

細胞内現象の時空間ダイナミクス
2021 年度採択研究代表者

2022 年度
年次報告書

加藤 晃一

自然科学研究機構 生命創成探究センター
教授

ゴルジ体の動態解明に基づく糖鎖修飾の制御

主たる共同研究者:

甲賀 大輔 (旭川医科大学 医学部 准教授)

戸島 拓郎 (理化学研究所 光量子工学研究センター 上級研究員)

光山 統泰 (産業技術総合研究所 人工知能研究センター 研究チーム長)

研究成果の概要

本研究は糖鎖修飾の舞台としてのゴルジ体に着目し、その微細構造の時空間ダイナミクスと糖タンパク質の輸送経路を精密探査するものである。さらに、ゴルジ体の形成とカーゴ分子の選別輸送の分子機構を解明することにより、分泌経路の設計原理を理解し、その過程で得られた知見を基にタンパク質の糖鎖修飾を制御することを目指している。

本年度は、これまで構築してきた連続切片を用いた走査電子顕微鏡技術を更に進展させて、詳細なゴルジ体の3次元電子顕微鏡像にガラクトース転移酵素 B4GALT1 の局在をマッピングすることに成功した。また、糖転移酵素に蛍光プローブやビオチン化酵素を融合し、糖転移酵素のネットワーク像を明らかにした。特に、20種類の酵素を対象に、分子ネットワークを構成するタンパク質の種類と量の類似性に基づいてクラスター分析を行った。その結果、N型糖タンパク質とプロテオグリカンの糖鎖形成にかかわる酵素は異なるクラスターに属することが明らかとなった。

加えて、バイオ実験自動化ロボットによる免疫染色プロトコルの実装に成功した。昨年度開発したマイクロプレートを顕微鏡に受け渡す補助ロボットと連携することで、バイオイメージング実験の自動化に向けての基盤を構築することができた。

一方、培養哺乳動物細胞にフコース転移酵素 9 (FUT9) を過剰発現させたところ、LAMP-1 に特異的に Lewis X 糖鎖の修飾が認められた。本現象を契機として、LAMP-1 タンパク質中の 29 残基からなるセグメントが特定の糖転移酵素 (FUT9) との直接的な相互作用を規定することを通じて、特異的な糖鎖修飾 (LewisX 形成) をもたらすことを見出した。このことは、糖タンパク質分子において、タンパク質部分の特定の配列が、糖鎖部分のかたちづくりに深く関わっていることを意味している。この 29 残基を導入することで他のタンパク質の糖鎖修飾を制御する分子コードとして活用できる可能性をも示すことができた。

【代表的な原著論文情報】

- 1) “An embeddable molecular code for Lewis X modification through interaction with fucosyltransferase 9” Saito, T., Yagi, H., Kuo, C-H., Khoo, K-H., and Kato, K. *Commun Biol* 5: 676 (2022) DOI: [https:// doi: 10.1038/s42003-022-03616-1](https://doi.org/10.1038/s42003-022-03616-1).