



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Exploring the In situ Pairing of Human Galectins and α -Dystroglycan O-Mannosylated Core M1 Glycopeptides [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	VILLONES, LARENO JR. LOPEZ
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第15307号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89653
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	LarenOjr_Villones_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (生命科学) 氏名 Lareno L. Villones Jr.

審査担当者	主査	教授	比能	洋
	副査	教授	西村	紳一郎
	副査	教授	相沢	智康
	副査	准教授	上原	亮太

学位論文題名

Exploring the *In situ* Pairing of Human Galectins and α -Dystroglycan O-Mannosylated Core M1 Glycopeptides

(コア M1 型糖鎖を有する α -ジストログリカン糖ペプチドとガレクチンの *In-situ* ペア探索研究)

博士學位論文審査等の結果について (報告)

コア M1 型糖鎖はその形成不全が筋ジストロフィーに関与することが最初に報告された O-マンノース型糖鎖であり、神経や筋肉では主要な翻訳語修飾糖鎖の一つであることが報告されている。しかし、筋ジストロフィーの原因となる機能不全は細胞膜上のコア M3 型糖鎖と細胞外マトリックスのラミニン間の相互作用の不全によるものであることが実証され、哺乳動物間で保存されているコア M1 型糖鎖の真の機能が注目されている。また、ガレクチンはガラクトース残基を有する哺乳動物が有するレクチンファミリーの一つであり、ラミニン等の細胞外マトリックスに保存され、その相互作用相手の変化やラミニン—細胞間のトランスブリッジ形成が様々な生命現象に関与することが報告されている。しかし、ラミニン—ジストログリカンの相互作用形成におけるガレクチンの関与は不明であった。

本論文は、コア M1 型糖鎖を有するジストログリカン糖ペプチドライブラリを提示したマイクロアレイを用いて、蛍光ラベル化ガレクチンファミリーとの相互作用に関して系統的に研究し、ガレクチン 1 がコア M1 型糖鎖を有するジストログリカン糖ペプチドと強く相互作用することを世界で初めて見出したものである。

また、ガレクチン-1 は β メチルラクトシドに対し、 μ M 領域の解離定数を有することが知られており、マイクロアレイの糖アミノ酸提示面に対してはこの濃度領域の β メチルラクトシドを添加することでガレクチン 1 との相互作用を阻害できることに対し、糖ペプチド提示面との競合阻害においては mM 領域の β メチルラクトシドが必要であることが見出された。これはガレクチン 1 のレクチン面以外の領域が相互作用に関与していることを示唆している。ガレクチン類はレクチン面 (S-face) の反対面 (F-face) においてケモカインなどと相互作用することが近年見出されており、糖ペプチドのペプチド領域がこの F-face と相互作用していることが示唆された。そこで、¹⁵N 標識ガレクチン 1 を作成し、HSQC-NMR 法によるコア M1 型糖ペプチドおよび β メチルラクトシドとの相互作用位置の調査を行ったところ、コア M1 型糖ペプチドが S-face に加え F-face と強く相互作用していることが示された。

ラミニンには様々なガレクチンが結合しているが、トランスブリッジ形成の選択性に関する知見は限られている。著者は蛍光ラベル化ラミニンファミリーに非標識ガレクチンを結合させ、その複合体がマイクロアレイ上に提示されたコア M1 型糖ペプチドと相互作用するかどうかを系統的に調査した。その結果、ガレクチン 1 と複合したラミニンファミリーはコア M3 型糖鎖を介することなくコア M1 型糖鎖を有するジストログリカンと相互作用することが示された。我々の先行

研究により、蛍光ラベルラミニンファミリーはコア M1 型糖ペプチドと相互作用しないことが確認されているため、この相互作用はガレクチン1がラミニンに対するシス結合からトランスブリッジへと変化することに形成されていることが示唆された。また、ガレクチンのレクチンドメインをリンカーペプチドにより結合し2両化すると、ガレクチン3もコア M1 型糖ペプチドと相互作用することが示された。一方、ラミニンに対するシス結合からマイクロアレイ上のコア M1gata糖ペプチドとのトランスブリッジ相互作用へと変化する特性はガレクチン1の複合体のみが示したことから、このトランスブリッジ形成能はガレクチン1の F-face とジストログリカン糖ペプチドのペプチド部位との相互作用が関与していることが示された。この一連の実験結果はガレクチンファミリー間におけるトランスブリッジ形成の選択性にガレクチンの F-face と細胞表層ペプチドの相互作用が関与していることを示した最初の例である。また、競合アッセイによりジストログリカンペプチドとこのガレクチン F-face の相互作用自体は非常に弱い、S-face 側への糖リガンドの結合により F-face 側の相互作用が増強されることも示された。すなわち、ガレクチンの S-face と糖リガンドの相互作用が F-face と細胞表層ペプチドリガンドとの相互作用のスイッチとして機能することも示された。

これを要するに、著者は、ガレクチン1がコア M1 型糖ペプチドと強く相互作用することを見出し、さらにその強い相互作用がペプチド部位とガレクチンの非レクチン面(F-face)との相互作用が関与していることを実証するとともに、このガレクチン1 F-face の相互作用がラミニンとジストログリカン間のトランスブリッジ形成能に寄与していることを実証したものであり、筋ジストロフィー治や神経再生等の治療法開発に大きく貢献しうる学術的発見を含むものである。

よって著者は、北海道大学博士（生命科学）の学位を授与される資格あるものと認める。