

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 半澤 健  
 学位 博士 ( 理学 )  
 学位記番号 新大院博 (理) 第 422 号  
 学位授与の日付 平成 29 年 3 月 23 日  
 学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当  
 博士論文名 ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) の胚発生における糖鎖分子の構造動態と機能に関する研究

論文審査委員 主査 教授・長東 俊治  
 副査 教授・内海 利男  
 副査 教授・前野 貢

博士論文の要旨

本研究では、ゼブラフィッシュ胚を実験材料として糖タンパク質を構成する主要な糖鎖である *N*-結合型糖鎖および *O*-結合型糖鎖の構造と量に関して、高速液体クロマトグラフィーおよび質量分析に基づいた手法による解析を行った。胚の *N*-結合型糖鎖の解析を行った結果、真核生物に保存された構造グループであるオリゴマンノース型が多量に含まれることに加えて、脊椎動物において一般的に見られる LacNAc と sialyl LacNAc のいずれかあるいは両方を有する複合・混成型の糖鎖が高い存在量を示すことが明らかになった。胚のすべての発生ステージにおいて常に多量に存在するオリゴマンノース型とは対照的に、複合・混成型はステージに依存した変化を示すことが確認された。原腸胚から初期体節期の胚では複合・混成型は微量でありかつ  $\alpha 2,6$ -sialyl LacdiNAc を主要なアンテナ構造として持っていた。中期体節期から咽頭胚期にかけて、LacNAc と  $\alpha 2,6$ -sialyl LacNAc アンテナのいずれかあるいは両方を持つ糖鎖は劇的に増加し、 $\alpha 2,3$ -sialyl LacNAc、コアフコースおよびバイセクティング GlcNAc 構造は緩やかな増加傾向を示した。そして、クラス-I  $\alpha$ -マンノシダーゼ阻害剤であるキフネンシンあるいは1-デオキシマンノジリマイシンの胚への注入により、複合・混成型の糖鎖生合成を抑制すると胚の中期体節期以降に特に形態形成異常が生じることも確かめられた。これらの結果は、脊椎動物に保存された LacNAc を含む複合・混成型糖鎖が脊椎動物間で特に保存性の高い胚発生中期 (ファイロティピックステージ) において重要であることを示唆するものである。その一方で、胚と卵黄嚢を分割した上で糖鎖の解析を行うことにより、以前に胚の主要な複合型糖鎖として報告されていた  $\beta 4$ -galactosyl sialyl Lewis x 構造は胚で合成されたものではなく主に卵黄の貯蔵タンパク質に由来することが示された。さらに胚で合成される一部の複合型糖鎖の末端にフコシダーゼ耐性を備えたデオキシヘキソース残基、および末端構造としては珍しい  $\alpha$ -GalNAc 残基を含む未知の伸長構造が発見された。この未知の伸長構造について焦点を当ててゼブラフィッシュ胚の糖鎖をさらに進めた結果、そのデオキシヘキソース残基は一般的なフコース

ではなく生物における報告例の少ない6-デオキシアルトロース(6dAlt)であることが示された。また、6dAlt修飾の土台となるのはForssman抗原の抗原決定部位と共通の構造であることが示唆された。6dAltを持つ糖鎖を含む胚の一部の複合型*N*結合型糖鎖は、糖タンパク質ではなく、糖ペプチドとして遊離型糖鎖に準じた形態をとることが明らかになった。この構造は、ゼブラフィッシュ胚の少なくとも神経胚から初期幼生に至るまで、中性*O*結合型糖鎖の主要な末端構造として存在することも明らかとなった。さらに6dAltをもつ糖ペプチド、*O*結合型糖鎖およびその関連構造は、胚の外に分泌されることも明らかになった。これは一般的な糖タンパク質糖鎖とは異なり、6dAlt残基を持つ糖鎖を胚体外に放出するための経路が存在する可能性を示唆するものである。これらのゼブラフィッシュに特徴的な珍しい糖鎖構造の検出は、特定の種あるいはその近縁種に特異的な糖鎖末端構造の生合成について理解するための重要な情報となると考えられる。また生物界におけるもう一つのデオキシ糖としての6dAltのより広い分布の可能性を示唆するものである。脊椎動物に保存された*O*結合型糖鎖構造である、単純なsialyl core 1構造が、発生の早い時期には少なく、咽頭胚期に大きく増加するという結果も得られた。この結果も脊椎動物の胚発生のファイロティピックステージにおける糖鎖の役割を知る上で重要な知見となると考えられる。このように本研究では、ゼブラフィッシュ胚において合成される*N*および*O*結合型糖鎖に関して、これまでに報告されていない多くの情報を得ることができた。これらの知見は今後、脊椎動物の胚発生を含めた糖鎖の役割を明らかにしていくために有用なものであると考えられる。

#### 審査結果の要旨

本研究は、脊椎動物の形態形成を研究するためのモデル動物であるゼブラフィッシュの胚発生における糖タンパク質糖鎖の構造動態を解析したものであり、多くの新しい知見を獲得することに成功している。本論文で示された脊椎動物の発生時期特異的な糖鎖の構造動態は、当該分野に対して大きな貢献をもたらすものであり高く評価される。また、本論文に記載されている内容の一部は、国際誌である *Glycobiology* (2017年)に申請者本人を筆頭著者とした査読付き論文として掲載された。よって、本論文は、博士(理学)の学位論文として十分であると認定した。