

## Structural elucidation of asparagine-linked oligosaccharides from three hyperthermophilic archaeal species

藤浪, 大輔

<https://hdl.handle.net/2324/1806842>

---

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 :

氏 名 : 藤浪 大輔

論 文 名 : **Structural elucidation of asparagine-linked oligosaccharides from three hyperthermophilic archaeal species**  
(超好熱性古細菌由来アスパラギン結合型糖鎖の化学構造決定)

区 分 : 甲

## 論 文 内 容 の 要 旨

タンパク質への翻訳後修飾の一つとして、アスパラギン残基へのオリゴ糖鎖付加修飾（N結合型糖鎖修飾）がある。N結合型糖鎖修飾は膜タンパク質酵素であるオリゴ糖転移酵素により担われ、オリゴ糖転移酵素は脂質上に組み立てられたオリゴ糖鎖をタンパク質中のコンセンサス配列（N-X-T/S; X≠P）上にあるアスパラギン側鎖アミド基へ転移する反応を触媒する。N結合型糖鎖修飾は、真核生物、古細菌、真正細菌の3つの生物ドメイン間で保存されているが、N結合型オリゴ糖鎖の構造は各生物ドメイン間で異なる。真核生物のオリゴ糖鎖構造は、9つのマンノース、3つのグルコース、2つのNアセチルグルコサミン（キトビオース構造）からなる高マンノース型枝分かれ構造であり、この構造は真核生物種間で保存されている。一方、古細菌と真正細菌のオリゴ糖鎖構造は、生物種間で共通性がなく、構成単糖、結合様式ともに多様である。

本研究では超好熱性古細菌である *Archaeoglobus fulgidus*、*Pyrococcus furiosus*、*Pyrobaculum calidifontis* に由来する3種類のN結合型オリゴ糖鎖の化学構造決定をNMRにより行った。*A. fulgidus* と *P. furiosus* はオリゴ糖転移酵素の構造生物学的研究が盛んにおこなわれている生物種であるが、ドナー基質であるオリゴ糖鎖の構造が未解明であり、基質認識機構の解明がなされていない。*P. calidifontis* はクレン古細菌界に属する超好熱性古細菌で遺伝学的に真核生物に近いとされる古細菌である。

分析対象であるオリゴ糖ペプチドは、培養古細菌から抽出した脂質結合型オリゴ糖とオリゴ糖転移酵素にコンセンサス配列を含む合成ペプチドを加えることで、試験管内酵素反応により調製した。古細菌培地中に<sup>13</sup>C-グルコースを加えることでオリゴ糖の安定同位体標識を行うことができ、NMR解析の信頼性を大幅に上げることができた。

*A. fulgidus* のN結合型オリゴ糖鎖構造は、アスパラギンに直接結合している第一単糖が一般的なNアセチルヘキソースではなく、グルコースである点がユニークであった。*P. furiosus* のN結合型オリゴ糖鎖構造は、新規な枝分かれキシロース構造を持つ構造であった。*P. calidifontis* のN結合型オリゴ糖鎖構造は9つのマンノース、ジNアセチルグルコース、ジNアセチルグルクロン酸から構成されていた。第一単糖がジNアセチルグルコース、第二単糖がジNアセチルグルクロン酸であり真核生物型のキトビオース骨格を保持していた。またマンノースの枝分かれ構造も真核生物型の構造と共通していた。遺伝学的な解析からこのマンノース枝分かれ構造の生合成を担う酵素が *P. calidifontis* と真核生物間で保存されていることを見出した。

化学構造決定したオリゴ糖構造情報を元に進化学的な観点から構造比較を行うことができた。得られた化学構造情報はオリゴ糖転移酵素の基質認識機構の解明に寄与する。