

(様式 1-1)

提出日：2026 年 5 月 8 日

2025 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) 事業名（下記より該当事業名を選択し、ほかは削除してください。）

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：宮原郁子

所属機関名・部局名・職名：大阪公立大学・研究推進機構・教授

(3) 研究課題名（申請時に記載したものと同一課題名を記入してください。）

糖質加水分解酵素ファミリー85 に属する酵素の基質認識機構

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名： 栗栖 源嗣 （研究室名： 蛋白質結晶学 ）

(5) 研究成果の概要

研究の背景および目的

タンパク質に結合した糖鎖は、その物理的性質を修飾するだけでなく、細胞間認識などの生命現象において重要な役割を担っている。糖質加水分解酵素ファミリー85（GH85）に属する酵素は糖鎖転移活性を有し、有用な糖転移生成物の合成に利用できるが、立体構造の報告は限られている。我々は、ヒト唾液由来 EndoHS および *Agaricus bisporus* 由来 EndoAB を対象として、三次元構造解析に基づき基質認識および糖鎖転移反応機構の解明を目的としている。

方法と結果

我々は、自動結晶化ロボットを用いたスクリーニングにより EndoHS の良質な結晶を取得し、その立体構造を決定して論文として報告した。得られた立体構造情報に基づき、GH85 ファミリー内で保存されている触媒残基を同定し、それらに変異を導入することで、酵素活性を完全に失った変異型 EndoHS を作製することに成功した。この変異型 EndoHS について大量発現および精製を行った結果、野生型とほぼ同様の条件下で高分解能の結晶を得ることができた。また、得られた結晶構造を解析したところ、全体構造は野生型とほぼ同一であることが明らかとなった。さらに、変異型 EndoHS と基質糖タンパク質であるヒト由来トランスフェリンとの相互作用について検討したところ、HPLC 解析およびゲルシフトアッセイにより、両者が安定な複合体を形成していることを確認した。加えて、トランスフェリン以外の複合型糖鎖を持つ複数の糖タンパク質とも複合体を形成する一方、ハイマンノース型糖鎖を有する糖タンパク質とは複合体を形成しないことを明らかにし、これらの結果を学会において報告した。現在、変異型 EndoHS と基質糖鎖との複合体結晶を、ソーキング法または共結晶化法により取得することに成功しており、それらの構造解析を進めている。