

糖鎖の基礎知識

弘前大学 医学部 泌尿器科

畠山真吾

糖鎖とは

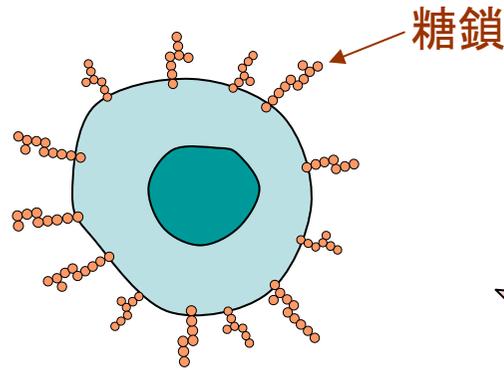
- グルコース、ガラクトース、マンノース、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミン、フコース、キシロース、シアル酸などの糖が複雑に連なって糖鎖を形成する。
- 細胞表面の糖鎖は、他の細胞（白血球、癌細胞など）、細菌、ウイルス、毒素などが、細胞に接着する際の結合する部位（リガンド）となる。細菌は、宿主の糖鎖と結合するためのレクチンを持つ。
- 糖鎖は、蛋白や脂質と結合して、糖蛋白質や糖脂質となり、安定化させ、水分含ませ組織を保護したり、細胞表面に発現して細胞間の情報伝達に重要な役割を果たす。そのほとんどの機能は解明されておらず、糖鎖は無限の可能性を秘めている。
- 蛋白質や脂質に糖鎖が結合したものは、複合糖質と呼ばれる。複合糖質には、糖蛋白質、糖脂質、プロテオグリカンに分類される。

糖鎖の機能と役割

糖鎖はタンパク質や脂肪に結合し、細胞表面に存在している

細胞の種類を識別

- 血液型は表面の糖鎖構造の違いによってABOに分けられている
- 細胞が癌化すると糖鎖構造に違いが出る



構成する糖鎖が1つ違うだけで細胞の性質に大きな違いが出たりする

感染の入り口

- 細菌やウイルスは細胞表面の特定の糖鎖を認識して体内に出入りする
- 増殖したインフルエンザウイルスが細胞外へ出るときシアリダーゼ(酵素)で糖鎖を切って出るが、インフルエンザ薬は、その酵素を阻害し効果を発揮する

タンパク質の品質管理

- 古くなったり、傷ついた細胞の糖鎖を認識して、分解、新陳代謝の指標となる

タンパク質の保護

- 細胞表面を覆い、分解や熱からタンパク質や細胞を守る

薬への応用

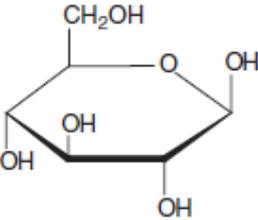
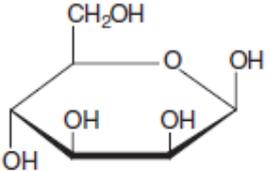
- 糖鎖により薬の活性がコントロールされている
- 例: エリスロポエチン(貧血治療薬)は糖鎖が付かないと効果がない

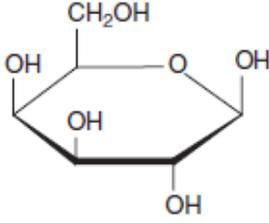
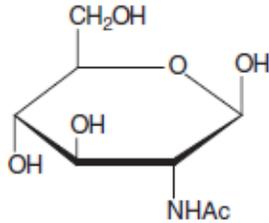
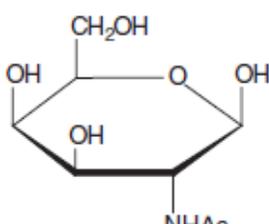
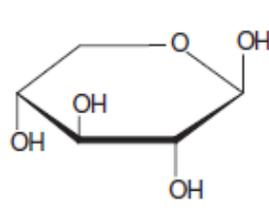
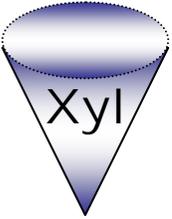
薬を生体内に運ぶ

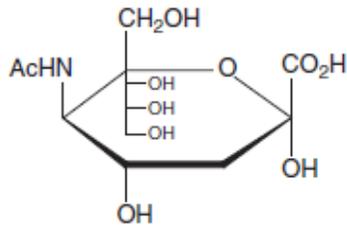
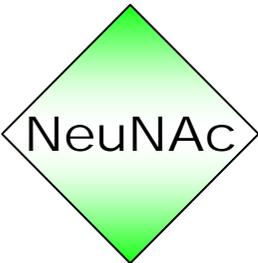
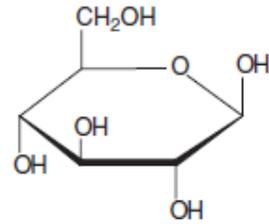
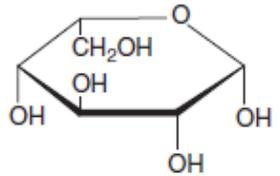
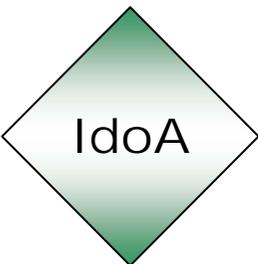
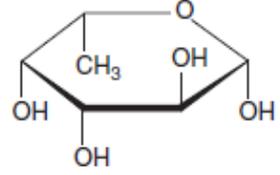
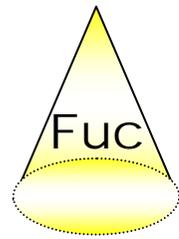
- 糖鎖の特異的な反応を利用して、目的の臓器に適切に薬を運搬できる技術に応用できる

糖の種類：単糖類

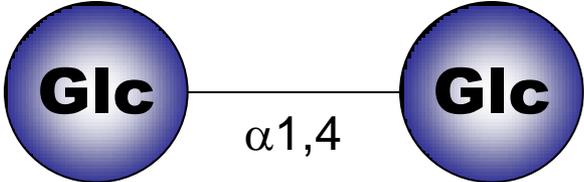
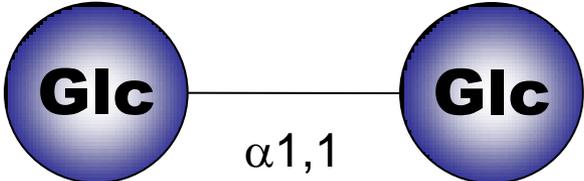
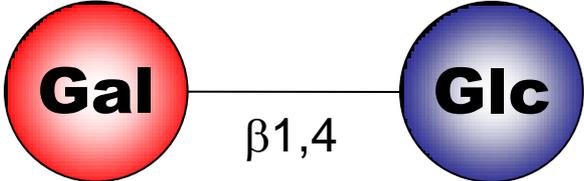
- 単糖とはこれ以上加水分解されない最小単位の糖を言う。
- これらが組み合わさって複雑な構造(糖鎖)を作り出す。
- この複雑さが生体反応の巧妙な複雑さを担っているともいえる。
- これらにはL体とD体があり糖構造をさらに複雑にしている。

<p>グルコース β-D-Glucose</p>	 <p>The diagram shows the Haworth projection of beta-D-glucopyranose. The hydroxyl group on the anomeric carbon (C1) is in the alpha position (pointing down).</p>	 <p>A blue circular icon with the text "Glc" in white.</p>
<p>マンノース β-D-Mannose</p>	 <p>The diagram shows the Haworth projection of beta-D-mannopyranose. The hydroxyl group on the anomeric carbon (C1) is in the alpha position (pointing down). The hydroxyl group on the C2 carbon is in the alpha position (pointing down).</p>	 <p>A green circular icon with the text "Man" in white.</p>

<p>ガラクトース β-D-Galactose</p>		
<p>NアセチルDグルコサミン β-D-N-Acetylglucosamine</p>		
<p>NアセチルDガラクトサミン β-D-N-Acetylgalactosamine</p>		
<p>キシロース β-D-Xylose</p>		

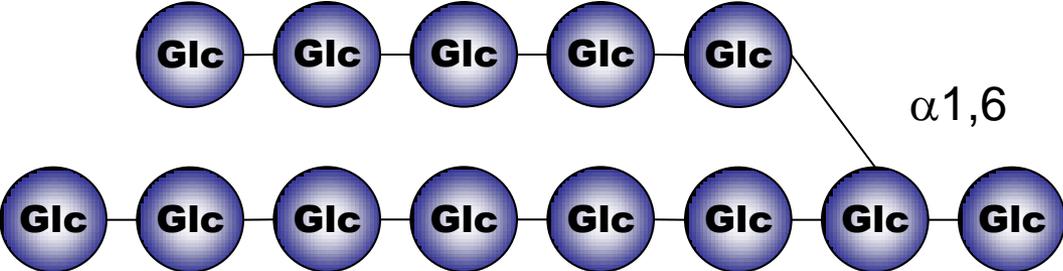
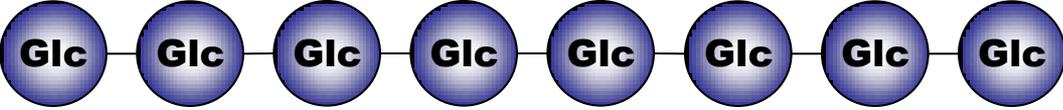
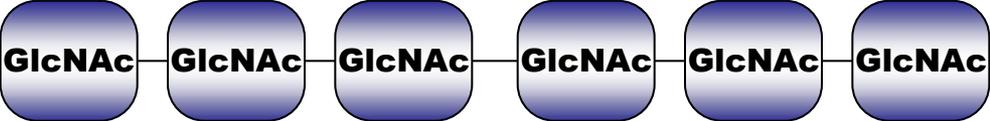
<p>シアル酸 α-N-Acetylneuraminic acid Sialic Acid (NeuNAc)</p>		
<p>グルクロン酸 β-D-Glucuronic acid</p>		
<p>イズロン酸 α-L-Iduronic acid</p>		
<p>フコース α-L-Fucose</p>		

2糖類

<p>マルトース(麦芽糖) α-D-Glc x2</p>	
<p>トレハロース α-D-Glc x2</p>	
<p>ラクトース(乳糖) β-D-Gal + β-D-Glc</p>	

多糖類 (ポリサッカライド)

- アミロース (でんぷん)、グリコーゲン は α 1-4 結合と 8 残基ごとに α 1-6 結合の分枝がある。セルロース は β 1-4 結合の構造のみ。
- エビ・カニ などのキチン 質は N アセチル D グルコサミン のホモ・ポリマー

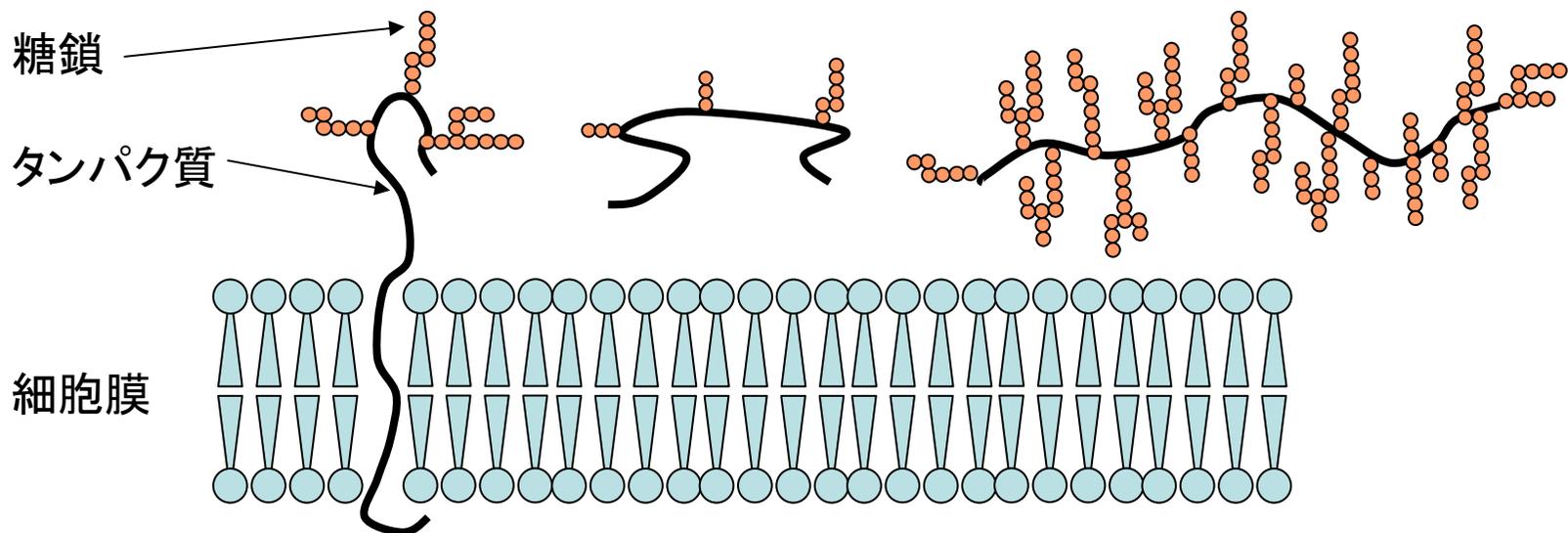
アミロース グリコーゲン	<p>すべて α1,4</p>  <p>α1,6</p> <p>すべて α1,4</p> <p>Detailed description: The diagram shows two horizontal chains of blue circles representing glucose units (Glc). The top chain consists of five units connected by horizontal lines. The bottom chain consists of eight units connected by horizontal lines. A diagonal line connects the rightmost unit of the top chain to the seventh unit of the bottom chain, representing an α1,6 glycosidic bond. Labels 'すべて α1,4' are placed above the top chain and below the bottom chain. The label 'α1,6' is placed to the right of the branching point.</p>
セルロース	 <p>すべて β1,4</p> <p>Detailed description: The diagram shows a single horizontal chain of eight blue circles representing glucose units (Glc) connected by horizontal lines. The label 'すべて β1,4' is placed below the chain.</p>
キチン	 <p>すべて β1,4</p> <p>Detailed description: The diagram shows a single horizontal chain of six blue rounded rectangles representing N-acetylglucosamine units (GlcNAc) connected by horizontal lines. The label 'すべて β1,4' is placed below the chain.</p>

複合糖質

- 生体内の糖鎖の多くはタンパク質や脂質と結合した複合分子として存在する
- 大きく3つに分類される
 1. 糖タンパク質
 2. プロテオグリカン
 3. 糖脂質

糖タンパク質

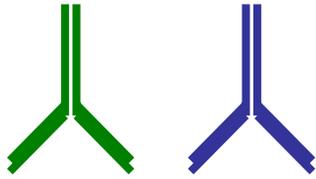
- タンパク質に比較的短い糖鎖がついたものを糖タンパク質という。鎖の数は数本から十本までさまざま。
- 多くのタンパク質は糖鎖を付加されその特異的な性質を発揮する。細胞外に分泌されるタンパク質や細胞膜上にあるタンパク質は、そのほとんどが糖タンパク質である。
- 糖タンパク質の糖成分は、タンパク質選別、免疫・受容体認識、炎症、病原性、癌転移などの細胞内プロセスにおいて極めて重要な生物学的機能を果たす。



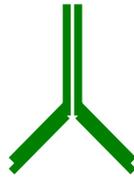
血液型と糖鎖の違い

血清

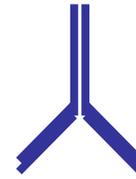
抗A & 抗B抗体



抗B抗体



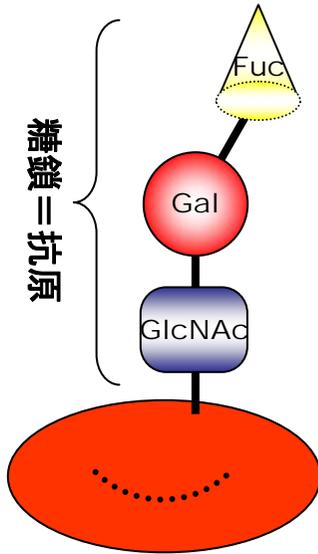
抗A抗体



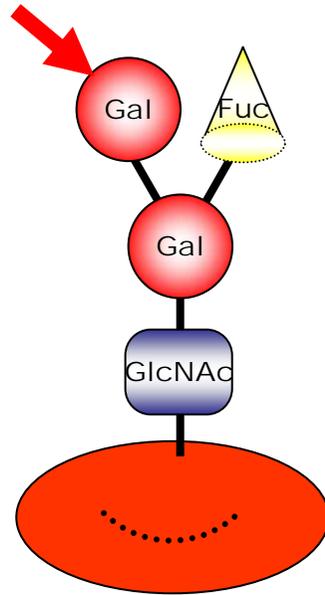
抗体なし

血球

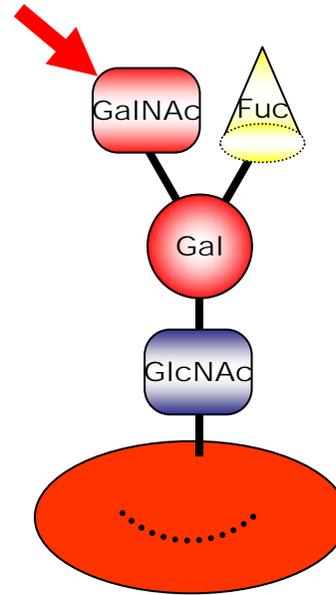
糖鎖=抗原



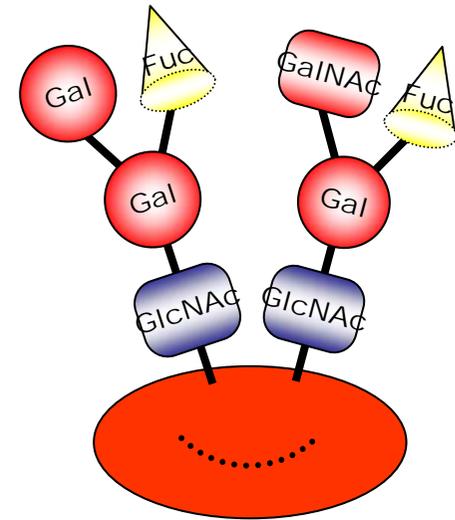
O型



A型



B型

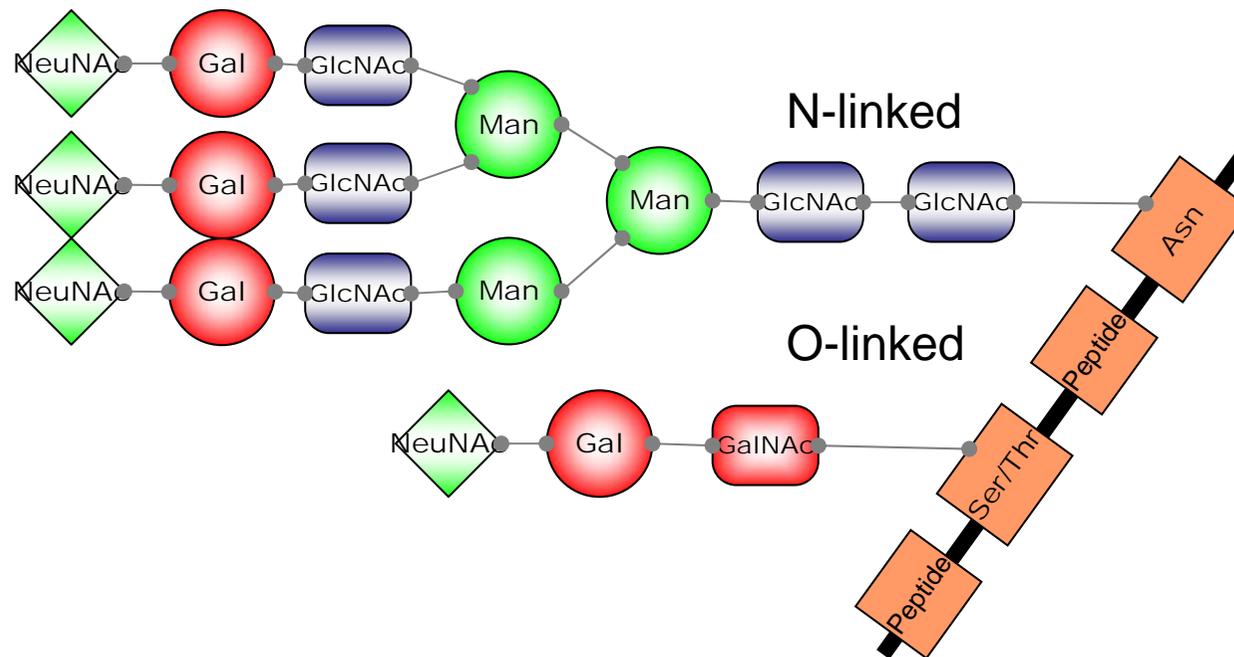


AB型

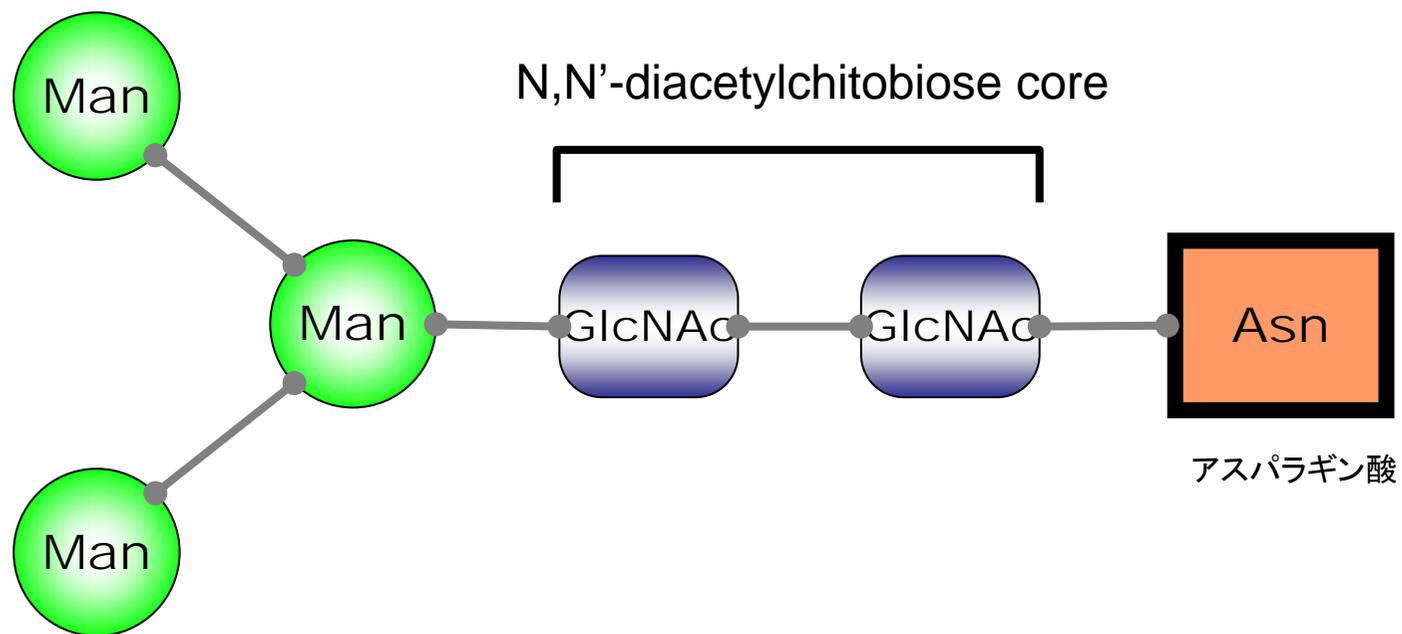
N-結合型とO-結合型

- 糖鎖には、O型糖鎖（セリン・スレオニン結合型糖鎖）と、N型糖鎖（アスパラギン結合型糖鎖）とが、存在する。
- O型糖鎖は、アミノ酸のセリンやスレオニンに結合していて、比較的構造は単純。N型糖鎖は、アスパラギン残基に結合していて、複雑な構造をとる。シグナル伝達の役割を果たしていると考えられている。

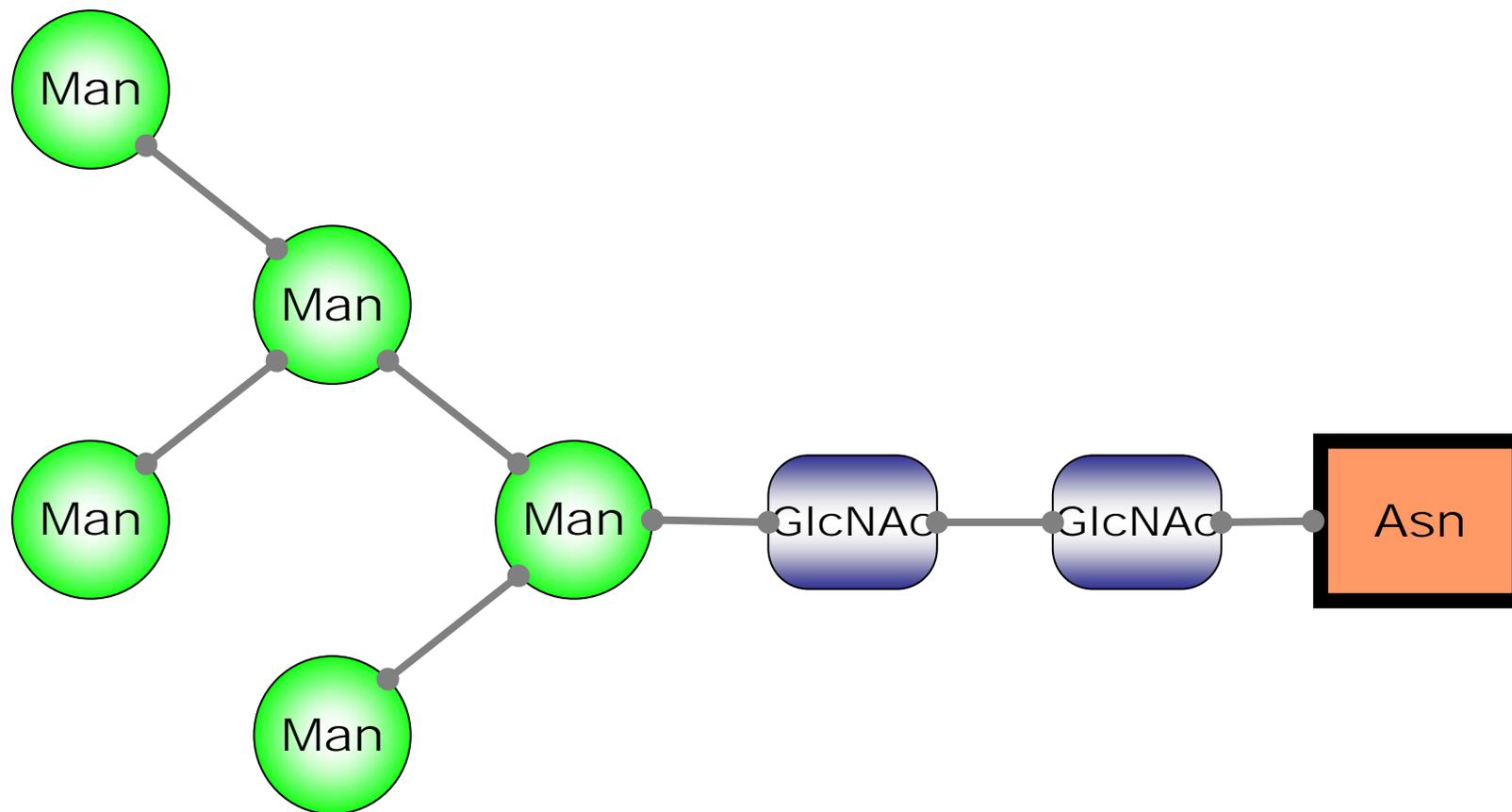
- N-結合型はタンパク質のアスパラギン残基 (Asn) の側鎖アミノ酸の窒素原子 (N) に結合する。Asn ならどれでも良いわけではなく、Asn-(任意アミノ酸)-Ser/Thr という配列に限られ、すべての Asn に糖鎖がついているわけでもない。最初の糖鎖は GlcNAc が多い。基本構造を元に、3つのサブグループに分けられる。
- O-結合型はタンパク質のセリン or スレオニンの水酸基と O-グリコシド結合する。最初の糖鎖は GalNAc が多い。N-結合型より自由度が高く6つのコア構造に分けられる。



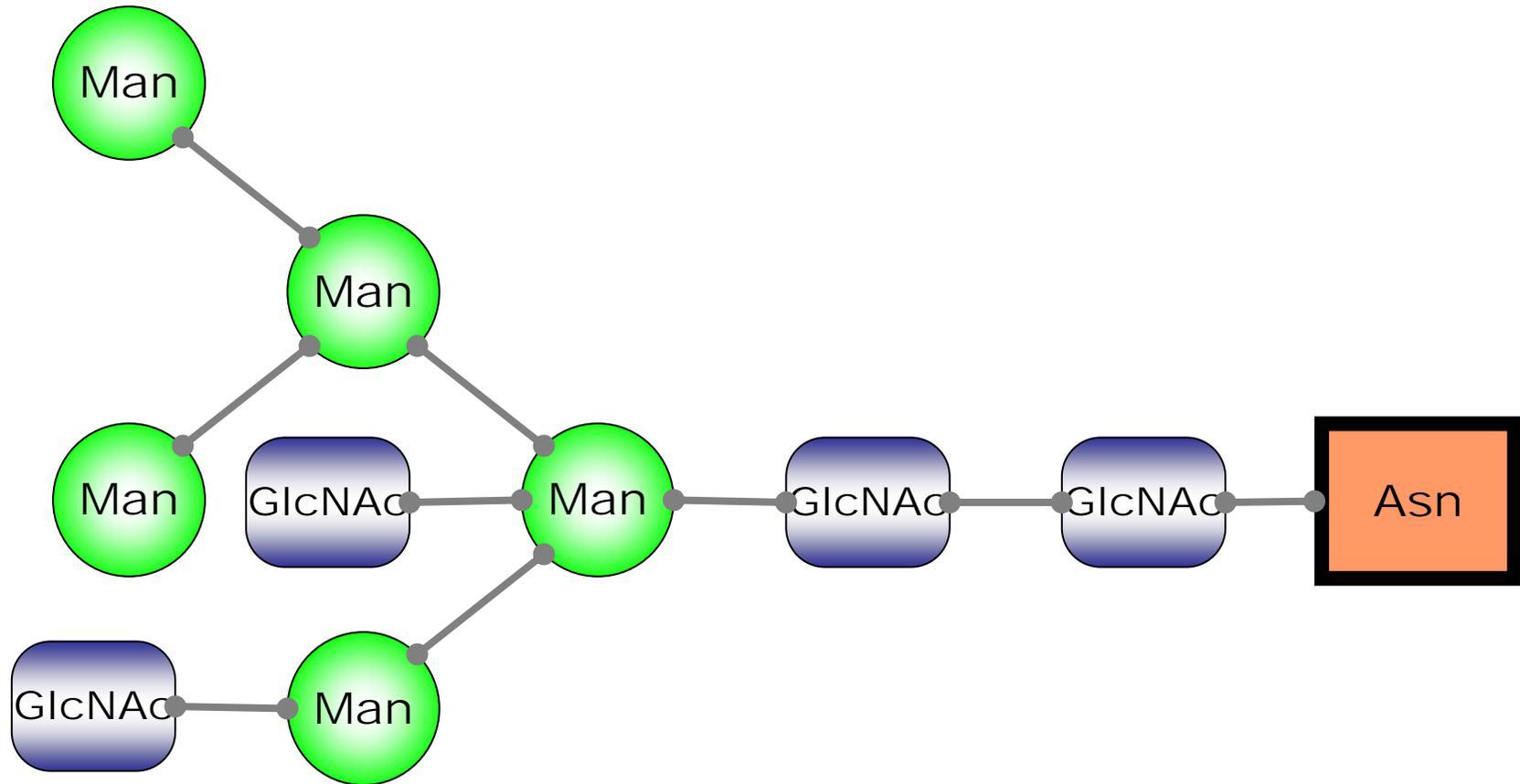
N-結合型：基本型



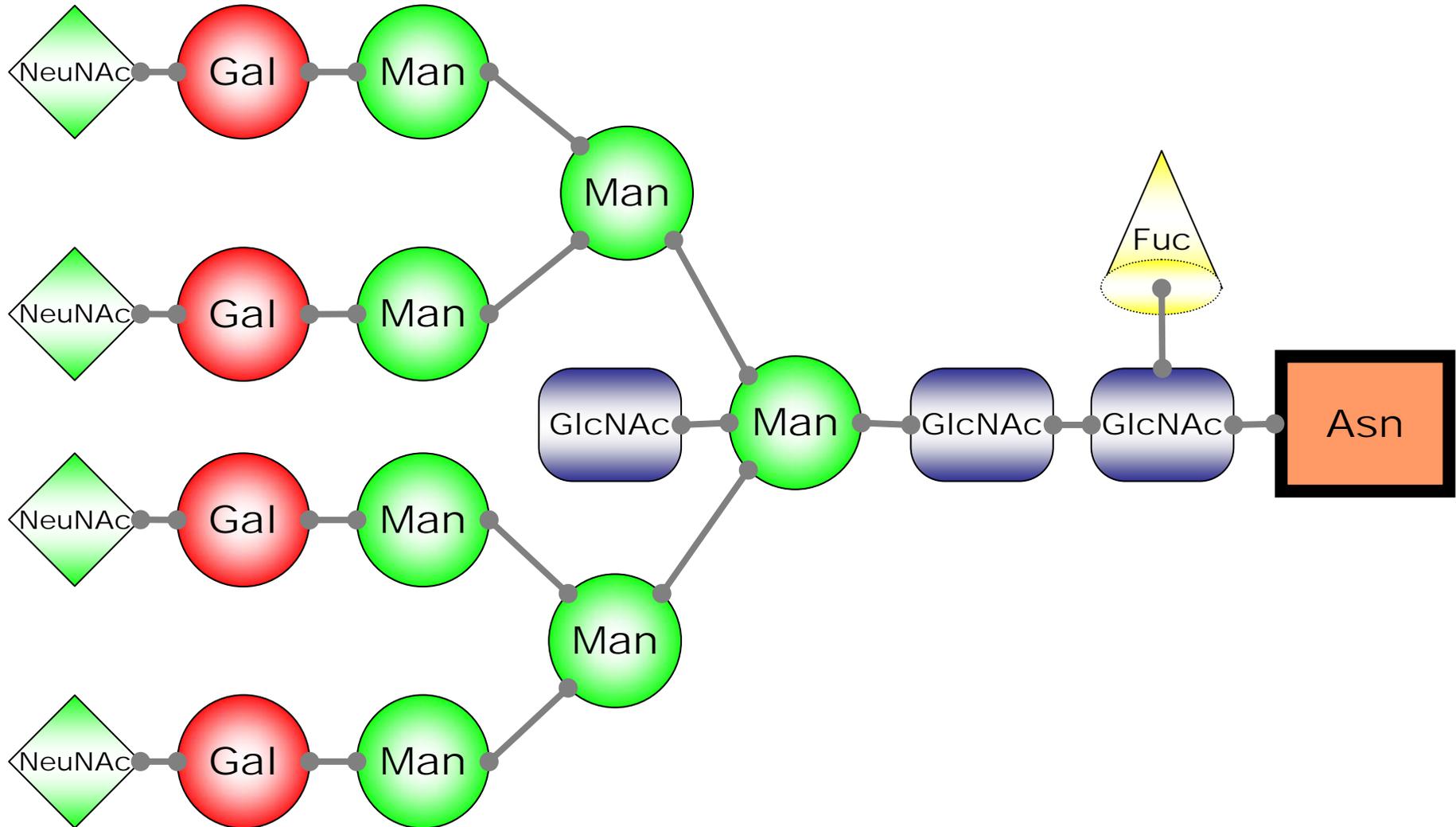
N-結合型：高マンノース型



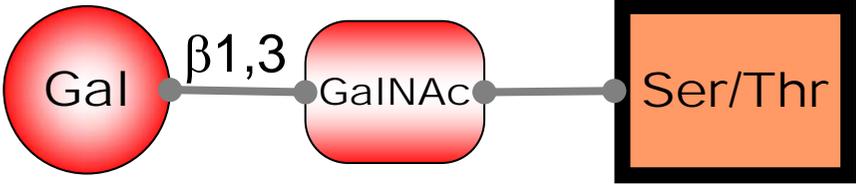
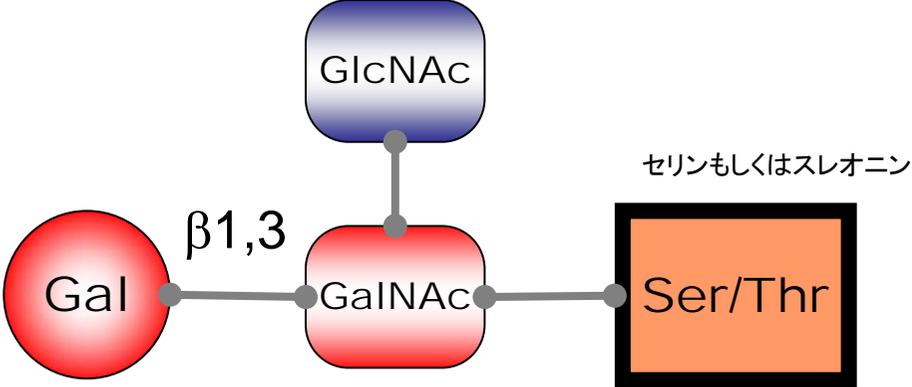
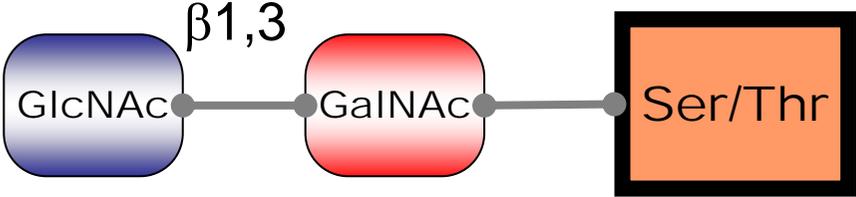
N-結句型:ハイブリッド型



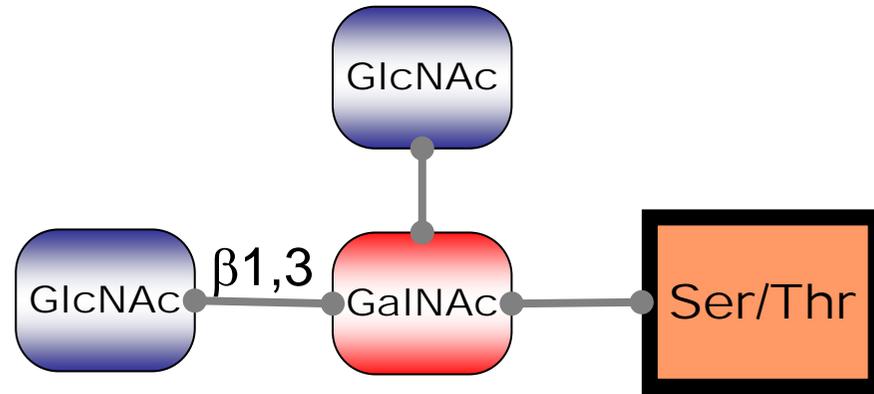
N-結合型：複合型



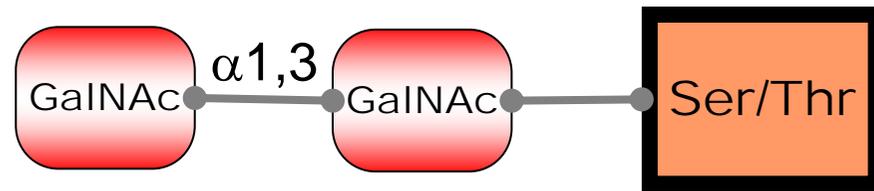
O-結合型糖鎖

Core1	 <p>Gal β1,3 GaINAc Ser/Thr</p>
Core2	 <p>Gal β1,3 GaINAc GlcNAc Ser/Thr セリンもしくはスレオニン</p>
Core3	 <p>GlcNAc β1,3 GaINAc Ser/Thr</p>

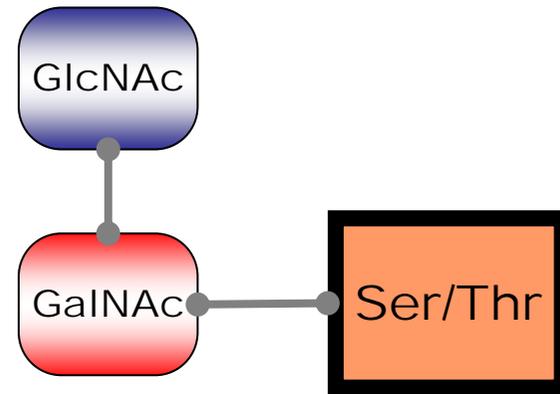
Core4



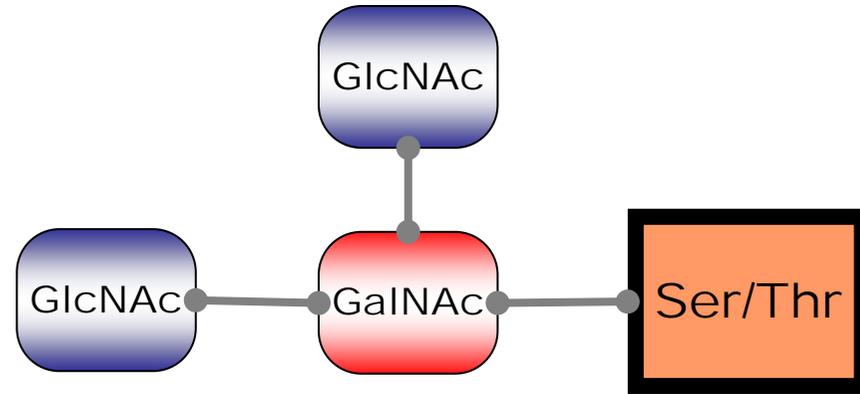
Core5



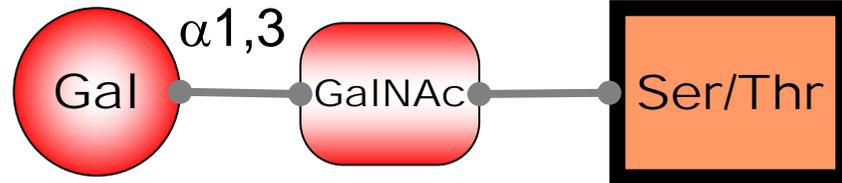
Core6



Core7

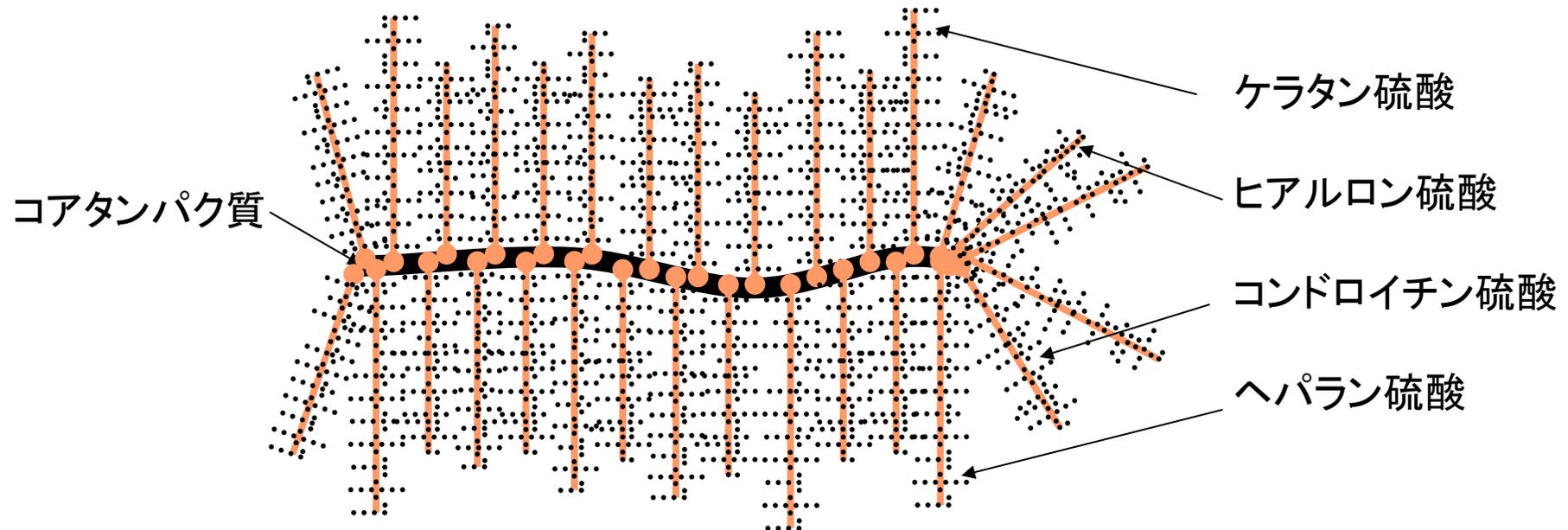


Core8



プロテオグリカン

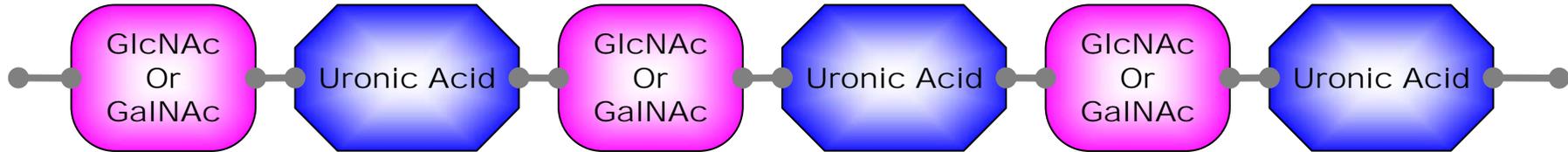
- 保水性の高い長い糖鎖をグリコサミノグリカンといい、グリコサミノグリカンがコアタンパク質に結合した複合体をプロテオグリカンいう。
- グリコサミノグリカンはヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヘパラン硫酸、ケラタン硫酸などに大別される。
- 保水性・弾性が高く、皮膚や軟骨などの支持組織として線維性タンパク質の間を埋めている



プロテオグリカン ≠ 糖タンパク質？

- プロテオグリカンは糖鎖がコアタンパク質に結合したものであるため、広義では糖タンパク質の仲間だが、一般の糖タンパク質には見られない特徴を持つことから、プロテオグリカンの名で区別される。
- プロテオグリカンは通常のN-結合型糖鎖やO-結合型糖鎖よりもずっと長い(100~200)単糖残基からなる、グリコサミノグリカンと総称される糖鎖を持つ。
- 多数の硫酸基とカルボキシル基を持つため、強く負に帯電する。
- 糖鎖は二糖の繰り返し構造が基本構成となる。
- この二糖の構造の違いに基づいて、グリコサミノグリカンは、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヘパラン硫酸、そしてケラタン硫酸の4グループに分類される。

グリコサミノグリライカン



グリコサミノグリライカン	アミノ糖	ウロン酸 (Uronic Acid)	硫酸基
ヒアルロン酸	D-グルコサミン	D-グルクロン酸	なし
コンドロイチン硫酸	D-ガラクトサミン	D-グルクロン酸	O-硫酸
ケラタン硫酸	D-グルコサミン	D-ガラクトース	O-硫酸
ヘパラン硫酸	D-グルコサミン	L-イズロン酸 D-グルクロン酸	N-硫酸 O-硫酸
ヘパリン	D-グルコサミン	L-イズロン酸 D-グルクロン酸	N-硫酸 O-硫酸

プロテオグリライカンの糖鎖の部分をグリコサミノグリライカンという

ヘパリン

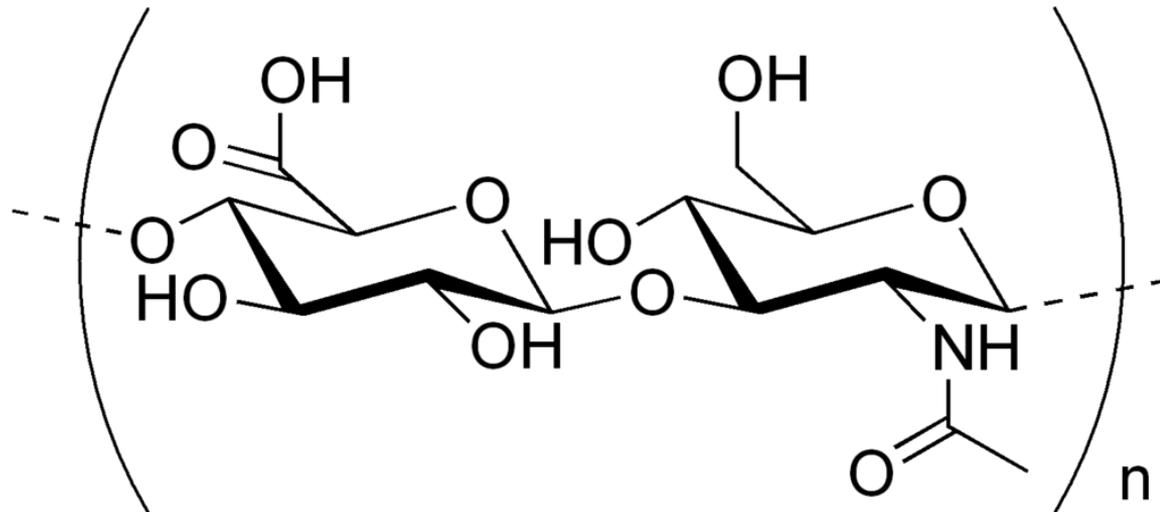
- ヘパリンはウロン酸とアミノグリコシドからなるグリコサミノグリカン。
- ヘパラン硫酸の一種だが、ヘパラン硫酸と比べて硫酸化の度合いが特に高いという特徴がある。
- 分子量～16kDaの未分画ヘパリンや、分子量4～8kDaの様々な部位で脱重合している低分子量ヘパリンは、ともに抗凝血剤として使用されている。

ヘパラン硫酸

- ヘパラン硫酸の組成、基本構造はヘパリンとほぼ同様だが、ヘパリンと比較してN-アセチル基が多く、N-硫酸およびO-硫酸含量が少ないのが特長。
- また、ヘパリンと異なり、抗凝血活性をほとんど示さない。

ヒアルロン酸(HA)

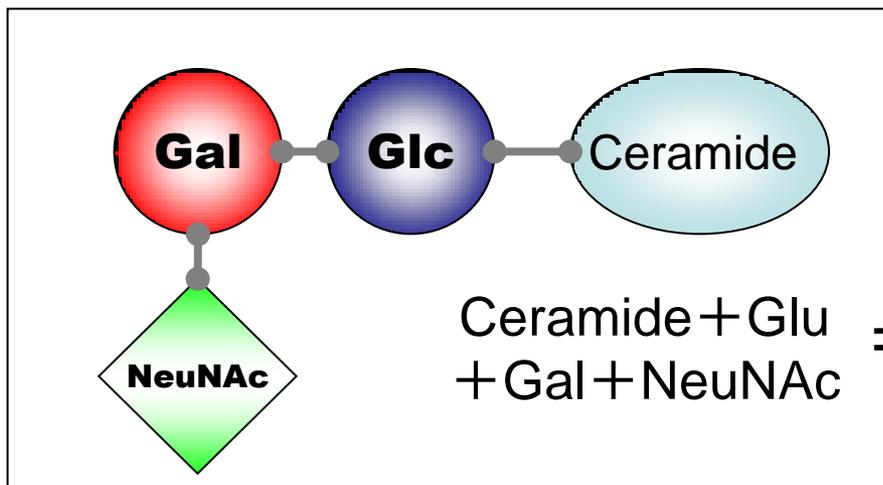
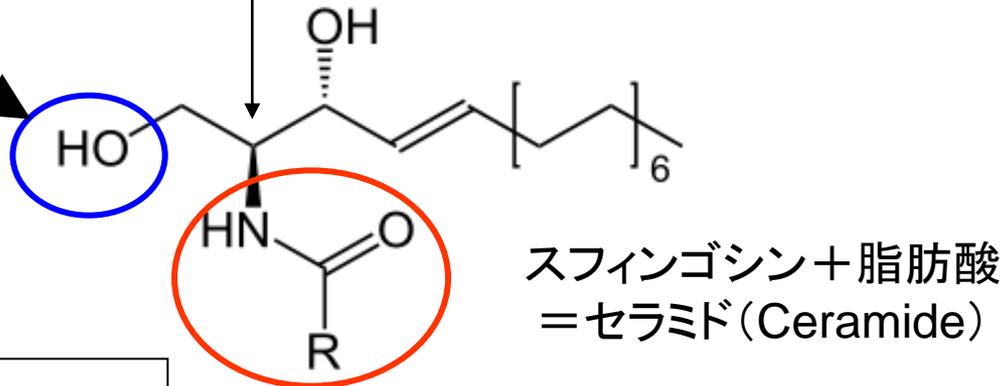
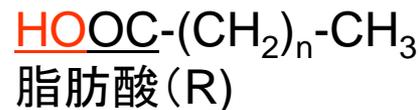
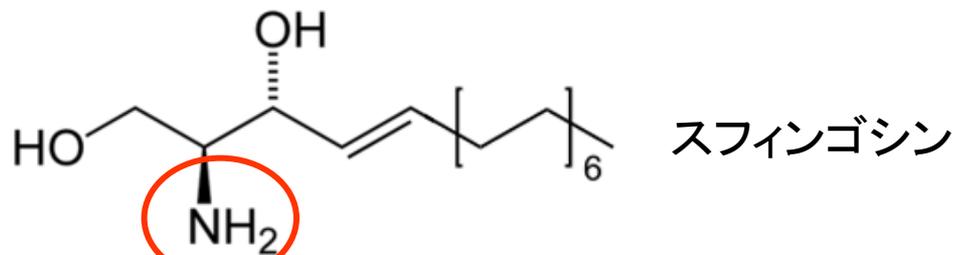
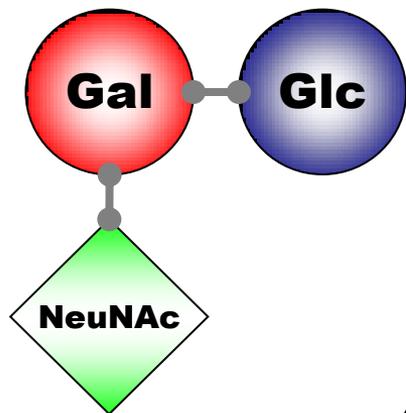
- ヒアルロン酸(HA)は、高分子量(1000~5000kDa)の陰イオン性多糖で、グルクロン酸アセチルグルコサミンの二糖の繰り返しで構成されています。



糖脂質＝スフィンゴ糖脂質

- 脂質は2種；グリセロ脂質とスフィンゴ脂質があり、主にスフィンゴ脂質に糖がついている
- セラミドのアルコール其に糖がついたものをスフィンゴ糖脂質という。
 - セラミドはスフィンゴシンと脂肪酸がアミド結合した化合物群の総称
 - スフィンゴシンは18個の炭素を持つ長鎖アミノアルコール
- ガングリオシド（GM3など）やガラクトシルセラミドはスフィンゴ糖脂質である。

糖脂質の例; GM3

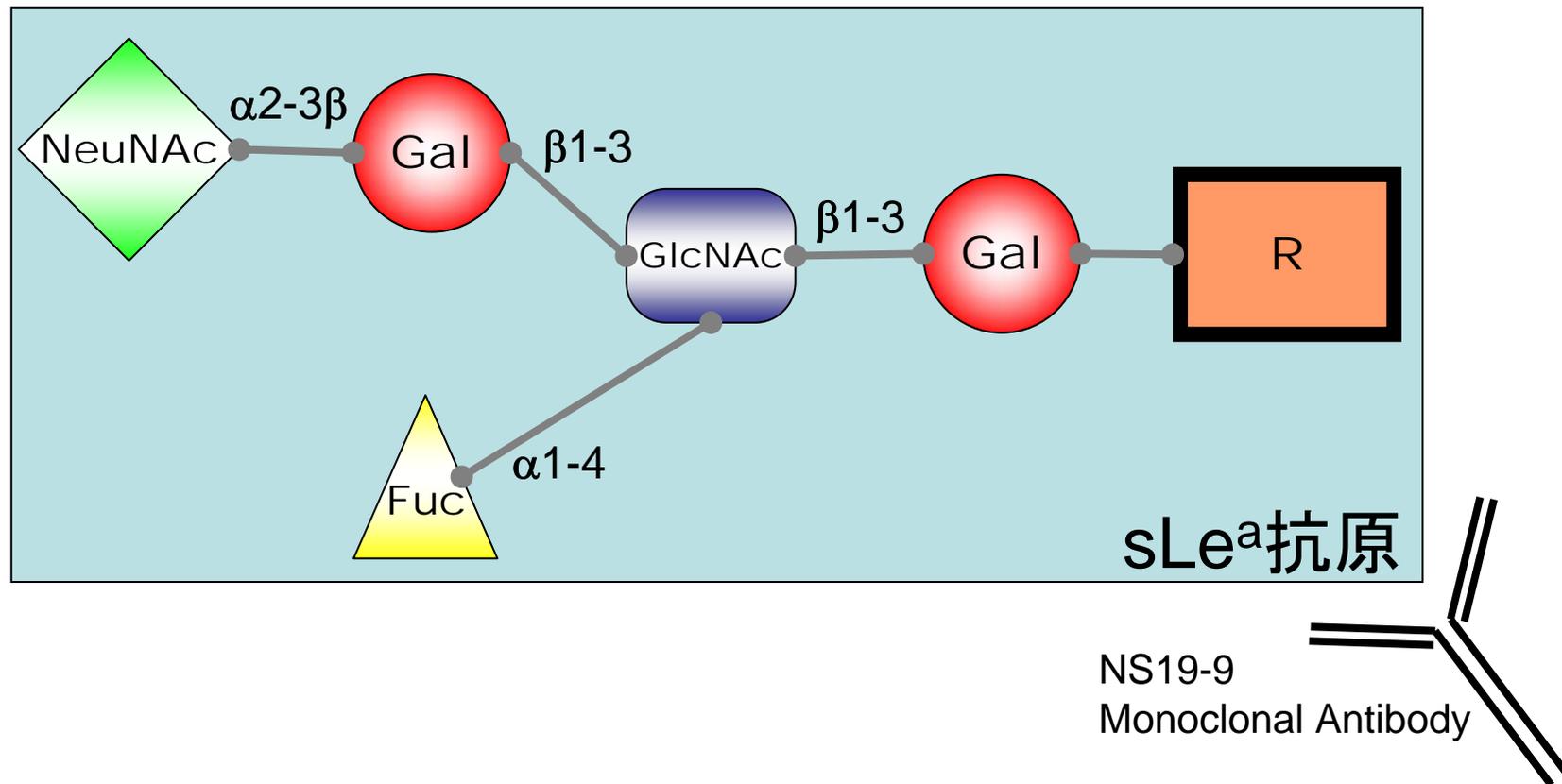


Ceramide + Glu + Gal + NeuNAc = GM3

腫瘍マーカーと糖鎖

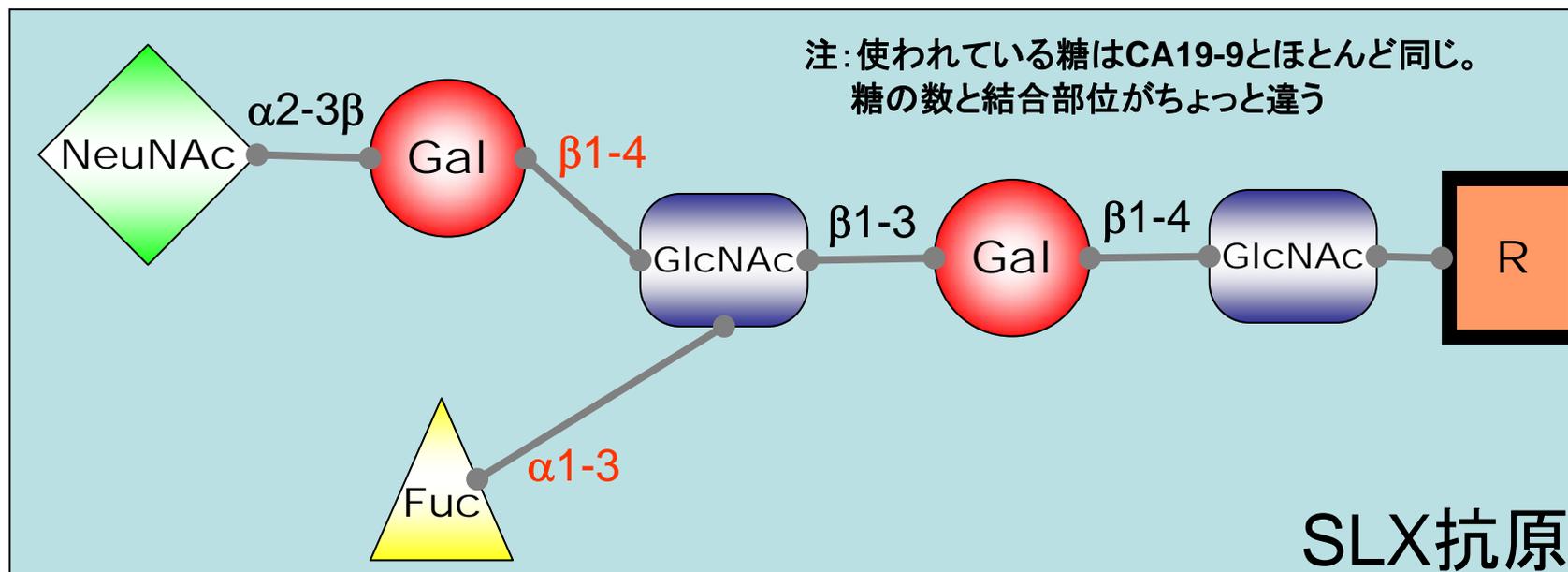
- ある糖鎖には癌に特異的に発現するものがあり、それらを測定することにより、腫瘍マーカーとして用いられている。
 - CA19-9とSLXは、シアリルLeグループ(シアリルルイスグループ)の糖鎖抗原である
 - CA19-9は、シアリルLea抗原 (sialyl Lewis A: sLe^a) を、SLXは、シアリルLe^x抗原 (sialyl Lewis x: sLe^x) を、それぞれ、測定している。

sLe^a抗原=CA19-9



- CA19-9抗原はNS19-9 モノクローナル抗体により認識される糖鎖。
- CA19-9は膵臓、胆管系および消化管の癌で大量に作られ、血清中に増加する。
(正常値37U/ml以下;RIA法)

sLe^x抗原=SLX



FH-6
Monoclonal Antibody

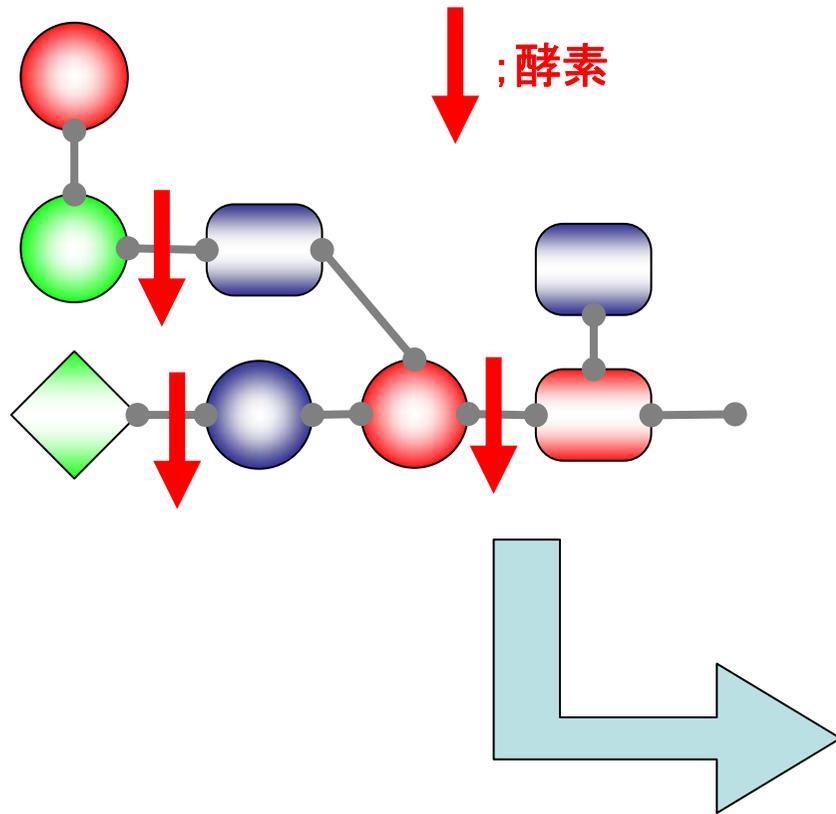
- SLX抗原はFH-6 モノクローナル抗体により認識される糖鎖。
- 肺、膵、卵巣癌などの腫瘍マーカーとして、また転移能の評価・経過観察の指標となる。
(正常値38U/ml以下; IRMA法)

糖鎖研究の難しさ

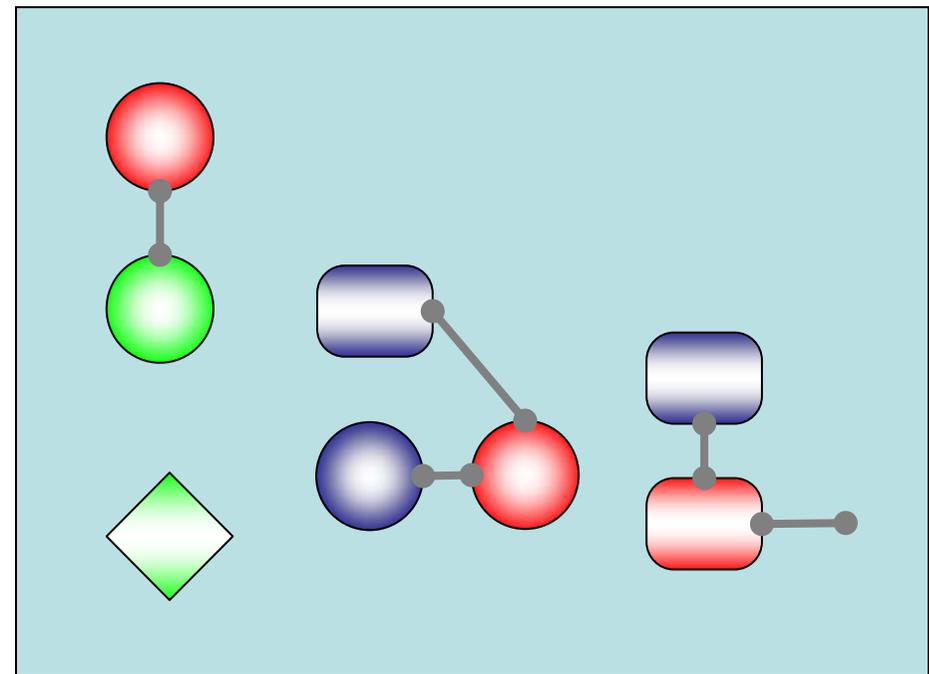
- 糖鎖そのものを見る方法がない。
 - 質量分析器(MS)では長い糖鎖のすべてを解析できず、酵素で切断してからその構成要素を解析するしかない。
 - レクチンへの結合性により糖鎖構造を推定できるが、レクチンはさまざまな構造を認識するので解釈が「推定」しかできない
 - 糖の鎖なので、「どの糖が」、「どうゆう順番で」、「どうゆう結合をするか」、により機能が違ったりするため、解析する方法が簡単でない。
 - 現在知られている糖転移酵素のノックアウトマウスを作り、その機能を解析できるが、その糖鎖構造を作る糖転移酵素が1つ出ない場合、すべてのノックアウトマウスを作らなければならず、研究に時間がかかる

質量分析による糖鎖構造解析

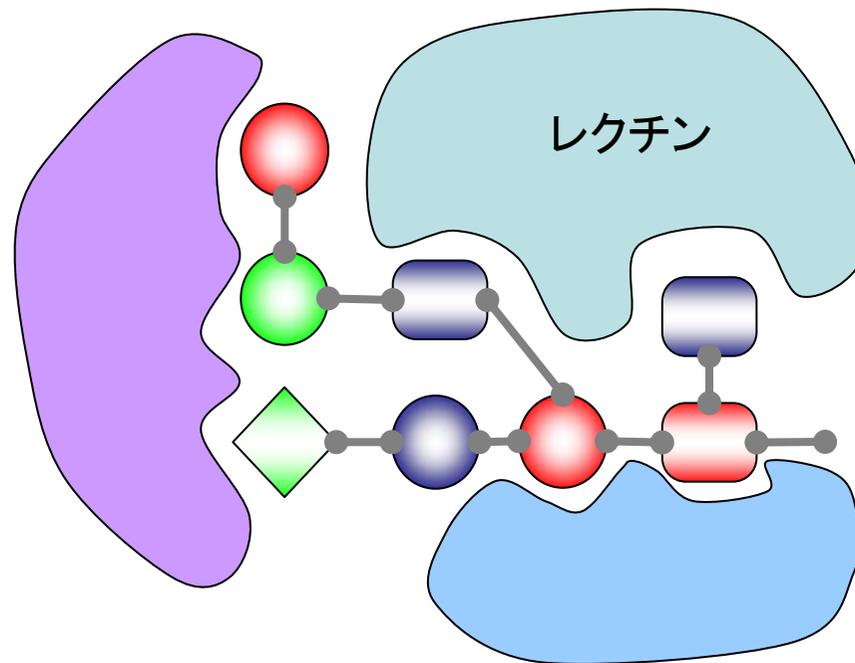
糖鎖を酵素で壊して、その壊れ方からもとの大きな糖鎖を推定する



質量分析器で測れる大きさに切って解析する



レクチンによる糖鎖構造解析



いくつかのレクチンで解析し、構造を推定する
最近レクチンアレイで一度にたくさんのレクチンとの反応を見ることが出来る