

## Comparative analysis of Archaeal lipid-linked oligosaccharides that serve as oligosaccharide donors for Asn-glycosylation

田口, 裕也

<https://doi.org/10.15017/1806840>

---

出版情報：九州大学, 2016, 博士 (システム生命科学), 課程博士  
バージョン：  
権利関係：全文ファイル公表済

氏 名 : 田口 裕也

論 文 名 : **Comparative analysis of Archaeal lipid-linked oligosaccharides that serve as oligosaccharide donors for Asn-glycosylation**

(古細菌の N 型糖鎖供与体(脂質結合型糖鎖)の比較分析)

区 分 : 甲

### 論 文 内 容 の 要 旨

アスパラギン糖鎖修飾(N 結合型糖鎖修飾)はタンパク質翻訳後修飾の一つであり、真核生物・真正細菌・古細菌の 3 つの生物ドメイン全てに保存されている。タンパク質に付加されるオリゴ糖鎖は、膜上で脂質結合型糖鎖(Lipid-linked oligosaccharide, LLO)として合成され、オリゴ糖転移酵素(Oligosaccharyltransferase, OST)が LLO 上のオリゴ糖鎖をタンパク質のアスパラギン残基へ転移する。LLO は脂質-リン酸基-オリゴ糖を基本骨格とし、真核生物ではドリコール-二リン酸-オリゴ糖鎖、真正細菌ではウンデカプレノール-二リン酸-オリゴ糖鎖で構成されている。対照的に、古細菌の LLO の構造は種によって非常に多様である。オリゴ糖鎖の構造は、糖鎖を構成するオリゴ糖の種類や糖鎖の長さが大きく異なっている。脂質構造はドリコールであることは共通しているが、その長さは異なっている。ドリコールの構成単位であるイソプレンユニットに着目すると、二重結合が飽和しているイソプレンユニットの数が種によって異なる。リン酸基に関しては、リン酸基の数が 1 つの LLO が OST の基質として機能している事が明らかにされている。しかしある種の古細菌では、リン酸基の数が 2 つの LLO も、OST の基質かどうかは分かっていないがその存在が確認されている。このような多様性のために、古細菌ドメインにおける LLO の構造一般に関する議論は難しく、古細菌ドメインの LLO の共通の特徴や他ドメインの LLO との関係については不明であった。

本研究では、古細菌ドメインから広く古細菌を選択するため、進化的な起源が古いとされているユーリアーキオータ門に属する古細菌と、真核生物の近縁であると考えられているクレンアーキオータ門に属する古細菌から、それぞれ二種類ずつ選択した。オリゴ糖鎖の構造は先行研究や当研究室の NMR 解析によって既に決定されているため、本研究では脂質構造の決定とリン酸基の数の決定を目的とした。古細菌から LLO を精製するため、古細菌を培養し膜画分を調製した。クロロホルム・メタノール・水混合溶液を用いて LLO を含む糖脂質画分を抽出し、次いで陰イオン交換、順相 HPLC を行った。LLO の化学構造は ESI-MS 解析、及び MSMS 解析により決定した。この多段階精製で、順相 HPLC クロマトグラムでシングルピークを形成する純度の LLO の精製に成功した。今回精製した全ての LLO について、オリゴ糖転移反応実験を行い、OST 酵素の基質となる事を確認した。それぞれの種について、糖鎖の長さの分布、リン酸基の数、ドリコールの長さの分布を明らかにし、二重結合が飽和しているイソプレンユニットの数も推定した。さらに、一部の古細菌では、ドリコールの構造が同一で糖鎖の構造が異なる LLO や、糖鎖の構造が同一でドリコールの構造が異なる LLO といった、複数の LLO を持っている事が新たに分かった。

クレンアーキオータ門の古細菌における LLO の構造決定は本研究が初めてであり、この事によ

り、古細菌ドメイン内で LLO の構造比較が可能となった。リン酸基の数に着目すると、ユーリアーキオータ門の LLO はリン酸基が 1 つ、クレンアーキオータ門の LLO はリン酸基が 2 つ、と分類可能であることが推察できた。このことから、真核生物の近縁と考えられているクレンアーキオータ門に属する古細菌は、N 型糖鎖修飾のメカニズムも真核生物に近い事が予想される。今後は、クレンアーキオータ門に属する古細菌をモデル生物として用いる事で、真核生物の N 型糖鎖修飾の研究の発展が期待できる。

