

Studies on the Biosynthetic Pathway of Galactose-containing Oligosaccharides in Fission Yeasts

福永, 嵩大

<https://hdl.handle.net/2324/6787678>

出版情報 : Kyushu University, 2022, 博士 (農学), 課程博士

バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (3)

2) β 1,3 ガラクトース転移反応の分子メカニズムの解明

β 1,3-結合の Gal 残基は N-結合型糖鎖のみに存在する。また、非性的な凝集反応の抑制に重要なピルビン酸が付加されるのは β 1,3-結合の Gal のみであり、野生株において全ての β 1,3-Gal がピルビン酸の付加を受ける。以上のことから、 β 1,3-結合の Gal は糖鎖のピルビン酸化に重要な分子である。これまで、 β 1,3-結合の Gal 転移反応の分子メカニズムは不明であり、糖転移酵素も未同定であった。先行研究によって分裂酵母の糖鎖中に β 1,3-Gal が付加されない変異株が取得され、 β 1,3-Gal 転移反応に関与する機能未知タンパク質 Pvg2、3、5 が同定された。そこで、PANTHER や CAZy などのデータベースを用いて各タンパク質のドメインを検索したところ、3 つのタンパク質は全て一回膜貫通ドメインを有する典型的なII型膜貫通タンパク質であり、ゴルジ体に局在することが明らかになった。さらに、Pvg3 のみが糖転移酵素に保存されている GT31 ドメインを有していることがわかった。そこで、Pvg3 が Gal 転移酵素であると予想し、活性に重要と考えられるアミノ酸の点変異体(D212、D282)を作製して *pvg3 Δ に対する機能相補試験を行った結果、これらの変異体は正常にゴルジ体に局在したが、細胞表面のピルビン酸を欠失していた。以上の結果から、Pvg3 が β 1,3-Gal 転移酵素であり、D212 および D282 残基が活性に重要であることがわかった。さらに Pvg2、Pvg5 が Pvg3 のゴルジ局在に関与するかを調べた。その結果、*pvg2 Δ 、*pvg5 Δ 株でも Pvg3 はゴルジ体に正常に局在したことから、Pvg2、Pvg5 はゴルジ体内腔で Pvg3 の機能を補助することが予想された。そこで Yeast Two-hybrid 法を用いて Pvg2、Pvg3、Pvg5 各タンパク質の相互作用を調べた結果、Pvg3 と Pvg2 は Pvg5 とのタンパク質相互作用が観察されたため、Pvg5 を中心とした Pvg3-Pvg5-Pvg2 ヘテロ複合体の形成が示唆された。さらに β -結合 Gal ヘピルビン酸付加を担う Pvg1/ピルビン酸転移酵素と Pvg5 が相互作用することが明らかになった(図 2)。以上の結果から、ピルビン酸化 Gal の生合成が Pvg5 を中心としたヘテロ複合体の形成を介して連続的に起こることが示唆された。***

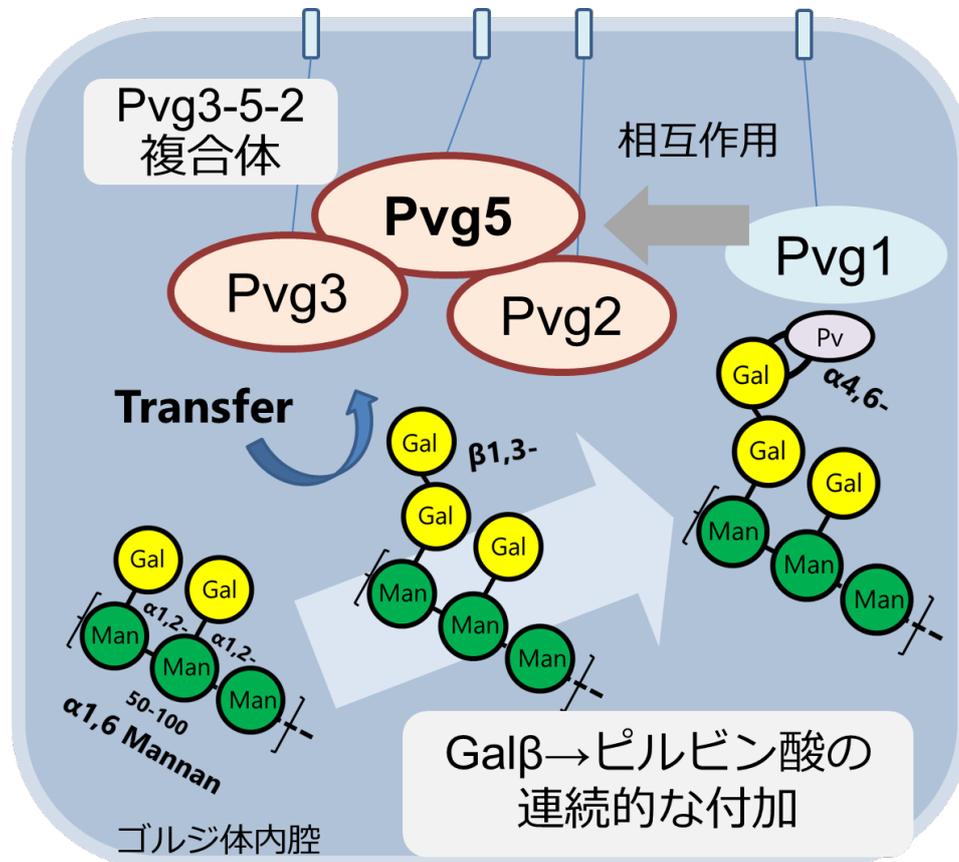


図 2. Pvg5 を中心とした複合体の形成とピルビン酸化 Gal の生合成