

2022年度「地神芳文記念研究助成」

成果報告要旨

研究題目： GPIリモデリングに関与する新規遺伝子の同定と機能解析

研究者： 池田 敦子

所属： 広島大学大学院 統合生命科学研究科

GPI (グリコシルホスファチジルイノシトール) は、ホスファチジルイノシトール (PI) やイノシトールリン酸セラミド (IPC) といった脂質にグルコサミン、マンノース、エタノールアミンリン酸が結合した糖脂質の一種であり、特定のタンパク質を膜に繋ぎ止める役割を持つ。その合成の異常は、酵母や原虫においては致死的であり、ヒトにおいても疾患の原因となっている。

小胞体で合成されたタンパク質に GPI が付加した時点では、GPI の脂質部分は C16 および C18 の炭化水素鎖を持つ PI である。その後、これら短い炭化水素鎖は脂質リモデリングにより C26 の長い鎖へと置き換えられる。出芽酵母では、脂質リモデリング酵素として *BST1*, *PER1*, *GUP1*, *CWH43* の 4 つが存在する。中でも、GPI の極長鎖 PI を極長鎖 IPC へ変換するプロセスを担うのが *CWH43* である。リモデリングが完了した GPI アンカー型タンパク質はその構造的特徴を利用して、他の膜タンパク質とは異なる輸送小胞に乗って運ばれる。すなわち、タンパク質の選別輸送において GPI の脂質部分のリモデリングは非常に重要である。それにもかかわらず、リモデリングに関与する遺伝子は *CWH43* を含め全て非必須遺伝子であり、破壊しても酵母は生育できる。このことは、*CWH43* と同じ機能をもつ重複遺伝子あるいは下流で機能する未知の遺伝子が存在している可能性を示唆している。申請者は最近、バイオインフォマティック分析により GPI リモデリングに関与する新規遺伝子の有力候補を 2 つ見出した。

本研究では、これら候補遺伝子の GPI リモデリングにおける役割を解明することを目的とした。遺伝学的 (薬剤に対する生育解析) および生化学的 (ウエスタンブロッティング法による GPI アンカー型タンパク質の成熟度合) 解析により、候補遺伝子の 1 つが *CWH43* と類似もしくは並行した経路で機能することが示唆された。さらに、放射性脂質前駆体を用いた GPI アンカーの脂質部分の構造解析により、GPI リモデリングに直接的に関与する可能性が示唆されたため、これらの研究成果を報告したい。

2022年度「地神芳文記念研究助成」

成果報告要旨

研究題目： シス테인結合型糖タンパク質医薬品の酵素学的調製

研究者： 藤浪大輔

所属： 静岡県立大学・食品栄養科学部

タンパク質への糖鎖付加は翻訳後修飾の一つであり、タンパク質の機能や安定性に寄与する。糖鎖付加修飾はすべての生物ドメインにおいてみられる。真核生物に比較し、古細菌と真正細菌では糖鎖の種類、結合様式ともに多様である。アスパラギンへのN結合型、セリン・スレオニンへのO結合型糖鎖修飾は主要であるが、真正細菌ではシス테인残基へのS結合型糖鎖修飾も報告されている。ヒト体内でS結合型糖鎖は糖加水分解酵素への抵抗性を持ち、優れた体内安定性を示す。真正細菌のS結合型糖鎖修飾は抗菌ペプチドに起こり、S結合型糖転移酵素（SGT）により担われる。これまでの構造生物学的な研究によりSGTがGTA（触媒）、TPR、二量体化ドメインにより構成されることが明らかになった。本研究ではSGTと類似した糖転移酵素の探索と機能解析を行った。

SGTを鋳型として、アミノ酸相同性ネットワーク解析を行ったところ、GTAとTPRに加え、特徴的なC末端ドメインを持つ酵素クラスターを同定した。これらの酵素はゲノム上で鞭毛の生合成遺伝子群と近接することより、フラジェリンの糖鎖修飾を担うことが予想された。酵素クラスターの中からFlgGT1という酵素に注目し、*in vitro*で機能解析を行った。その結果、FlgGT1はフラジェリンへのO結合型糖鎖修飾を担う糖転移酵素であった。また、真核生物のO結合型糖転移酵素でみられるような糖鎖付加アミノ酸配列の嗜好性を示さなかった。一方、FlgGT1はドナー基質である糖ヌクレオチドに対しては広い基質特異性を示した。現在は、アミノ酸変異によるFlgGT1のS結合型糖転移酵素への改変を試みている。