The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Structural Analysis of Sugar Chains by Partial Acid Hydrolysis Combined with Two-Dimensional Sugar Mapping
Author(s)	牧野, 泰士
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41547
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【41】

氏　　名	牧　野　泰　士（まき の やす し）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学　位　記　番　号	第　14395　号
学位授与年月日	平成11年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科化学専攻
学　位　論　文　名	Structural Analysis of Sugar Chains by Partial Acid Hydrolysis Combined with Two-Dimensional Sugar Mapping （部分酸加水分解と二次元糖鎖マッピングを組み合わせた糖鎖構造解析）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　長谷　純宏 （副査） 教　授　楠本　正一　　教　授　相本　三郎

論　文　内　容　の　要　旨

糖蛋白質の安定化や機能発現にその糖鎖部分が関与していることが明らかになりつつあり，糖鎖部分が広く注目されるようになった。これに伴い，糖蛋白質糖鎖の構造解析はさらなる微量化と簡便化が要求されている。糖鎖の構造解析を高感度に行う際，還元末端を2-アミノピリジンによって蛍光標識後，二次元糖鎖マップ- 酵素消化法が主として用いられている。酵素消化は有用な手法であるが，しばしば酵素の入手が困難な場合があったり，基質特異性のために必ずしも糖残基を遊離するわけではないといった問題も存在する。このため，部分酸加水分解と二次元糖鎖マッピングを組み合わせることによって，より普遍的で自動化にも適した構造解析法の開発を行った。

ピリジルアミノ化（PA-）糖鎖を部分酸加水分解し，得られた水解物をサイズ分画HPLCにかけ，蛍光標識された還元末端を含むオリゴ糖をサイズ毎に分離した。次に各画分を構造を強く反映して分離できる逆相HPLCで分離し，標準PA- 糖鎖の溶出位置と合わせることにより各フラグメントの構造を解析した。単糖画分からオリゴ糖画分へと1画分ずつ解析することによって糖鎖構造を還元末端から1残基ずつ明らかにすることができた。なお，1残基分大きい画分の解析作業はそれまでに行った画分の解析結果の確認作業をも含んでいるため，解析結果を統合して最終的に得た糖鎖構造は精度が高いものである。この手法は，酵素消化の代わりに酸加水分解を用いているため簡便で再現性が良く，還元末端側からの構造解析が可能である等の特徴がある。

この手法を2つの例に応用した。

1．本手法をパパイヤ（*Carica papaya*）の葉やラテックス中の*N*-配糖体糖鎖の構造解析に用いた。従来，β- キシロシダーゼが市販されていないことがキシロマンノース型糖鎖の構造解析を困難にしていたが，部分酸加水分解を用いることによって簡便に構造を解析することができた。

また，得られた糖鎖構造を基にしてパパイヤの*N*-配糖体糖鎖のプロセッシング経路を考察した。その結果，パパイヤではα- マンノシダーゼIIの活性が欠損していることが示唆された。同様のことが*Nicotiana alata*においても予想されており，植物に新たなプロセッシング経路が存在することが考えられる。

2．ヒト血液凝固IX因子の*N*-配糖体糖鎖の構造解析にも本手法は有効であった。ヒト血液凝固IX因子の*N*-配糖体糖鎖の構造解析を行ったところ，その一部(15mol%）が不明な酸性残基を有していた。これらの糖鎖をエクソグリコシダーゼ消化しても不明な酸性残基は分子内に残るため，酵素消化物の構造を二次元糖鎖マップ上で解析することはできなかった。そこで本手法を用いて還元末端側から構造解析することによって，これらの糖鎖がコンプレックス

型の構造を含んでいることを明らかにすることができた。

論文審査の結果の要旨

牧野泰士君は，糖蛋白質糖鎖の簡便かつ高感度な構造解析法を確立した。この方法を用いてパパイヤの糖蛋白質の糖鎖構造を解析し，それらの構造からこの植物ではゴルジα－マンノシダーゼⅡが働いていないことを明らかにし，またヒト血液凝固Ⅸ因子中に存在する新奇糖鎖の構造解析を行った。よって，本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。