

# 進化的に保存された糖転移酵素の構造と機能を解明 先天性疾患アダムス・オリバー症候群の病態理解の手掛かりに

## 【本研究のポイント】

- ・糖転移酵素 EOGT<sup>注1)</sup> は、タンパク質に糖( $\beta$ -GlcNAc)<sup>注2)</sup> を付加する酵素で、その変異が先天性疾患のアダムス・オリバー症候群<sup>注3)</sup> で報告されている。本研究では、EOGT の立体構造を原子レベルで明らかにし、これら遺伝子変異による EOGT の機能低下の原因を解明した。
- ・EOGT と糖供与体 UDP<sup>注4)</sup> の複合体の結晶構造に基づいて、UDP と相互作用するアミノ酸の中で、三つのアミノ酸(Asn-Arg-Arg)の空間配置が UDP 認識と酵素活性に重要であることを示した。
- ・この空間配置(N-R-R constellation)は、EOGT が属する GT61 ファミリー<sup>注5)</sup> で共通し、動植物の酵素に広く進化的に古くから保存されており、UDP との相互作用に重要な基盤構造であることを明らかにした。

## 【研究概要】

名古屋大学大学院医学系研究科・糖鎖生命コア研究所 (iGCORE) の岡島 徹也 教授、田嶋 優子 講師らの研究グループは、大阪大学の長江 雅倫 講師(現:東北医科薬科大学)と米国ウィスコンシン大学(マディソン校)の Jiaoyang Jiang (ジャオヤン・ジャン) 教授との共同研究で、糖転移酵素 EOGT の結晶構造を明らかにし、新規基質認識モチーフを新たに発見しました。

細胞内では、多くのタンパク質が「糖」と呼ばれる分子を付け加えられることで、正しく働くようになります。そのような働きを担う酵素の一つに、EGF domain-specific  $\beta$ -GlcNAc transferase (EOGT)があり、EOGT は特定のタンパク質領域(EGF ドメイン)に糖( $\beta$ -GlcNAc)を付加します。EOGT の変異は、手足や皮膚の発達に影響する先天性疾患のアダムス・オリバー症候群で見つかりますが、その作用機序はよく分かっていませんでした。

本研究では、EOGT が糖を運ぶ分子である UDP と結合した状態の立体構造を明らかにしました。そして、アダムス・オリバー症候群で報告された三つの EOGT 変異は、一つは UDP との結合に重要なアミノ酸の変異であること、もう二つは EOGT の立体構造の構築に重要なアミノ酸の変異であることが明らかになりました。さらに、EOGT が UDP を認識する際に「鍵穴」のような役割を果たす、三つのアミノ酸(アスパラギンと二つのアルギニン)から成る特徴的な空間配置(N-R-R constellation)を同定しました。この空間配置(N-R-R constellation)は、EOGT が属する GT61 ファミリーで動植物に共通して見つかりました。これは、生物が進化の過程で、UDP を介して糖を糖転移酵素に供与する仕組みを、共通して維持してきたことを示しています。

本研究成果は、アダムス・オリバー症候群の病態理解の手掛かりとなるだけでなく、糖転移酵素群の進化や機能を解き明かす基盤となると期待されます。

本研究成果は、2026年4月15日付米国科学アカデミー(National Academy of Sciences)がオックスフォード大学出版局から創刊した『PNAS Nexus』に掲載されました。

## 【研究背景と内容】

### 1. 研究背景

細胞内では、タンパク質に糖が付加される「糖鎖修飾」によって、その働きが調節されています。中でも「 $\beta$ -GlcNAc 化」は代表的な糖鎖修飾で、これまで主に細胞内の酵

素 O-GlcNAc transferase (OGT)<sup>注6)</sup> によるものと考えられてきました。一方、EGF domain-specific O-GlcNAc transferase (EOGT)は、細胞外や分泌タンパク質に同様の修飾を行う酵素で、新しい経路として注目されています(図1)。EOGT は、本研究者の岡島教授らによって過去に同定された酵素で、小胞体内で働きます。

EOGT は、特定の構造(EGF ドメイン)を持つタンパク質を修飾し、NOTCH 受容体の働きにも関わります。EOGT の機能が低下すると、頭皮や手足に異常が現れる先天性疾患アダムス・オリバー症候群の原因となりますが、その詳しい仕組みは分かっていません。また、EOGT は、糖転移酵素ファミリーGT61 に属し、UDP-GlcNAc を糖供与体として用いる酵素 POMGNT2<sup>注7)</sup> とアミノ酸配列から近い関係として同じファミリーに分類されます。しかし、その詳細な類似点は未解明でした。

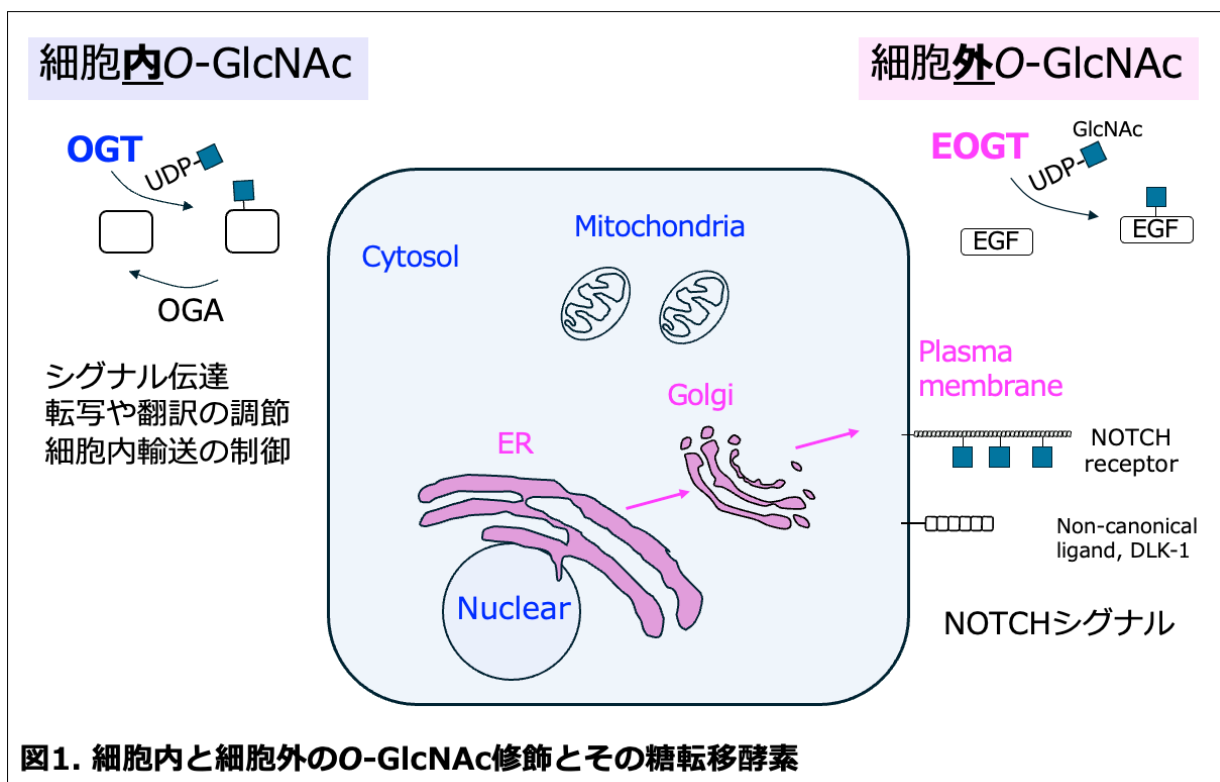


図1. 細胞内と細胞外のO-GlcNAc修飾とその糖転移酵素

## 2. 研究内容

本研究では、タンパク質の糖鎖修飾酵素である EOGT の立体構造と機能を詳細に解明しました(図2)。

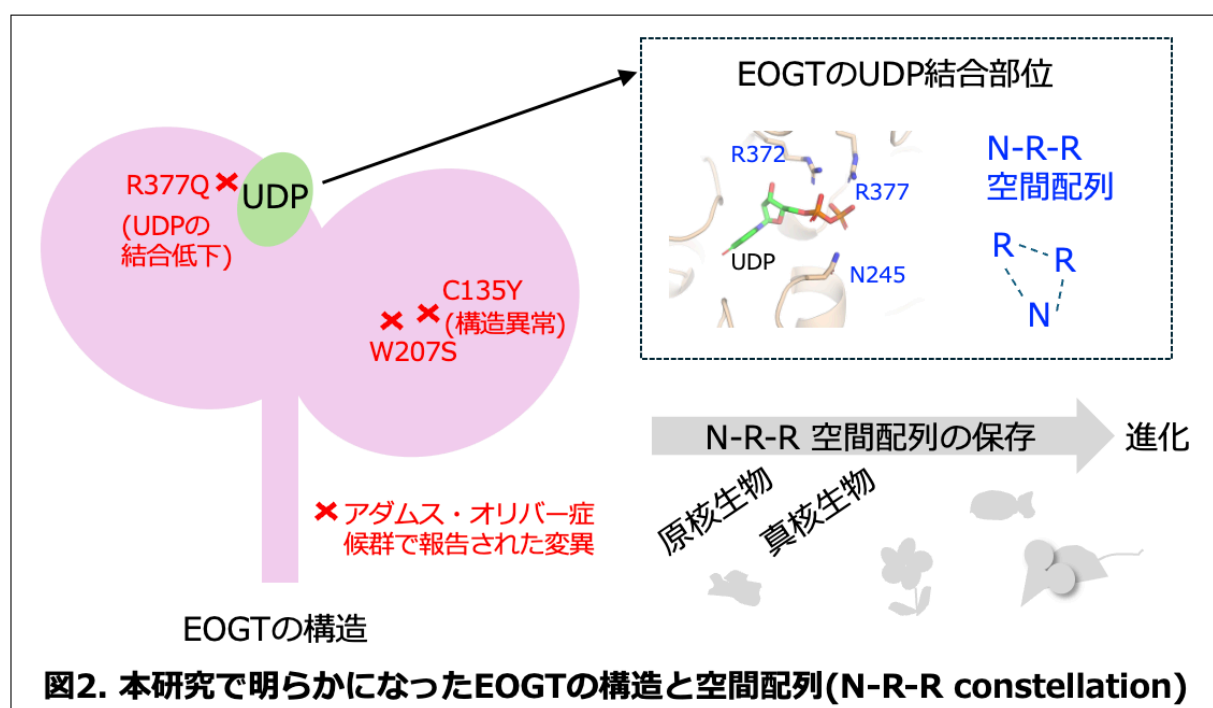
本研究チームは、細胞を用いて精製した EOGT タンパク質と UDP(糖の供与体)の複合体について、1.8Å (オングストローム) の高分解能で結晶構造を決定することに成功しました<sup>注8)</sup>。その結果、EOGT は、二つのドメインからなる「GT-B フォールド構造」を持ち、UDP はその間の溝に結合することが明らかになりました。さらに、UDP との結合には特定のアミノ酸残基(N245、 R372、 R377 など)が重要な役割を果たしていることを、構造解析および変異解析により、実証しました。

また、本研究によって明らかにした EOGT-UDP 複合体の結晶構造に基づき、アダムス・オリバー症候群に関連する変異の影響を構造的に解明しました。R377Q 変異は UDP 結合部位に位置し、UDP との結合の低下により酵素活性を著しく低下させること、また C135Y 変異や W207S 変異はタンパク質の立体構造の安定性に影響を及ぼすことが明らかにな

りました。

特に注目すべき成果として、UDP 結合に必須な「アスパラギン1 残基とアルギニン2 残基からなる空間配置(N-R-R constellation)」を同定しました。この構造は EOGT だけでなく、同じ GT61 ファミリーに属する他の酵素にも共通して保存されていることが分かりました。具体的には、ショウジョウバエから海綿動物などの原始的な生物群に至るまで広く保存されており、さらに動物の酵素 POMGNT2 と植物の酵素(core  $\beta$ 1, 2-XylT、XYXT、XAXT、XAT)<sup>注9)</sup>にも、同様の空間配置が見られました。

これらの植物の酵素は、UDP を糖の供与体として利用しますが、付加する糖はキシロースやアラビノースであり、EOGT が付加する  $\beta$ -GlcNAc とは異なります。また、これら植物の酵素や原始的な生物においては結晶構造が未解明であるため、本研究では AlphaFold2<sup>注10)</sup> を用いた構造予測解析を行いました。



### 【成果の意義】

本研究は、EOGT の分子機構を初めて原子レベルで明らかにするとともに、糖鎖修飾酵素 GT61 ファミリーが UDP と相互作用する普遍的な原理を提示しました。これにより、アダムス・オリバー症候群の病態理解の手掛かりが得られました。さらに、本研究で見出された GT61 ファミリー特有の構造的特徴のように、他の糖転移酵素(GT ファミリー)にもそれぞれ固有の立体配置が存在する可能性があり、今後の研究の進展が期待されます。

本研究は、日本応用酵素協会の酵素研究助成(2024 年度)、日本学術振興会(JSPS)科学研究費助成事業(JP24K10075)、および、糖鎖生命科学連携ネットワーク拠点(J-GlycoNet)の支援型糖鎖共同研究プログラム(22E10)の支援のもとで行われました。深く感謝申し上げます。

## 【用語説明】

### 注 1) EGF domain-specific O-GlcNAc transferase (EOGT):

細胞内の小胞体でタンパク質に糖(O-GlcNAc)を付加する酵素。特に細胞外で働くタンパク質の機能調節に関わる。

### 注 2) O-GlcNAc :

タンパク質に付加される小さな糖の一種。タンパク質の機能やシグナルを調節する重要な修飾。

### 注 3) アダムス・オリバー症候群:

先天的に皮膚や手足の形成に異常が現れる稀な遺伝性疾患。血管や発生過程の異常が関与すると考えられている。

### 注 4) Uridine diphosphate (UDP) :

糖を運ぶ分子。

### 注 5) GT61 ファミリー:

タンパク質や多糖に糖を付加する酵素群(糖転移酵素)の一つ。アミノ酸配列に基づいて分類される。

### 注 6) O-GlcNAc transferase (OGT):

細胞内で機能するタンパク質に糖(O-GlcNAc)を付加する酵素。細胞内の輸送や情報伝達の調節に重要な役割を担う。

### 注 7) POMGNT2:

タンパク質に糖を付加する酵素の一つ。 $\alpha$ ジストログリカン上のO-マンノースにGlcNAcを付加する。これは、筋肉や神経の機能に重要な糖鎖修飾である。

### 注 8) 結晶構造解析 :

タンパク質などの分子を結晶化し、X線を用いてその立体構造を原子レベルで明らかにする手法。

### 注 9) 植物の酵素(core $\beta$ 1,2-XylT, XYXT, XAXT, XAT):

植物に存在する糖転移酵素で、多糖や細胞壁成分に糖(キシロースやアラビノースなど)を付加する働きを持つ。

### 注 10) AlphaFold2 解析:

人工知能(AI)を用いて、タンパク質のアミノ酸配列からその立体構造を高精度に予測する解析手法。

## 【論文情報】

雑誌名 : PNAS Nexus

論文タイトル : Crystal structure of EOGT reveals a conserved N-R-R constellation for UDP recognition in the GT61 family

著者 : Yuko Tashima<sup>a, b, 1</sup>, Masamichi Nagae<sup>c, d, 1, \*</sup>, Jiaoyang Jiang<sup>e</sup>, Tetsuya Okajima<sup>a, b, \*</sup>

<sup>a</sup>Department of Molecular Biochemistry, Nagoya University Graduate School of Medicine, Japan.

<sup>b</sup>Institute for Glyco-core Research (iGCORE), Nagoya University, Japan.

<sup>c</sup>Department of Molecular Immunology, Research Institute for Microbial Diseases, The University of Osaka, Japan.

<sup>d</sup>Laboratory of Molecular Immunology, Immunology Frontier Research Center, The University of Osaka, Japan.

<sup>e</sup>Pharmaceutical Sciences Division, School of Pharmacy, University of Wisconsin-Madison, USA.

<sup>1</sup>These authors contributed equally to this work.

\*Corresponding authors.

DOI:[10.1093/pnasnexus/pgag115](https://doi.org/10.1093/pnasnexus/pgag115)

English ver.

[https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical\\_E/research/pdf/Pna\\_260428en.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Pna_260428en.pdf)