

【目的】糖鎖は細胞表面を被覆するように大量に存在し、糖鎖-糖鎖相互作用や糖鎖-糖鎖認識タンパク質(レクチン)相互作用、ラフト形成などを介して、複雑な生体分子社会を形成する。この糖鎖を介した細胞表層ネットワークは、種々の膜タンパク質の動態・活性に影響を与える。一方で、糖鎖は構造多様性と不均一性に富み、その分子レベルでの解析は困難で、多くの場合、糖鎖の存在を無視して細胞膜上の現象の議論が進められ、糖鎖による膜タンパク質の機能調節の分子基盤はほとんど未解明である。本研究で対象とする *N*-結合型糖鎖 (*N*-グリカン) はタンパク質のアスパラギン残基に結合する翻訳後修飾糖鎖で、多様な構造を持ち、その構造に基づき、タンパク質の機能を調節する。中でも、コアフコース、バイセクティンググルコサミン、ポリラクトサミン、末端ガラクトース、末端シアル酸などは、膜タンパク質の活性制御に重要であることが、生成酵素のノックアウト実験により証明されている。これは、*N*-グリカンが、レクチンをはじめとする種々の分子と相互作用し、膜タンパク質の局在や運動性などの動態を調整して、タンパク質の機能を制御するためであると考えられるが、その詳細は明らかになっていない。本研究では、化学合成により、*N*-グリカンライブラリを構築し、これを用いて、各々の糖鎖が細胞表面で形成する相互作用ネットワークを解析し、糖鎖による膜タンパク質の機能制御の分子基盤を解明することを目的とする。

【方法】 コアフコース、バイセクティンググルコサミン、ポリラクトサミン、末端シアル酸などの構造を含む *N*-グリカン化学合成した。合成した糖鎖でタンパク質を修飾し、それぞれの糖鎖がレクチンをはじめとするさまざまな生体分子と相互作用して、その動態をイメージングにより調べた。加えて、その動態変化がタンパク質の活性に及ぼす影響についても考察した。なお、ここでは、細胞表層における、細胞外の糖鎖修飾タンパク質との相互作用 (cis 相互作用) と同一細胞上での相互作用 (trans 相互作用) についてそれぞれ調べた。

【結果】 *N*-グリカンの効率的合成にあたり、グリコシル化をはじめとした一つ一つの素反応の効率化が必須であると考え、マイクロフロー反応を中心に効率的糖鎖合成の基盤を築いた。その結果、2~4 糖程度の *N*-グリカンの合成中間体は 10 g 以上のスケールで合成可能となった。これを基盤として、複数の *N*-グリカンの合成を達成した。その際、合成戦略や保護基パターンを精査し、さらには酵素合成も組み合わせることで、世界的に見ても有数の *N*-グリカンライブラリの構築に成功した。さらに合成糖鎖でタンパク質を修飾し、糖鎖-レクチン相互作用が細胞表層におけるタンパク質の動態を制御することを示した。例えば、抗体を、ガラクトースを持つ *N*-グリカンで修飾することで、その内在化を抑えることができた。また、膜タンパク質の動態に糖鎖が及ぼす影響を調べるために、HaloTag を用いて合成糖鎖を再産生層に提示するシステムを構築した。本系においても、糖鎖-レクチン相互作用が膜タンパク質の動態に影響を及ぼすことを明確に示した。

N-グリカンの効率合成と合成 *N*-グリカンを用いた細胞表層糖鎖ネットワークの解析

