

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 (要約)

新潟大学大学院自然科学研究科 生命・食料科学専攻

氏名 半澤 健

ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*)は、比較的安価な脊椎動物のモデルとして利用されており、糖鎖の生合成関連遺伝子の機能解析を目指した研究にも用いられている。しかし、ゼブラフィッシュ胚において実際に産生される糖鎖の構造に関する報告はあまり多くない。

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、Asn残基に結合したN-結合型糖鎖およびSer/Thr残基に結合した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 (HPLC)および質量分析に基づいた手法による解析を行った。

初めに、胚のN-結合型糖鎖の解析を行った。結果として、真核生物に保存された構造である、oligomannose-typeが多量に含まれることに加えて、哺乳類を含む他の脊椎動物において見られるものと同一のtype-II LacNAc (Gal β 1-4GlcNAc)とsialyl LacNAcを有するcomplex-/hybrid-typeの糖鎖が高い存在比を示すことが明らかになった。Complex-/hybrid-type糖鎖は発生ステージに依存した構造と量の変化を示した。初期のステージ、原腸胚から初期体節期の胚ではcomplex-/hybrid-typeは微量な存在でありかつ α 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および/または α 2,6-sialyl LacNAcアンテナを持つ糖鎖は劇的に増加し、また、 α 2,3-sialyl LacNAc, core α 1,6-Fucおよびbisecting GlcNAc構造は緩やかな増加傾向を示した。クラス-I α -マンノシダーゼ阻害剤の胚への注入によりcomplex-/hybrid-typeの生合成を抑制すると胚の中期体節期以降に顕著な形態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complex-/hybrid-type糖鎖が脊椎動物間で特に保存性の高い胚発生中期 (phylotypic stage)において重要であることを示唆するものである。さらに、胚の一部のcomplex-typeの末端にフコシダーゼ耐性を備えたdHex残基を含む未知の伸長構造が発見された。

次に、この未知構造について焦点を当て、N-およびO-結合型糖鎖の解析をさらに進めた。結果として、そのdHexは動物において一般的なFucではなく、生物における報告例の少ない6-deoxyaltrose (6dAlt)であることが示された。また、胚の6dAlt修飾の土台となるのは主にGalNAc α 1-3HexNAc β -GalというForssman抗原の抗原決定部位と同一あるいは類似した構造であることが示唆された。6dAltを持つ糖鎖を含めた、胚の一部のcomplex-type N-結合型糖鎖は糖タンパク質ではなく、遊離型グリコシル-Asnとして、遊離型糖鎖に準じた形態をとることも明らかになった。また、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をもつ糖鎖は、胚の培地中に含まれる主要な遊離型糖鎖としても検出され、6dAltを持つ糖鎖を体外に放出する経路の存在が示唆された。これらのゼブラフィッシュに特徴的な糖鎖構造の検出は、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、6dAltのより広い分布の可能性を示唆するものである。

また、脊椎動物に保存された、単純なsialyl Core 1 (Sia α 2-3/Sulfate-3Gal β 1-3(Sia α 2-6)GalNAc) O-結合型糖鎖が、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ことが明らかになった。この結果も、脊椎動物の胚発生のphylotypic stage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、脊椎動物の胚発生過程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。