷 博, 遠藤玉夫

Naoyuki KUWABARA, Ryuichi KATO, Hiroshi MANYA and Tamao ENDO:
Mechanism for the Deficiency in Post-Phosphoryl Modification of α -Dystroglycan
Observed in POMGnT1-Caused Muscular Dystrophy

The dystrophin glycoprotein complex, which connects the cell membrane to the basement membrane, is essential for a variety of biological events, including maintenance of muscle integrity. An *O*-mannose-type GalNAc- β 3-GlcNAc- β 4-Man(-6-phosphate) (core M3) structure of α -dystroglycan (α DG), a subunit of the complex that is anchored to the cell membrane, interacts directly with laminin in the basement membrane. Hypo-glycosylation of α DG is linked to some types of inherited muscular dystrophy; consistent with this relationship, many disease-related mutations have been detected in genes involved in *O*-mannosyl glycan synthesis. Defects in protein *O*-linked mannosyl β 1,2-*N*-acetylglucosaminyltransferase 1 (POMGnT1), a glycosyltransferase that participates in the formation of GlcNAc- β 2-Man glycan, are causally related to muscle-eye-brain disease (MEB), a congenital muscular dystrophy, although the role of POMGnT1 in post-phosphoryl modification of core M3 glycan remains elusive. We found that N-terminal domain of POMGnT1 (called stem domain) recognizes the β -linked GlcNAc of *O*-mannosyl glycan, an enzymatic product of POMGnT1. This interaction may recruit POMGnT1 to a specific site of α -DG to promote GlcNAc- β 2-Man (core M1) clustering and also may recruit other enzymes that interact with POMGnT1, e.g., FKTN which is required for ribitol-phosphate modification of the core M3 glycan that is the first step of post-phosphoryl modification of core M3 glycan. These findings explain how POMGnT1 attaches GlcNAc- β to clustered *O*-mannose sites and influences post-phosphoryl modification of core M3. Our study provides important insight into how disease-associated mutations cause inherited muscular dystrophy pathogenesis.

1. はじめに

1.1 糖鎖修飾とジストログリカノパシー

我々ヒトが日々産生しているタンパク質の多くは糖鎖による翻訳後修飾を受ける。この糖鎖修飾はタンパク質のフォールディング, 局在, 安定性, 相互作用などを調節することで, 細胞接着やウイルス感染などさまざまな細胞間情報伝達を媒介している。さまざまなタンパク質がさまざまな糖鎖修飾を受けることがわかってはいるが, 多くの糖鎖の機能メカニズムは不明である。また, がん細胞など細胞の分化状態によっても糖鎖修飾様式が異なることから, 糖鎖修飾は病気の診断などにも利用されている。

α -ジストログリカン (α -dystroglycan, α DG) は細胞表面に局在する糖タンパク質であり, 膜内タンパク質である β -ジストログリカン (β -dystroglycan, β DG) と複合体を形成している。これらのタンパク質はさらに細胞

内タンパク質であるジストロフィンや複数のタンパク質とともに dystrophin glycoprotein complex (DGC) と呼ばれる複合体を形成し, 細胞内骨格と細胞外マトリックスタンパク質を物理的に繋ぎとめる役割を果たしている。DGC は組織によらず発現しているが, 主に骨格筋での機能が注目されている。骨格筋では細胞の伸収縮が盛んであり, その機械的ストレスに耐えるための DGC の機能が必須である。 α DG は DGC の中で細胞外マトリックスタンパク質と直接相互作用する唯一の因子である。さらに α DG の *O*-マンノース型糖鎖がラミニンなどの細胞外マトリックスタンパク質との相互作用に必須である。¹⁾⁻⁴⁾

この研究の発展は, α DG の *O*-マンノース型糖鎖生合成不全が先天性筋ジストロフィーを引き起こす, という発見がもたらした。筋ジストロフィーは骨格筋の壊死・変性を主病変とし, 進行性の筋力低下を引き起こす遺伝性疾患の総称で, これまでに 50 個以上の原因遺伝子が発見されている。そのうち 17 個が α DG の *O*-マンノー

表1 ジストログリカノパチー遺伝子と機能. (Dystoglycanopathy genes and its function.)

ジストログリカノパチー遺伝子	遺伝子産物機能
<i>POMT1</i>	<i>O</i> -Man transferase (POMT1-POMT2 complex)
<i>POMT2</i>	<i>O</i> -Man transferase (POMT1-POMT2 complex)
<i>POMGnT1</i>	Protein- <i>O</i> -mannose β 2- <i>N</i> -acetylglucosaminyltransferase
<i>GTDC2</i> (<i>POMGnT2</i>)	Protein- <i>O</i> -mannose β 4- <i>N</i> -acetylglucosaminyltransferase
<i>FKTN</i>	Ribitol-5-phosphate transferase
<i>FKRP</i>	Ribitol-5-phosphate transferase
<i>LARGE</i>	β 3-Glucuronyltransferase, α 3-xylosyltransferase
<i>ISPD</i>	Cytidine diphosphate ribitol synthase
<i>DAG1</i>	Dystroglycan
<i>TMEM5</i>	Ribitol β 4-xylosyltransferase
<i>B3GALNT2</i>	β 3- <i>N</i> -acetylgalactosaminyltransferase
<i>SGK196</i> (<i>POMK</i>)	Protein <i>O</i> -linked mannose kinase
<i>B4GAT1</i>	β 4-glucuronyltransferase
<i>GMPPB</i>	GDP-mannose pyrophosphorylase
<i>DPM1</i>	Dolichyl-phosphate mannosyltransferase
<i>DPM2</i>	Dolichyl-phosphate mannosyltransferase
<i>DPM3</i>	Dolichyl-phosphate mannosyltransferase
<i>DOLK</i>	Dolichol kinase

図1 *O*-マンノース型糖鎖修飾経路 (A) と dystrophin glycoprotein complex (DGC) の模式図 (B). (*O*-mannose type glycosylation pathway (A) and schematic figure of dystrophin glycoprotein complex (DGC) (B).)

ス型糖鎖修飾に関与しているが、これらの*O*-マンノース型糖鎖修飾不全を原因とする筋ジストロフィーはジストログリカノパチーと総称されている (表1).

1.2 POMGnT1

POMGnT1 (Protein *O*-mannose β -1,2-*N*-acetylglucosaminyltransferase) は UDP-GlcNAc を基質として、*O*-マンノース型糖鎖の一種である GlcNAc- β 2-Man-*O* (core M1) を合成する糖転移酵素である。2001年に遺伝子がクローニングされ、先天性筋ジストロフィーの muscle-eye-brain 病 (MEB) の原因遺伝子であることが明らかになっている。⁵⁾ 一方、近年の研究により、GTDC2 などが関与する *O*-マンノース型糖鎖である GalNAc- β 3-GlcNAc- β 4-Man

(-6P)-*O*構造 (core M3) から始まる GlcA-Xyl リピード構造がラミニンと直接相互作用していることが明らかになった (図1)。実際に、POMGnT1 を除くジストログリカノパチー遺伝子の多くはこの core M3 の生合成と修飾に関与していることが示されている (この core M3 への修飾は Man の 6 位でリン酸化を受けた以降の修飾であるため、ポストリン酸化修飾と呼ばれる)。そのため POMGnT1 自身、もしくは core M1 がなんらかの形で、core M3 の生合成やポストリン酸化修飾に関与していると想像されていたが、これまでに何もわかっていなかった。

本研究では、POMGnT1 の X 線結晶構造解析から得られた立体構造情報をもとに、POMGnT1 がもつ新たな機

能を発見することで, core M3 のポストリン酸化修飾の制御機構を明らかにした.⁶⁾

2. X線結晶構造解析に基づく機能解析

2.1 構造決定

POMGnT1 はゴルジ体に局在する II 型膜タンパク質であり, N 末端側に膜貫通領域をもつ. POMGnT1 の全 660 残基の 9 割以上はゴルジ体内腔にあり, C 末端側 300 残基程度が触媒ドメインであることが, アミノ酸配列上予想されていた. そのため, POMGnT1 は膜貫通領域と触媒ドメインの間に 250 残基程度の長い機能未知の領域 (ステムドメイン) があり, これは一般的な II 型膜タンパク型の糖転移酵素には見られない特徴である. さらに触媒ドメインだけではなく, このステムドメインにもジストログリカノパチーと関連する変異が報告されていることから, なんらかの機能をもっているのではないかと予想できていた.⁷⁾ そこで本研究では, ステムドメインも含めたタンパク質の結晶構造解析を開始した.

最初は大腸菌および昆虫細胞で構築したが, 結晶化までには至らなかった. そこで, 哺乳類細胞発現系を用いることにより, 膜貫通領域を削った可溶型 POMGnT1 の結晶化に成功した. 哺乳類細胞用分泌型タンパク発現ベクターの pSecTag2/Hygro ベクターに POMGnT1 (アミノ酸番号, 92-660) を組み込み, C 末端に HRV3C プロテアーゼ認識配列および His タグを付加した発現ベクターを作製した. このベクターを用いて, HEK293T の安定発現株を作製し, 大量培養・精製を行った. 精製過程で, 培地に分泌された POMGnT1 (92-660) の半分程度が O 型糖鎖修飾を受けていることがわかった. この O 型糖鎖にはシアル酸が付いていると予想され, 陽イオン交換カラムにより未修飾体と分離することができた.⁸⁾ この精製ステップが結晶化に必須であり, O 型糖鎖未修飾体でのみ結晶化することができた. 位相は NaI を用いた SAD 法により決定し, POMGnT1 のアポ体結晶構造を明らかにした. さらに Mn^{2+} , UDP および基質である Man-O-ペプチドとの複合体結晶構造を共結晶させることにより, 明らかにした (図 2).

2.2 全体構造

POMGnT1 は N 末側にステムドメイン, C 末側に触媒ドメインの 2 つのドメイン構造をとっていた. この 2 つの間に 50 残基程度のリンカー領域があり, 2 つのドメインを繋いでいた. ステムドメインと触媒ドメインとの直接の相互作用は見られなかった. そのため当初の予想と異なり, それぞれのドメインは単独で機能することが示唆された (図 2A).

糖転移酵素 (GT-A ファミリー) で保存されている DxD モチーフがある活性部位に UDP および Man-O-ペプチドの電子密度が観察できた. Man-O-ペプチドと POMGnT1 との相互作用は主に疎水性相互作用であり, 特定の残基

図2 Mn^{2+} , UDP, mannosyl peptide 複合体の全体構造 (A), 触媒ドメインと mannosyl peptide との相互作用 (B) とステムドメインと mannosyl peptide との相互作用 (C). (Overall structure of Mn^{2+} , UDP and mannosyl peptide complex (A), the interaction between mannosyl peptide and catalytic domain (B), the interaction between mannosyl peptide and stem domain (C).) POMGnT1 を cartoon モデルで描いており, 薄い灰色が触媒ドメイン, 濃い灰色がステムドメインを表している. mannosyl peptide および相互作用が見られた残基を stick モデルで示している. 図 C 中では mannosyl peptide と相互作用するステムドメインを濃い灰色のモデルで描いており, 上側の薄い灰色のモデルは非対称単位中の別分子の触媒ドメインである.

を認識するような相互作用様式ではなかった. このことは共同研究者らによるこれまでの実験結果と一致しており, POMGnT1 の GlcNAc- β 2 修飾には配列特異性は見られないことを改めて示すことができた (図 2B).

触媒ドメインの全体構造は CAZY データベースで同じ GT13 ファミリーに属している *N*-acetylglucosaminyltransferase I (GnT1) の構造と似通っていた.⁹⁾ GnT1 はオリゴマンノース糖鎖に GlcNAc を付加する酵素であり, POMGnT1 が O 型マンノースペプチドを基質とする点で異なるが, UDP-GlcNAc を基質 (糖供与体) とする点では共通している. 実際に構造を比較してみると, UDP-GlcNAc を認識する N 末端側半分 (N-lobe) の構造はともよく似ている反面, C 末端側半分 (C-lobe) ではあまり似ていない. このことは糖転移酵素 (GT-A ファミリー) で考えられている, N-lobe が糖供与体を認識し GT-A 間

で共通した構造をとっているのに対し、C-lobeで糖受容体を認識し糖転移酵素それぞれで異なる構造を保持しているという仮説に一致していた¹⁰⁾

UDPおよびMan-O-ペプチドとの複合体の結晶では非対称分子中に二分子存在し、その二分子の間にもう一分子のMan-O-ペプチドが挟まっていた。このMan-O-ペプチドはステムドメインと相互作用しており、その相互作用の多くは水素結合によるものであった。さらにこの相互作用面はステムドメインおよび構造的に近縁なFAM3ファミリーでも保存されている領域であることから、ステムドメインは糖鎖を認識するレクチン活性をもっているのではないかと推測できた(図2C)。

2.3 ステムドメインのcore M1糖鎖認識

そこで、ステムドメインのみ(アミノ酸番号、92-250)を大腸菌発現系で発現精製を行い、FAC (frontal affinity chromatography) およびSPR (surface plasmon resonance) による網羅的な糖鎖結合活性探索を行った。その結果、Glc-β-pNP (*p*-nitrophenyl), GlcNAc-β-pNP およびMan-β-pNP に対して、 K_d が1 mM以下の親和性をもつことが明らかになった。単純な比較はできないが、POMGnT1のMan-O-ペプチドに対する糖転移活性の K_m は2~4 mM程

度であるため、糖pNPに対する親和性は十分高いと考えられる¹¹⁾。また、SPRによる解析の結果、β結合とα結合では K_d が20~30倍程度異なることを明らかにした(表2)。次に我々は結合が確認できたMan-α-pNP, Man-β-pNP, GlcNAc-α-pNP, GlcNAc-β-pNPそれぞれとの複合体結晶構造を明らかにし、この親和性の違いを結晶構造解析によっても確認した。結晶構造中にあるpNP糖の結合様式の違いはほとんど見られなかったが、Arg207のみがβ結合の酸素原子と相互作用していた。このことからArg207を介してβ結合特異的にリガンドを認識していることを立体構造によって示した(図3A)。

さらにステムドメインはPOMGnT1が生成するGlcNAc-β2-Man-O-ペプチドとの十分な親和性を持ち、その親和性にはGlcNAc-β構造が重要であることを示した(表2, 図3B)。このことからステムドメインはGlcNAc-β結合に特異性をもつ糖結合活性により、POMGnT1自身の酵素生成物(GlcNAc-β1,2-Man-O-, core M1糖鎖)を細胞内で認識していることが示唆された。この結果は、なぜPOMGnT1はαDG上の15カ所以上の集中的に存在するMan-O-部位を効率良くGlcNAc-β2修飾できるのかという疑問に答えることができると考えている¹²⁾。つまり、POMGnT1は自身が生合成したcore M1糖鎖とステムドメインが相互作用することで、触媒ドメインが近傍に存在するMan-O-部位を認識しやすくしていると考えられる。このことはステムドメインおよび触媒ドメインがアミノ酸配列を特に認識していないことと矛盾しない。もし、ステムドメインや触媒ドメインがアミノ酸配列特異性をもっていれば、core M1糖鎖のクラスタリングに阻害的に働いてしまうだろう(図5)。

ステムドメインのMan-α-pNPと図2に示したPOMGnT1の複合体結晶化に使用したMan-O-ペプチドのようなMan-α構造とは親和性が著しく低い($K_d = 10$ mM以上)ことがわかった。そのため、結晶構造から示唆され

表2 ステムドメインの糖化合物および糖ペプチドに対する親和性。(Binding affinity between the stem domain and sugar derivatives.)

Stem domain	Ligand	K_d (mM)
WT	GlcNAc-β-pNP	0.29 ± 0.03
WT	Man-β-pNP	0.43 ± 0.05
WT	GlcNAc-α-pNP	16.52 ± 2.20
WT	Man-α-pNP	17.80 ± 2.80
WT	GlcNAc-β2-Man-α-peptide	0.50 ± 0.02
WT	GalNAc-β3-GlcNAc-β-pNP	0.80 ± 0.04
WT	GalNAc-β4-GlcNAc-β-pNP	not detected
R129A	GlcNAc-β-pNP	not detected
D179A	GlcNAc-β-pNP	not detected

図3 ステムドメインとGlcNAc-α-pNP(薄い灰色)もしくはGlcNAc-β-pNP(濃い灰色)複合体構造(A), GlcNAc-β2-Man-O-peptide (core M1糖鎖)複合体構造(B), GalNAc-β3-GlcNAc-β4-Man(-6P)-O-peptide (core M3糖鎖)複合体モデル(C)。(Crystal structure of the stem domain in complex with GlcNAc-α-pNP (light gray) or GlcNAc-β-pNP (dark gray) (A), GlcNAc-β2-Man-O-peptide (core M1 glycan) (B). Complex structure model of GalNAc-β3-GlcNAc-β4-Man(-6P)-O-peptide (core M3 glycan) and stem domain (C).)

図4 部位特異的変異体の糖転移活性 (A) と POMGnT1 ノックアウト細胞レスキュー実験 (B). (Glycosyltransferase activities of POMGnT1 mutants (A) and the effects of mutants POMGnT1 on laminin binding epitope synthesis in POMGnT1-deficient cells.) アミノ酸番号 62-660 のコンストラクト (L) とアミノ酸番号 248-660 (S) の2つのコンストラクトをそれぞれ HEK293T 細胞で発現させ、活性測定を行った。

た Man-O- ペプチド複合体構造は結晶化によるアーティファクトによる部分が大きかったが、この結晶構造により、ステムドメインの機能を同定することができた。

2.4 ステムドメインの core M3 糖鎖認識

POMGnT1 がもつステムドメインの機能を明らかにできなかったが、core M3 糖鎖 (GalNAc-β3-GlcNAc-β4-Man(-6P)-O) のポストリン酸化修飾との関連はわからない。さらに、上記の core M1 部位のクラスタリングにおける機能モデ

ルで疑問となってくるのは、どのように最初の core M1 部位を決定しているか? である。そこで我々は core M3 糖鎖も GlcNAc-β 結合をもつため、ステムドメインが core M3 糖鎖も認識するのではないかと考えた。GalNAc-β3-GlcNAc-β4-Man(-6P)-O 構造を結晶構造解析に用いるのに十分な量の合成は困難であったため、その部分構造の GalNAc-β3-GlcNAc-β-pNP と GlcNAc-β2-Man-O- ペプチド (太字で core M3 糖鎖と重なる部分を示している) との複合体結晶構造から、ステムドメインと core M3 糖鎖複合体構造モデルを提唱した (図 3C)。この計算モデルからステムドメインはこれまでの結果と同様に、GlcNAc-β 結合により core M3 糖鎖を認識することが示唆できた。

αDG は小胞体において POMT1-POMT2 複合体による Man-O- 部位の合成と GTDC2 (POMGnT2) などによる core M3 の合成が行われる。その後ゴルジ体に移行し、POMGnT1 による core M1 糖鎖の合成と、FKTN などによるポストリン酸化修飾や GlcA-Xyl リピード構造が合成される。つまり、小胞体からゴルジ体に移行した αDG は Man-O- と core M3 糖鎖しかもっていない。そこで、ステムドメインが core M3 を認識することで、POMGnT1 は αDG と正常に相互作用でき、最初の core M1 糖鎖を生合成できるようになるのではないかと考えている。さらにこの core M3 認識が疾患発症機構と関係しているのではないかと推測できる。

2.5 core M3 糖鎖認識とラミニン結合性糖鎖形成

そこで、我々はこのステムドメインの core M3 糖鎖結合活性の失活がジストログリカノパチー発症の原因となっているのではないかと考えた。これまでにポストリン酸化修飾のうち、最初に働く FKTN と POMGnT1 が膜ドメインを介して相互作用していることを明らかにしている。¹³⁾ FKTN は core M3 糖鎖にリビートルリン酸を転移する糖転移酵素であり、ゴルジ体で働くポストリン酸化修飾経路の中で最初に働く糖転移酵素である (表 1, 図 1)。³⁾

POMGnT1 のステムドメインが core M3 を認識することから、POMGnT1 が FKTN と core M3 の相互作用を媒介することによって、ポストリン酸化修飾を効率的に作動させると考えられる。そこで、我々は CRISPR/Cas9 系により POMGnT1 のノックアウト細胞を作製して、POMGnT1 変異体導入による機能回復実験を行うことにより、ステムドメインの core M3 結合活性とポストリン酸化修飾との関連を明らかにした (図 4)。POMGnT1 のノックアウトにより、MEB 筋ジストロフィー疾患患者でみられているのと同様に IIH6 抗原が消失した。IIH6 抗体はラミニンが直接相互作用する GlcA-Xyl リピード構造を認識することが知られている。そのため、IIH6 抗原の有無により、ラミニン結合に必須なポストリン酸化修飾を確認できる。¹⁴⁾ ノックアウト細胞に POMGnT1 野生

図5 POMGnT1によるO-マンノース型糖鎖修飾機構モデル。(Model of POMGnT1 function in α DG glycosylation.) (A) 小胞体からゴルジ体に輸送された α DGはcore M3およびMan-O構造をもつ。cis-ゴルジではPOMGnT1とFKTNが膜ドメインを介して複合体を形成している。(B) POMGnT1はまずcore M3と相互作用することで α DGを認識する。この相互作用によりPOMGnT1のcore M1生合成を促進させる。さらにこの相互作用により、FKTNとcore M3との相互作用を媒介することで、core M3へのリビトールリン酸修飾も促進させる。(C) POMGnT1は自身が生成したcore M1糖鎖(GlcNAc- β 2-Man)をステムドメインが次に認識することにより、近傍のMan-O部位認識を促す。(D) この一連の働きによって、ポストリン酸化修飾の最初のステップであるリビトールリン酸修飾および、さらにアミノ酸配列非特異的なcore M1糖鎖のクラスタリングを可能にしている。

型および触媒ドメインの変異体を発現させることでIIH6抗原が復活することがわかった。このことはPOMGnT1がもつGlcNAc- β 2転移活性は、ポストリン酸化修飾に無関係であることを示している。一方で糖結合活性を失うステムドメインの変異体ではIIH6抗原の回復が見られなかった。このことはPOMGnT1の糖転移活性ではなく、ステムドメインの糖結合活性がポストリン酸化修飾に重要であることを示している。以上のような結果から我々はPOMGnT1によるポストリン酸化修飾調節機構を明らかにするとともに、POMGnT1変異による筋ジストロフィー疾患メカニズムを提唱した(図5)。⁶⁾

3. おわりに

本研究のようなタンパク質の機能不全に起因する疾患の場合、阻害剤ではなく促進剤が疾患の治療薬に求められるため、タンパク質の構造情報を用いた創薬に結びつきにくい。しかしタンパク質立体構造に基づく詳細な機能解析により疾患発症機構を明らかにすることで、遺伝子変異や症状に加えて、それぞれの患者の発症機構に基づく、効率的な治療法の選択や提案などに結びつくことが期待できる。

ステムドメインと立体構造が類似していることがわかったFAM3ファミリーはサイトカインとして発見され、

ファミリータンパクのうちFAM3B (pancreatic-derived factor, PANDER), FAM3C (interleukin-like epithelial-mesenchymal transition inducer, ILEI) が比較的よく調べられている。¹⁵⁾ これらはこれまでに糖代謝やがんなどへの関与が報告されているが、詳細な機能や受容体は不明である。本研究で明らかにしたステムドメインの糖結合活性にかかわる残基は、FAM3ファミリーでも保存されていることから、FAM3BやFAM3Cも同様な糖結合活性をもつことが推測できる。今回得られた結果をもとにFAM3ファミリータンパク質の機能解析が発展することを期待している。

謝 辞

本稿で紹介した研究は、主に高エネルギー加速器研究機構構造生物学研究センターおよび東京都健康長寿医療センター研究所で行われたものである。本研究は産業技術総合研究所生命工学研究領域創薬基盤研究部門の平林淳主席研究員、館野浩章主任研究員、神戸大学大学院医学研究科の金川 基講師、小林千浩准教授、戸田達史教授、横浜市立大学生命医学研究科池口満徳教授、野口研究所糖鎖有機化学研究室の水野真盛室長、弘瀬友理子研究員との共同研究である。また、X線結晶構造解析は高エネルギー加速器研究機構構造生物学研究セ

ンター千田俊哉教授の指導の下, 行われた。

X線回折データ収集では, 放射光施設KEK-PF (BL1A, BL5A, BL17A, AR-NE3A, AR-NW12A), SPring-8 (BL32XU), NSRRC (BL15A) を利用した。使用したビームタイムの一部は創薬等支援プラットフォーム事業の支援により実施したものであり, その支援に感謝する。さらにそれぞれのビームラインスタッフに大変お世話になった。この場を借りて深謝する。タンパク質精製などの研究支援をしていただいた太田智弥 (現所属, 庄内地域産業振興センター研究員) にも感謝する。

本研究で利用した哺乳類細胞発現系を構造生物学研究センターに立ち上げるにあたって助言いただいた, 理化学研究所糖鎖構造生物学チーム山口芳樹チームリーダー, 長江雅倫研究員に感謝する。

文 献

- 1) T. Endo: *J. Biochem.* **157**, 1 (2015).
- 2) T. Yoshida-Moriguchi and K. P. Campbell: *Glycobiology* **25**, 702 (2015).
- 3) M. Kanagawa, K. Kobayashi, M. Tajiri, H. Many, A. Kuga, Y. Yamaguchi, K. Akasaka-Many, J. Furukawa, M. Mizuno, H. Kawakami, Y. Shinohara, Y. Wada, T. Endo and T. Toda: *Cell Rep.* **14**, 2209 (2016).
- 4) H. Many, Y. Yamaguchi, M. Kanagawa, K. Kobayashi, M. Tajiri, K. Akasaka-Many, H. Kawakami, M. Mizuno, Y. Wada, T. Toda and T. Endo: *J. Biol. Chem.* **291**, 24618 (2016).
- 5) A. Yoshida, K. Kobayashi, H. Many, K. Taniguchi, H. Kano, M. Mizuno, T. Inazu, H. Mitsunashi, S. Takahashi, M. Takeuchi, R. Herrmann, V. Straub, B. Talim, T. Voit, H. Topaloglu, T. Toda and T. Endo: *Dev. Cell* **1**, 717 (2001).
- 6) N. Kuwabara, H. Many, T. Yamada, H. Tateno, M. Kanagawa, K. Kobayashi, K. Akasaka-Many, Y. Hirose, M. Mizuno, M. Ikeguchi, T. Toda, J. Hirabayashi, T. Senda, T. Endo and R. Kato: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **113**, 9280 (2016).
- 7) K. Akasaka-Many, H. Many, K. Kobayashi, T. Toda and T. Endo: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **320**, 39 (2004).
- 8) X. Xin, K. Akasaka-Many, H. Many, J. Furukawa, N. Kuwahara, K. Okada, H. Tsumoto, N. Higashi, R. Kato, Y. Shinohara, T. Irimura and T. Endo: *Biol. Pharm. Bull.* **38**, 1389 (2015).
- 9) U. M. Unligil, S. Zhou, S. Yuwaraj, M. Sarkar, H. Schachter and J. M. Rini: *EMBO J.* **19**, 5269 (2000).
- 10) M. M. Palcic: *Curr. Opin. Struct. Biol.* **22**, 540 (2012).
- 11) K. Akasaka-Many, H. Many, M. Mizuno, T. Inazu and T. Endo: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **410**, 632 (2011).
- 12) M. B. Vester-Christensen, A. Halim, H. J. Joshi, C. Steentoft, E. P. Bennett, S. B. Levery, S. Y. Vakhrushev and H. Clausen: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **110**, 21018 (2013).
- 13) H. Xiong, K. Kobayashi, M. Tachikawa, H. Many, S. Takeda, T. Chiyonobu, N. Fujikake, F. Wang, A. Nishimoto, G. E. Morris, Y. Nagai, M. Kanagawa, T. Endo and T. Toda: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **350**, 935 (2006).
- 14) Y. Ohtsuka, M. Kanagawa, C.-C. Yu, C. Ito, T. Chiyo, K. Kobayashi, T. Okada, S. Takeda and T. Toda: *Sci. Rep.* **5**, 8316 (2015).
- 15) P. Johansson, J. Bernström, T. Gorman, L. Öster, S. Bäckström, F. Schweikart, B. Xu, Y. Xue and L. H. Schiavone: *Structure/Folding and Design* **21**, 306 (2013).

プロフィール

桑原直之 Naoyuki KUWABARA
高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学研究所・放射光科学研究施設・構造生物学研究センター
Structural Biology Research Center, Photon Factory, Institute of Material Structure Science, High Energy Accelerator Research Organization (KEK)
〒305-0801 茨城県つくば市大穂 1-1
1-1 Oho, Tsukuba, Ibaraki 305-0801, Japan
e-mail: naoyuki.kuwabara@kek.jp
最終学歴：大阪大学理学研究科生物化学専攻博士課程修了
専門分野：構造生物学
現在の研究テーマ：高分解能立体構造に基づく構造機能解析
趣味：ラーメン定食巡り, 写真撮影

加藤龍一 Ryuichi KATO
高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学研究所・放射光科学研究施設・構造生物学研究センター
Structural Biology Research Center, Photon Factory, Institute of Material Structure Science, High Energy Accelerator Research Organization (KEK)
〒305-0801 茨城県つくば市大穂 1-1
1-1 Oho, Tsukuba, Ibaraki 305-0801, Japan
e-mail: ryuichi.kato@kek.jp
最終学歴：大阪大学理学研究科生理学専攻博士課程修了
専門分野：構造生物学
現在の研究テーマ：翻訳後修飾にかかわる構造生物学
趣味：自転車でポタリング

萬谷 博 Hiroshi MANYA
東京都健康長寿医療センター研究所
Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology
〒173-0015 東京都板橋区栄町 35-2
35-2 Sakaecho, Itabashi-ku, Tokyo 173-0015, Japan
e-mail: manya@tmig.or.jp
最終学歴：帝京大学大学院薬学研究科修士課程修了 (薬学博士：東京大学大学院薬学研究科)
専門分野：糖鎖生物学
現在の研究テーマ：認知症や筋疾患など老化関連疾患にかかわる糖鎖機能の解析
趣味：家族旅行

遠藤玉夫 Tamao ENDO
東京都健康長寿医療センター研究所
Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology
〒173-0015 東京都板橋区栄町 35-2
35-2 Sakaecho, Itabashi-ku, Tokyo 173-0015, Japan
e-mail: endo@tmig.or.jp
最終学歴：東京大学大学院薬学研究科生命薬学専攻博士課程修了
専門分野：糖鎖生物学
現在の研究テーマ：老化, 認知症, 筋と糖鎖との解析
趣味：スポーツ観戦