

提出日：2019年 5月 17日

平成 30 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	血液凝固第 XII 因子（FXII）の活性化機構および FXII 阻害タンパク質の活性発現機構の解明		
研究代表者	氏名	相川京子	
	所属機関名・部局名	お茶の水女子大学基幹研究院自然科学系	
	職名	教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	○	共同研究員	
		超高磁場NMR 共同利用研究課題	
		クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
		客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	高木淳一		

血液凝固第 XII 因子 (factor XII, FXII) は、血液凝固内因系（接触系）反応において最初に活性化されるセリンプロテアーゼである。負電荷性分子との接触により Arg353-Val354 で切断が起こり、活性化 FXII(FXIIa)となるが、生理的あるいは病態における活性化機序の詳細は不明である。また、FXII は約 80kDa の糖タンパク質であり、O 結合型と N 結合型の複雑な糖鎖修飾を受けるが、FXII の活性化と糖鎖修飾の関連は明らかにされていない。そこで本研究では FXII のプロテアーゼ活性および活性化機序の解明を目的とし、FXII の 2 つの EGF 様ドメインの O 結合型糖鎖修飾の解析を行った。

ヒト胎児腎細胞 Expi293F で発現させた N 末端に PA タグを付与したヒト FXII のタンデム質量分析を行ったところ、第一 EGF 様 (EGF1) ドメインの主要な修飾は fucose であり、fucose の約 1/100 量の GlcNAc の修飾もあることがわかった。O-fucose 修飾は近傍にコンセンサス配列[C2X4-5(S/T)C3]がある T90 に起こっている可能性が高いと考えられた。また、O-GlcNAc 修飾の共通配列にあたる T107 に微量の O-GlcNAc が結合していると推測された。一方、EGF2 ドメインは単糖修飾を受けていなかった。糖鎖付加部位のシングル変異体 (T90A、T107A) およびダブル変異体 (T90A/T107A) を Expi293F に発現させると、O-fucose 欠損変異体では野生型に比べて細胞での分泌性が減少し、また、活性化しやすいことがわかった。以上の結果から、EGF1 ドメインの O-fucose は FXII の生合成過程での安定化に寄与する可能性が示唆された。

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：令和元年 5 月 17 日（金） ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp