

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：82674

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17H03987

研究課題名(和文)0-マンノース型糖鎖の構造多様性とその決定機構の解明

研究課題名(英文)Structural diversity and biosynthetic mechanisms of O-mannosyl glycans in mammals

研究代表者

萬谷 博 (Manya, Hiroshi)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究副部長

研究者番号：20321870

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：哺乳類における新規糖アルコール供与体CDP-グルセロール(CDP-Gro)を発見し、CDP-Gro合成酵素としてPCYT2を同定した。哺乳類0-マンノース型糖鎖の生合成では、CDP-リビトール(CDP-Rbo)からのリビトールリン酸転移が必要であるが、CDP-Groからのグリセロールリン酸(GroP)転移は0-マンノース型糖鎖の伸長を阻害することを明らかにした。また、哺乳類0-マンノース型糖鎖の生合成酵素POMGNT2、POMK、FKRPの結晶構造を解明し、各酵素による糖転移反応の詳細なメカニズムを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

哺乳類におけるCDP-Groの発見とその合成酵素PCYT2の同定により、これまで哺乳類で知られていなかった新しい代謝経路が明らかとなった。さらに、CDP-GroとCDP-Rboという2つの糖供与体の競合により糖鎖合成を制御するという新しいメカニズムも明らかとなった。また、結晶構造を解明した酵素は先天性筋ジストロフィー症の原因遺伝子であることから、触媒機構の解明は疾患変異による病態機序を理解する上で重要である。本研究により、生物学的にも医学的にも重要な成果が得られた。

研究成果の概要(英文)：We found the CDP-glycerol (CDP-Gro), which is a novel sugar alcohol nucleotide donor in mammals, and identified that the PCYT2 is CDP-Gro synthase. The biosynthesis of functional O-mannosyl glycans require the formation of tandem ribitol phosphate structure by transfer from CDP-ribitol (CDP-Rbo), but glycerol phosphate (GroP) transferred from CDP-Gro inhibited the formation of tandem ribitol phosphate structure. We also determined the crystal structures of POMGNT2, POMK, and FKRP, which are biosynthetic enzymes of O-mannosyl glycans in mammals, revealing the detailed mechanism of the glycosylation by each enzyme.

研究分野：糖鎖生物学

キーワード：糖鎖 神経疾患 筋疾患 0-マンノース型糖鎖

## 1. 研究開始当初の背景

代表者らは哺乳類で初めて *O*-マンノース (Man) 型糖鎖を発見し、その構造の全容と主要な生合成機構を明らかにした。その過程で本糖鎖の合成に関わる酵素 POMT1-POMT2、POMGNT1、FKTN、FKRP、TMEM (RXYL1)、ISPD を同定した<sup>1-5)</sup>。これらの酵素が全て中枢神経系の異常を伴う先天性筋ジストロフィー症の原因遺伝子産物であったことから、*O*-Man 型糖鎖異常による先天性筋ジストロフィー症という新しい病態概念を提唱した<sup>1)</sup>。本疾患は、神経系および筋細胞の細胞表面タンパク質  $\alpha$ -ジストログリカン ( $\alpha$ -DG) の *O*-Man 型糖鎖不全による細胞外マトリックス分子ラミニンとの結合不全に起因することから  $\alpha$ -ジストログリカノパチーと総称される。近年では *O*-Man 型糖鎖には多様な構造の存在が示され、その分岐構造により 3 つの構造 (コア M1、コア M2、コア M3) に分類されるようになった<sup>1)</sup>。筋ジストロフィー症に関連する構造はコア M3 であり、 $\alpha$ -DG とラミニンの結合にはコア M3 構造上に形成されるグルクロン酸 (GlcA) とキシロース (Xyl) の繰り返し構造 (GlcA/Xyl リピート) が利用される<sup>1)</sup>。さらに代表者らは、 $\alpha$ -DG の *O*-Man 型糖鎖に、これまで細菌でしか見つかっていなかったリピートリン酸 (RboP) が含まれることを見出し、福山型筋ジストロフィー症の原因遺伝子産物 FKTN とその相同タンパク質 FKRP が RboP 転移酵素であることを明らかにした<sup>1)</sup>。こうした代表者らの研究を端緒に *O*-Man 型糖鎖の構造多様性や複雑な生合成機構の存在が示されつつある。しかし、これまでに RboP およびコア M3 構造は  $\alpha$ -DG の糖鎖修飾以外では見つかっていない。また、コア M1 とコア M2 からは非常に多様な末端構造が報告されているが、各構造がどのような機能を担っているのかはほとんど分かっておらず、修飾されるタンパク質の報告も少ない。すなわち、*O*-Man 型糖鎖に関しては機能や局在、修飾機構など、実態はほとんど分かっていないのが現状である。

## 2. 研究の目的

本研究は、多様な構造の存在意義や多様な構造をつくるメカニズムの解明を目的とする。また、RboP 糖鎖の修飾タンパク質や局在、機能を解析し、哺乳類の新たな糖鎖修飾の実態解明を目指す。個々の糖鎖構造の生合成機構や機能の解明は、多様な糖鎖による細胞や組織における複雑な制御機構の理解へと繋がり、先天性筋ジストロフィー症の病態解明への貢献も期待できる。

## 3. 研究の方法

### (1) CDP-グリセロール (Gro) によるコア M3 糖鎖合成の制御機構

RboP の代わりにグリセロールリン酸 (GroP) が転移されたコア M3 糖鎖が報告されたことから<sup>6)</sup>、GroP 修飾のメカニズムとその意義について検討した。GroP 修飾はバクテリアで知られており供与体として CDP-Gro が示されていたが、哺乳類の GroP 修飾に関する報告はなく、CDP-Gro や GroP 転移酵素、CDP-Gro 合成酵素の存在は不明であった。そこで、以下の検討を行った。① 高分解能精密質量分析計を用いた LC-MS による CDP-グリセロールの定量系を構築し、哺乳動物由来の培養細胞や組織において実際に CDP-グリセロールが存在するかどうかを調べた。② RboP と GroP は構造が似ていることから、RboP 転移酵素の FKTN および FKRP が GroP 転移活性を有するかどうか調べた。③ CDP-Gro と構造が類似している CDP-コリンや CDP-エタノールアミン (Etn) の合成酵素である PCYT1 および PCYT2 に CDP-Gro 合成活性があるか調べた。

### (2) 構造解析による修飾メカニズムの解明

N 末側の細胞質ドメインと膜貫通ドメインを除いた可溶性 POMGNT2、POMK、FKRP を HEK293 細胞で発現させて精製し X 線結晶構造解析に用いた。構造解析から基質認識や相互作用の関与が推測された重要アミノ酸について、アミノ酸を置換した変異タンパク質を発現させ、酵素活性などの生化学的影響を解析した。また、コア M3 糖鎖構造中の [Xyl-RboP-RboP-] を合成する糖転移酵素、fukutin、FKRP、RXYL1 はリコンビナント酵素による予備的な実験からこれら三者による複合体の形成が示唆されていたことから、内在性酵素による複合体の形成を確認した。

## 4. 研究成果

### (1) CDP-グリセロール (Gro) によるコア M3 糖鎖合成の制御機構

① ヒト培養細胞およびマウス組織を解析した結果、調べた全ての細胞・組織で CDP-Gro が検出され、哺乳類に CDP-Gro が存在することが初めて明らかになった<sup>7)</sup>。CDP-Gro と CDP-Rbo の存在比は細胞種や組織により異なっていたが、CDP-Rboの方が CDP-Gro より多く存在していた。またマウス組織では CDP-Gro は肝臓に最も多く存在することが分かった。

② バクテリアの CDP-Gro 合成酵素 (GCT, AQ1368) を用いて、GroP と CTP から CDP-Gro を作製した。CDP-Rbo の代わりに CDP-Gro を供与体として用いたところ、FKTN と FKRP に GroP 転移活性が認められた<sup>8)</sup>。コア M3 糖鎖の合成では FKTN に続いて FKRP が 2 個目の RboP を転移するが、GroP が転移された糖鎖は FKRP の基質にならず、それ以降の糖鎖伸長は

進まないことが示された<sup>8)</sup>。また、CDP-Rbo と CDP-Gro の共存下では競合的に作用し、CDP-Gro の濃度依存的に FKTN と FKRП の RboP 転移活性は抑制された<sup>8)</sup>。以上の知見は、CDP-Rbo と CDP-Gro による濃度依存的な *O*-Man 型糖鎖合成の制御機構の存在を示唆するものであり、CDP-Gro は *O*-Man 型糖鎖合成の抑制因子である可能性が考えられた。本成果は、哺乳動物に CDP-Gro が存在することを示した初めての発見であり、今後、細胞内における存在量や代謝経路などを明らかにしていく必要がある。

③細胞に候補分子を発現させ、GroP と CTP を基質として CDP-Gro 合成活性を測定したところ、CDP-Etn 合成酵素である PCYT2 に CDP-Gro 合成活性があることが分かった<sup>7)</sup>。さらに、siRNA 法により細胞の PCYT2 を発現抑制すると、細胞内の CDP-Gro 量が顕著に減少した<sup>7)</sup>。これらの結果から、PCYT2 は哺乳動物における CDP-Gro 合成酵素であることが明らかになった。また、PCYT2 の発現抑制により、 $\alpha$ -DG の機能的な糖鎖修飾が増加すること、および  $\alpha$ -DG 自体の量も増加することを見出した。これらの結果から、CDP-Gro は細胞において  $\alpha$ -DG の機能を抑制する役割を持つことが示唆された

## (2) 構造解析による修飾メカニズムの解明

① POMK の結晶構造解析<sup>9)</sup>: POMK はコア M3 糖鎖合成において Ser/The に結合した Man の 6 位のリン酸化を担う酵素である。糖受容体指基質として GalNAc $\beta$ 1-3GlcNAc $\beta$ 1-4Man-peptide を用いて POMK との共結晶解析を行ったところ、POMK は Man をリン酸化する際に、糖受容体基質の [GalNAc-GlcNAc-Man-] の 3 糖を認識して結合することが明らかとなった。

② POMGNT2 の結晶構造解析<sup>10)</sup>: *O*-Man 型糖鎖の生合成では、小胞体 (ER) において *O*-Man 転移酵素 POMT1-POMT2 により Man が転移された後に、GlcNAc 転移酵素 POMGNT2 により GlcNAc $\beta$ 1-4Man が形成されるとコア M3 糖鎖となり、POMGNT2 による修飾を受けなかった場合は、ゴルジ移行後に別の GlcNAc 転移酵素 POMGNT1 により GlcNAc $\beta$ 1-2Man が形成されコア M1 およびコア M2 系の糖鎖となる<sup>1)</sup>。そこで POMGNT2 の X 線結晶構造を解析し、コア M3 糖鎖の修飾部位を決定するメカニズムについて検討した。結晶構造から POMGNT2 は N 末側の触媒領域と C 末側のフィブロネクチン III (FnIII) 様領域からなる二量体を形成していた。糖受容体基質 (Man-peptide) との共結晶解析から、一方の分子の触媒領域で供与体基質の UDP-GlcNAc と糖受容体基質のマンノシルスレオニン (Man-Thr) とその前後数残基のアミノ酸を認識し、もう一方の分子の FnIII 領域は糖受容体基質の C 末側アミノ酸と相互作用していた。糖受容体基質の認識には、Man-Thr を含む約 12 残基のアミノ酸配列が最も重要であることが示唆された。

③ FKRП の結晶構造解析<sup>11)</sup>: FKRП は、触媒ドメインの配列から、ヌクレオチジルトランスフェラーゼ (NTase) スーパーファミリーに属することが予想されていたが、本構造解析から、触媒ドメイン中に、NTase スーパーファミリーに共通の  $\alpha/\beta$  フォールドの存在が確認され、FKRП がこのファミリーに属することが裏付けられた。また、FKRП は結晶中で、二量体が二量体を形成する形でホモ四量体を形成していた。FKRП は溶液中でも四量体として存在することが確認された。さらに、筋ジストロフィー症患者から見出されたいくつかの変異は、FKRП プロトマー間やドメイン間のインターフェースに位置していることが分かった。そこで、このうち 3 つの変異 (Y88F、S221R、L276I) について、重合体形成状態と酵素活性に与える影響を調べた。その結果、いずれの変異体も四量体を形成できず、酵素活性も大きく低下していたことから、FKRП の 4 量体形成は酵素活性に重要であることが示された。次に、FKRП の基質認識機構を解析した。供与体基質である CDP-Rbo の認識機構を調べたところ、NTase の活性部位に相当する保存されたアスパラギン酸が、2 価金属イオンを介して CDP-Rbo のリン酸基部分を認識することが分かった。さらに、糖受容体基質 (RboP-GalNAc-GlcNAc-ManP-peptide) の認識機構を調べたところ、FKRП 四量体のうちの 2 つのプロトマーを使って糖鎖を結合するという、興味深い基質認識機構が明らかになった。すなわち、1 つの FKRП プロトマーのステムドメインが糖鎖の根元のマンノースリン酸 (ManP) のリン酸基を認識し、もう 1 つの FKRП プロトマーの触媒ドメインがリビトールリン酸 (RboP) のリン酸基を認識することが分かった。以上の結果から、FKRП は二量体を機能単位とする四量体を形成していることが分かり、ユニークな RboP 含有糖鎖を合成するための重要な構造的基盤が明らかになった。

④内在性酵素による複合体の形成<sup>12)</sup>: Myc タグを融合した全長型 RXYLT1 のみを強制発現させた細胞から、抗 Myc タグ抗体で RXYLT1 を免疫沈降した画分に内在性の FKTN 活性と FKRП 活性がともに検出されたことから、RXYLT1 は内在性の FKTN および FKRП と複合体を形成することが確認された。FKTN、FKRП、RXYLT1 は [Xyl-RboP-RboP-] を合成する連続した反応を担うことから、複合体形成は、希少な標的に確実にかつ効率的に糖鎖を転移することに寄与していると考えられた。

## <引用文献>

- 1) Manya H, Endo T. Glycosylation with ribitol-phosphate in mammals: New insights into the *O*-mannosyl glycan. (2017) *Biochim. Biophys. Acta* 1861, 2462-2472.
- 2) Yoshida A, Kobayashi K, Manya H, Taniguchi K, Kano H, Mizuno M, Inazu T, Mitsuhashi H, Takahashi S, Takeuchi M, Herrmann R, Straub V, Talim B, Voit T, Topaloglu H, Toda T,

- Endo T. Muscular dystrophy and neuronal migration disorder caused by mutations in a glycosyltransferase, POMGnT1. (2001) *Dev. Cell* 1, 717-724
- 3) Manya H, Chiba A, Yoshida A, Wang X, Chiba Y, Jigami Y, Margolis RU, Endo T. Demonstration of mammalian protein *O*-mannosyltransferase activity: coexpression of POMT1 and POMT2 required for enzymatic activity. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 101, 500-505.
  - 4) Kanagawa M, Kobayashi K, Tajiri M, Manya H, Kuga A, Yamaguchi Y, Akasaka-Manyu K, Furukawa J, Mizuno M, Kawakami H, Shinohara Y, Wada Y, Endo T, Toda T. Identification of a Post-translational Modification with Ribitol-Phosphate and Its Defect in Muscular Dystrophy. (2016) *Cell Rep.* 14, 2209-2223.
  - 5) Manya H, Yamaguchi Y, Kanagawa M, Kobayashi K, Tajiri M, Akasaka-Manyu K, Kawakami H, Mizuno M, Wada Y, Toda T, Endo T. The Muscular Dystrophy Gene TMEM5 Encodes a Ribitol  $\beta$ 1,4-Xylosyltransferase Required for the Functional Glycosylation of Dystroglycan. (2016) *J. Biol. Chem.* 291, 24618-24627
  - 6) Yagi H, Kuo CW, Obayashi T, Ninagawa S, Khoo KH, Kato K. Direct Mapping of Additional Modifications on Phosphorylated *O*-glycans of  $\alpha$ -Dystroglycan by Mass Spectrometry Analysis in Conjunction with Knocking Out of Causative Genes for Dystroglycanopathy. (2016) *Molecular & cellular proteomics : MCP* 15, 3424-3434.
  - 7) Imae R, Manya H, Tsumoto H, Miura Y, Endo T. PCYT2 synthesizes CDP-glycerol in mammals and reduced PCYT2 enhances the expression of functionally glycosylated  $\alpha$ -dystroglycan. (2021) *J. Biochem.*, 170(2), 183-194.
  - 8) Imae R, Manya H, Tsumoto H, Osumi K, Tanaka T, Mizuno M, Kanagawa M, Kobayashi K, Toda T, Endo T. CDP-glycerol inhibits the synthesis of the functional *O*-mannosyl glycan of  $\alpha$ -dystroglycan. (2018) *J. Biol. Chem.*, 293, 12186-12198.
  - 9) Nagae M, Mishra SK, Neyazaki M, Oi R, Ikeda A, Matsugaki N, Akashi S, Manya H, Mizuno M, Yagi H, Kato K, Senda T, Endo T, Nogi T, Yamaguchi Y. 3D structural analysis of protein *O*-mannosyl kinase, POMK, a causative gene product of dystroglycanopathy. (2017) *Gene Cells*, 22, 348-359.
  - 10) Imae R, Kuwabara N, Manya H, Tanaka T, Tsuyuguchi M, Mizuno M, Endo T, Kato R. The structure of POMGNT2 provides new insights into the mechanism to determine the functional *O*-mannosylation site on  $\alpha$ -dystroglycan. (2021) *Gene Cells*, 26, 485-494.
  - 11) Kuwabara N, Imae R, Manya H, Tanaka T, Mizuno M, Tsumoto H, Kanagawa M, Kobayashi K, Toda T, Senda T, Endo T, Kato R. Crystal structures of fukutin-related protein (FKRP), a ribitol-phosphate transferase related to muscular dystrophy. (2020) *Nat. Commun.*, 11, 303.
  - 12) Nishihara R, Kobayashi K, Imae R, Tsumoto H, Manya H, Mizuno M, Kanagawa M, Endo T, Toda T. Cell endogenous activities of fukutin and FKRP coexist with the ribitol xylosyltransferase, TMEM5. (2018) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 497, 1025-1030

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Imae Rieko, Manya Hiroshi, Endo Tamao	4. 巻 26
2. 論文標題 Biosynthetic Mechanisms and Biological Significance of Glycerol Phosphate-Containing Glycan in Mammals	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 6675 ~ 6675
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules26216675	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Imae Rieko, Manya Hiroshi, Tsumoto Hiroki, Miura Yuri, Endo Tamao	4. 巻 170
2. 論文標題 PCYT2 synthesizes CDP-glycerol in mammals and reduced PCYT2 enhances the expression of functionally glycosylated -dystroglycan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 183 ~ 194
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvab069	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Imae Rieko, Kuwabara Naoyuki, Manya Hiroshi, Tanaka Tomohiro, Tsuyuguchi Masato, Mizuno Mamoru, Endo Tamao, Kato Ryuichi	4. 巻 26
2. 論文標題 The structure of POMGNT2 provides new insights into the mechanism to determine the functional mannose site on dystroglycan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 485 ~ 494
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12853	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Manya Hiroshi, Kuwabara Naoyuki, Kato Ryuichi, Endo Tamao	4. 巻 2132
2. 論文標題 FAM3B/PANDER-Like Carbohydrate-Binding Domain in a Glycosyltransferase, POMGNT1	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 609 ~ 619
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-0430-4_52	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Imae Rieko, Kuwabara Naoyuki, Manya Hiroshi, Kato Ryuichi, Endo Tamao	4. 巻 32
2. 論文標題 Biosynthetic Mechanisms of a Unique Ribitol Phosphate-containing Glycan by FKRP, a Ribitol Phosphate Transferase	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Trends in Glycoscience and Glycotechnology	6. 最初と最後の頁 E195 ~ E200
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4052/tigg.2008.1E	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kuwabara Naoyuki, Imae Rieko, Manya Hiroshi, Tanaka Tomohiro, Mizuno Mamoru, Tsumoto Hiroki, Kanagawa Motoi, Kobayashi Kazuhiro, Toda Tatsushi, Senda Toshiya, Endo Tamao, Kato Ryuichi	4. 巻 11
2. 論文標題 Crystal structures of fukutin-related protein (FKRP), a ribitol-phosphate transferase related to muscular dystrophy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 303
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-14220-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Manya Hiroshi	4. 巻 31
2. 論文標題 Mechanisms of $\alpha$ -Mannosyl Glycan Biosynthesis in Mammals	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Trends in Glycoscience and Glycotechnology	6. 最初と最後の頁 SE63 ~ SE64
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4052/tigg.1930.2SE	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Imae Rieko, Manya Hiroshi, Tsumoto Hiroki, Osumi Kenji, Tanaka Tomohiro, Mizuno Mamoru, Kanagawa Motoi, Kobayashi Kazuhiro, Toda Tatsushi, Endo Tamao	4. 巻 293
2. 論文標題 CDP-glycerol inhibits the synthesis of the functional $\alpha$ -mannosyl glycan of $\alpha$ -dystroglycan	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 12186 ~ 12198
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA118.003197	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nishihara Ryuta, Kobayashi Kazuhiro, Imae Rieko, Tsumoto Hiroki, Manya Hiroshi, Mizuno Mamoru, Kanagawa Motoi, Endo Tamao, Toda Tatsushi	4. 巻 497
2. 論文標題 Cell endogenous activities of fukutin and FKRK coexist with the ribitol xylosyltransferase, TMEM5	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 1025 ~ 1030
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.02.162	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nagae Masamichi, Mishra Sushil K., Neyazaki Makiko, Oi Rika, Ikeda Akemi, Matsugaki Naohiro, Akashi Satoko, Manya Hiroshi, Mizuno Mamoru, Yagi Hirokazu, Kato Koichi, Senda Toshiya, Endo Tamao, Nogi Terukazu, Yamaguchi Yoshiki	4. 巻 22
2. 論文標題 3D structural analysis of proteinO-mannosyl kinase, POMK, a causative gene product of dystroglycanopathy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 348 ~ 359
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12480	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kanagawa Motoi, Manya Hiroshi	4. 巻 27
2. 論文標題 Tatsushi Toda and Tamao Endo win 107th Japan Academy Prize	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Glycobiology	6. 最初と最後の頁 599 ~ 600
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/glycob/cwx040	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamashita Keitaro, et al.	4. 巻 4
2. 論文標題 Experimental phase determination with selenomethionine or mercury-derivatization in serial femtosecond crystallography	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 IUCrJ	6. 最初と最後の頁 639 ~ 647
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1107/S2052252517008557	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Manya Hiroshi, Endo Tamao	4. 巻 1861
2. 論文標題 Glycosylation with ribitol-phosphate in mammals: New insights into the O-mannosyl glycan	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects	6. 最初と最後の頁 2462 ~ 2472
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2017.06.024	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 桑原 直之、加藤 龍一、萬谷 博、遠藤 玉夫	4. 巻 59
2. 論文標題 POMGnT1の構造解析による筋ジストロフィー疾患発症機序解明	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 日本結晶学会誌	6. 最初と最後の頁 114 ~ 120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5940/jcrsj.59.114	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 萬谷 博、遠藤 玉夫	4. 巻 89
2. 論文標題 哺乳類におけるリピトールリン酸含有糖鎖の発見とO-マンノース型糖鎖の生合成機構の解明	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 605 ~ 612
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2017.890605	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計34件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 星野駿介、今江理恵子、萬谷博、遠藤玉夫
2. 発表標題 哺乳類におけるリピトールリン酸産生酵素の解析
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 今江理恵子、萬谷博、津元裕樹、三浦ゆり、遠藤玉夫
2. 発表標題 CDP-エタノールアミン合成酵素PCYT2によるCDP-グリセロール生合成機構の発見および -ジストログリカンの機能制御.
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田村純一、田村敬裕、永瀬真央、真鍋法義、大野詩歩、星野駿介、山口芳樹、萬谷博、遠藤玉夫
2. 発表標題 RboP5-3GalNAcbの系統的合成と糖転移受容体機能
3. 学会等名 日本農芸化学会2022大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 萬谷博、今江理恵子、桑原直之、田中智博、露口正人、水野真盛、加藤龍一、遠藤玉夫
2. 発表標題 構造・生化学から分かってきた0-マンノース型糖鎖の生合成機構
3. 学会等名 第7回日本筋学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 露口正人、桑原直之、萬谷博、今江理恵子、田中智博、水野真盛、遠藤玉夫、加藤龍一
2. 発表標題 筋ジストロフィー症に関わる糖転移酵素POMGNT2の基質認識の分子機構
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 星野駿介、今江理恵子、萬谷博、遠藤玉夫
2. 発表標題 哺乳動物細胞におけるリピトールリン酸生成経路の解析
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今江理恵子、萬谷博、津元裕樹、三浦ゆり、遠藤玉夫
2. 発表標題 CDP-エタノールアミン合成酵素PCYT2によるCDP-グリセロールの合成および -ジストログリカンの制御
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 萬谷博、今江理恵子、桑原直之、田中智博、露口正人、水野真盛、加藤龍一、遠藤玉夫
2. 発表標題 間質-細胞相互作用を制御する0-マンノース型糖鎖の生合成機構
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田村純一、田村敬裕、真鍋法義、大野詩歩、山口芳樹、萬谷博、遠藤玉夫
2. 発表標題 タンデムリピトールリン酸含有0-マンノシルグリカンの系統的合成とその糖鎖機能
3. 学会等名 第40回日本糖質学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 萬谷博、今江理恵子、桑原直之、田中智博、露口正人、水野真盛、加藤龍一、遠藤玉夫
2. 発表標題 構造解析に基づくO-マンノース型糖鎖の生合成機構
3. 学会等名 第40回日本糖質学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今江理恵子、桑原直之、萬谷博、加藤龍一、遠藤玉夫
2. 発表標題 リビトールリン酸転移酵素FKRPIによるO-マンノース型糖鎖伸長機構
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今江理恵子、桑原直之、萬谷博、加藤龍一、遠藤玉夫
2. 発表標題 O-マンノース型糖鎖の伸長過程におけるFKRPIによるリビトールリン酸転移機構
3. 学会等名 第39回日本糖質学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今江理恵子、桑原直之、萬谷博、加藤龍一、遠藤玉夫
2. 発表標題 筋ジストロフィー症原因遺伝子産物FKRPIによるO-マンノース型糖鎖へのリビトールリン酸転移機構
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今江理恵子、萬谷博、津元裕樹、石渡俊行、遠藤玉夫
2. 発表標題 グリセロールリン酸供与体CDP-グリセロールの哺乳動物における定量分析
3. 学会等名 第38回日本糖質学会年会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 今江理恵子、萬谷博、津元裕樹、石渡俊行、遠藤玉夫
2. 発表標題 哺乳動物培養細胞および組織におけるCDP-グリセロールの定量分析
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 今江理恵子、萬谷博、津元裕樹、遠藤玉夫
2. 発表標題 -ジストログリカン糖鎖合成阻害因子CDP-グリセロールの定量分析
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 萬谷博、赤阪啓子、今江理恵子、遠藤玉夫
2. 発表標題 糖鎖を利用した先天性筋ジストロフィー症の治療法開発
3. 学会等名 TOBIRA 第7回研究交流フォーラム
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 Naoyuki Kuwabara, Hiroshi Many, Rieko Imae, Tomohiro Tanaka, Motoi Kanagawa, Kazuhiro Kobayashi, Tatsushi Toda, Mamoru Mizuno, Toshiya Senda, Tamao Endo, Ryuichi Kato
2. 発表標題 Substrates recognition and oligomerization mechanism of Fukutin-related protein (FKRP).
3. 学会等名 11th International Symposium on Glycosyltransferases (GlycoT 2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 萬谷博、今江理恵子、津元裕樹、田中智博、水野真盛、金川基、小林千浩、戸田達史、遠藤玉夫
2. 発表標題 福山型筋ジストロフィー原因遺伝子産物fukutinのグリセロールリン酸転移活性.
3. 学会等名 第4回日本筋学会学術集会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 今江理恵子、萬谷博、津元裕樹、田中智博、水野真盛、金川基、小林千浩、戸田達史、遠藤玉夫
2. 発表標題 新規糖鎖修飾体グリセロールリン酸による $\alpha$ -ジストログリカンの機能糖鎖合成阻害.
3. 学会等名 第37回日本糖質学会年会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 今江理恵子、萬谷博、津元裕樹、田中智博、水野真盛、金川基、小林千浩、戸田達史、遠藤玉夫
2. 発表標題 CDP-glycerolは $\alpha$ -ジストログリカンの糖鎖伸長を阻害する.
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 萬谷博
2. 発表標題 糖鎖異常による先天性筋ジストロフィー症の病態解明と薬学的展.
3. 学会等名 第62回日本薬学会関東支部大会 (招待講演)
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 Rieko Imae, Hiroshi Manya, Hiroki Tsumoto, Tamao Endo
2. 発表標題 Inhibitory effect of CDP-glycerol on the synthesis of the O-mannosyl glycan of $\alpha$ -dystroglycan
3. 学会等名 首都大学東京バイオコンファレンス2018
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 Hiroshi Manya
2. 発表標題 Biosynthesis of O-mannosyl glycan in mammals.
3. 学会等名 糖鎖創薬研究拠点キックオフシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 今江理恵子、萬谷博、津元裕樹、遠藤玉夫
2. 発表標題 CDP-グリセロール添加による $\alpha$ -ジストログリカンの機能糖鎖伸長およびラミニン結合能への影響.
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 萬谷博
2. 発表標題 新規糖鎖修飾機構の理解に基づく筋ジストロフィー症の病態解明と創薬への応用
3. 学会等名 日本薬学会第139年会（招待講演）
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 萬谷博, 山口芳樹, 金川基, 小林千浩, 田尻道子, 赤阪-萬谷啓子, 川上宏子, 水野真盛, 和田芳直, 戸田達史
2. 発表標題 筋ジストロフィー症原因遺伝子産物TMEM5によるジストログリカンの機能糖鎖修飾
3. 学会等名 第36回日本糖質学会年会
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 長江雅倫, Sushil K. Mishra, 根谷崎牧子, 大井里香, 池田明美, 松垣直宏, 明石知子, 萬谷博, 水野真盛, 矢木宏和, 加藤晃一, 千田俊哉, 遠藤玉夫, 禾晃和, 山口芳樹
2. 発表標題 ジストログリカノパチー原因遺伝子産物Protein O-Mannosyl Kinase (POMK)の構造生物学的研究,ポスター
3. 学会等名 第36回日本糖質学会年会
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 桑原直之, 萬谷博, 金川基, 今江理恵子, 田中智博, 小林千浩, 戸田達史, 水野真盛, 遠藤玉夫, 加藤龍一
2. 発表標題 Fukutin-related protein (FKRP)の結晶構造と基質認識機構解析
3. 学会等名 第36回日本糖質学会年会
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 Naoyuki Kuwabara, Hiroshi Manya, Takeyuki Yamada, Hiroaki Tateno, Motoi Kanagawa, Kazuhiro Kobayashi, Keiko Akasaka-Manyu, Yuriko Hirose, Mamoru Mizuno, Mitsunori Ikeguchi, Tatsushi Toda, Jun Hirabayashi, Toshiya Senda, Tamao Endo, Ryuichi Kato
2. 発表標題 Carbohydrate-binding domain of the POMGnT1 stem region modulates O-mannosylation sites of $\alpha$ -dystroglycan
3. 学会等名 4th International Symposium on Glyconjugates (GlycoXXIV) (国際学会)
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 萬谷博
2. 発表標題 新規O-マンノース型糖鎖の発見とその異常による先天性筋ジストロフィー症
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017) (招待講演)
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 桑原直之, 萬谷博, 山田健之, 館野浩章, 金川基, 小林千浩, 赤阪-萬谷啓子, 弘瀬友理子, 水野真盛, 池口満徳, 戸田達史, 平林淳, 千田俊哉, 遠藤玉夫, 加藤龍一
2. 発表標題 POMGnT1の構造解析による筋ジストロフィー疾患発症機序解明
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017)
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 桑原直之, 萬谷博, 今江理恵子, 遠藤玉夫, 千田俊哉, 加藤龍一
2. 発表標題 哺乳類細胞発現系によるFukutin-related protein (FKRP)の大量精製と結晶構造決定
3. 学会等名 2017年度量子ビームサイエンスフェスタ
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 今江理恵子, 萬谷博, 津元裕樹, 田中智博, 水野真盛, 金川基, 小林千浩, 戸田達史, 遠藤玉夫
2. 発表標題 筋ジストロフィー症原因遺伝子産物フクチンはジストログリカン糖鎖にグリセロールリン酸を導入する活性を有する
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2017年～2018年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 O-マンノシルグリカン関連化合物および糖鎖伸長プライマーとしてのその使用	発明者 田村純一, 他	権利者 鳥取大学, 他
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-174154	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計2件

産業財産権の名称 Therapeutic agent for diseases associated with abnormalities in dystroglycan sugar chain modification and method for assaying associated enzyme.	発明者 Toda T, et al.	権利者 Kobe univ. et al
産業財産権の種類、番号 特許、US11,040,087 B2	取得年 2021年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 ジストログリカン糖鎖修飾異常に伴う疾患の治療剤及び関連酵素測定法	発明者 戸田達史, 他	権利者 神戸大学, 他
産業財産権の種類、番号 特許、7058417	取得年 2022年	国内・外国の別 国内

〔その他〕

東京都健康長寿医療センター <a href="https://www.tmg Hig.jp/research/index.html">https://www.tmg Hig.jp/research/index.html</a>
--

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------