



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                     |                                                                                                                                                                       |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | Significance of the Posttranslational O-glycosylations in the Protein Conformation and Function<br>[an abstract of dissertation and a summary of dissertation review] |
| Author(s)           | 早川, 瞬                                                                                                                                                                 |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                                                                                 |
| Degree Name         | 博士(生命科学)                                                                                                                                                              |
| Dissertation Number | 甲第12268号                                                                                                                                                              |
| Issue Date          | 2016-03-24                                                                                                                                                            |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/61779">https://hdl.handle.net/2115/61779</a>                                                                                     |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/</a>                                             |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                                                                       |
| File Information    | Shun_Hayakawa_review.pdf, 審査の要旨                                                                                                                                       |



## 学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（生命科学）

氏 名 早川 瞬

|       |     |     |        |
|-------|-----|-----|--------|
| 審査担当者 | 主 査 | 教 授 | 西村 紳一郎 |
|       | 副 査 | 教 授 | 出村 誠   |
|       | 副 査 | 教 授 | 門出 健次  |
|       | 副 査 | 准教授 | 比能 洋   |

## 学 位 論 文 題 名

### Significance of the Posttranslational *O*-glycosylations in the Protein Conformation and Function

（タンパク質立体構造および機能に関する *O*-結合型糖鎖修飾の意義）

#### 博士学位論文審査等の結果について（報告）

タンパク質翻訳後修飾である糖鎖修飾は、ガンを代表する様々な疾病の診断、治療マーカーとして注目されているため、近年盛んに研究が行われている。糖鎖の構造多様性は様々な生命現象に関わっている一方、均一糖鎖構造の調製が難しく、糖鎖機能の定量解析への障害となっている。

本学位論文は、このような現状にある糖鎖生物学について、有機化学的手法により均一構造を有する糖ペプチドを調整し、NMR 立体構造解析および機能解析を行うことで、糖鎖修飾の意義を解明することを目的とし、糖ペプチドの機能解明および、治療薬への応用研究を促進することが期待されるものである。

第 2 章では、種々のガン細胞マーカーとして注目されるムチン型糖ペプチドを有機化学的に合成し、NMR を用いて 2 つ連続した Thr 残基への *O*-GalNAc 修飾がペプチド鎖の伸長構造を誘起することを見出した。著者は、NMR 構造を精査することで、糖鎖とペプチド鎖間での水素結合や疎水性相互作用を検出し、連続した *O*-GalNAc 修飾が誘起する特異的ペプチドコンフォメーションを発見した。合成 MUC2 糖ペプチドへの化学修飾によりマイクロアレイ解析を行い、大腸癌のステージ特異的な自己抗体の血中濃度変化を発見した。本研究はムチン糖ペプチドにみられる典型的な構造モチーフを発見しただけではなく、本モチーフが自己抗体のエピトープ構造となる可能性を示したものである。さらに、本知見はガンワクチンのデザインやガンの診断薬としての応用が期待されるものである。

第 3 章では、細胞の運命決定や様々なガンに関与する Notch シグナルに着目し、Notch

糖タンパク質の EGF12 ドメインの効率的合成法を確立し、NMR やガン細胞アッセイによる糖ペプチドの立体構造および機能解析を達成した。ヒト Notch1 EGF12 糖ペプチドは、38 アミノ酸残基、3 つのジスルフィド結合、稀な O-フコースや O-グルコース型糖鎖構造といった複雑な構造が化学合成および応用研究の障壁となっていたが、著者は新規糖アミノ酸の合成およびカルシウムイオンを用いた新規 EGF 糖ペプチドフォールディング手法の開発により、Notch EGF 糖ペプチド合成の標準プロトコルを確立した。著者は、本手法を用いて目的 EGF12 糖ペプチドを迅速かつ高収率で化学合成することに成功し、他の EGF ドメイン合成にも応用可能であることを示唆した。Notch シグナルには、EGF12 ドメインだけではなく様々な EGF ドメインが関与していることが示唆されていることから、本合成手法の確立は Notch シグナルの機能解明を促進させるものと期待される。

また、著者は合成 EGF12 糖ペプチドを用いて NMR 構造解析を行い、カルシウムイオンや、O-フコースおよび O-グルコース型糖鎖がペプチド鎖と相互作用することで、ペプチド鎖の立体構造を安定化するという新知見を発見した。この安定化作用は、Notch シグナルにおけるリガンド-レセプター結合に大きく貢献するものと考えられる。著者は、さらに合成 EGF12 糖ペプチドをガン細胞に添加することで、ガン細胞中で Notch シグナルを阻害し、ガン細胞の細胞増殖を抑制することに成功した。本実験結果は、合成 EGF12 糖ペプチドをガン細胞に添加した初めての例であり、ガン細胞における Notch シグナルの役割を解明する手掛かりとなるだけではなく、EGF 糖ペプチドを用いた抗ガン剤開発の可能性を示す重要な知見である。

これを要するに、著者は、糖ペプチドの効率的合成手法を開発し、合成糖ペプチドを用いた NMR 立体構造解析および機能解析により、糖鎖修飾のタンパク質立体構造および機能に関する意義を明確にした。これらの結果は、糖ペプチドを用いたガン細胞研究への応用に対して大きく貢献するものと考えられる。

よって著者は、北海道大学博士（生命科学）の学位を授与される資格あるものと認める。