

平成 22 年 5 月 25 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2010

課題番号：19500701

研究課題名 (和文) 未利用海産藻類に含まれる抗原性糖鎖の細胞性免疫活性とその利用

研究課題名 (英文) Cellular immunological activities of antigenic N-glycans from unused seaweed-glycoproteins and it's applications.

研究代表者 木村 万里子 (KIMURA MARIKO)

くらしき作陽大学・食文化学部・講師

研究者番号：00351932

研究代表者の専門分野：食品化学

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：海藻、生理活性、抗原性、糖鎖、サイトカイン、未利用資源

### 1. 研究計画の概要

本研究課題では、未利用海産藻類に含まれる糖タンパク質あるいは糖脂質に結合する糖鎖の細胞免疫活性と抗アレルギー性について以下の点を明らかにすることを目的とする。(1)海産性藻類に発現される糖タンパク質・糖脂質糖鎖の構造特性、(2)海藻オリゴ糖鎖が有する抗原性、(3)海藻糖タンパク質に結合する抗原性糖鎖のヒト細胞性免疫に及ぼす生理機能 (T-細胞の分化・生育、サイトカイン分泌促進)、(4)抗原性糖鎖の細胞性免疫調節活性 (サイトカイン分泌促進・抑制活性) を利用したアレルギー疾患 (花粉症) 治療薬 (糖鎖薬剤) 開発の可能性。

以上の解析結果から、未利用海産藻類に含まれる糖タンパク質・糖脂質に結合するオリゴ糖鎖の機能性食品あるいは医療素材開発の基礎が確立されるものと思われる。

### 2. 研究の進捗状況

本研究は、上述の(1)～(4)を明らかにすることにより、未利用海産藻類に含まれる糖タンパク質・糖脂質に結合するオリゴ糖鎖の機能性食品あるいは医療素材としての開発の基盤を確立することを目的としている。

平成19年および20年度は、緑藻類には糖タンパク質の存在量が少なく、褐藻類 (ホンダワラ) には糖タンパク質が豊富に存在すること、そしてそれらに結合する糖鎖は、ハイマンノース型構造であることを明らかにした。

これらハイマンノース型糖鎖の多くは、Man  $\alpha$ 1-2Man ユニットを数個有する構造であり、マクロファージ活性化剤やエイズワクチン開発に向けたエピトープとしての利用価値の高いものであった。

平成 21 年度は、これら海藻糖タンパク質をアクチナーゼ処理した後、均一糖鎖構造を有する糖ペプチドを精製する方法を確立し、更には糖ペプチドと人工ポリマーをカップリングさせた糖鎖ポリマー合成法を検討した。その結果、糖ペプチド精製については、Dowex 50 x 2 樹脂、Con A アフィニティークロマト、順相 HPLC を組み合わせた方法により、海藻から構造均一糖鎖を有する糖ペプチド数十ミリグラム量での供給が可能になった。また、 $\gamma$ -PGA に糖ペプチドを多価数結合させた糖鎖ポリマーの調製にも成功した。

### 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

これまでに、瀬戸内海で多量に採取できる数種の海藻について、それらに含まれる糖タンパク質糖鎖の構造解析を行った。その結果、陸上植物に遍在するキシロース/フコース含有抗原性 N-グリカンは見いだされなかったが、ハイマンノース型糖鎖が特異的に蓄積されていることが明らかになった。また、マクロファージ活性化能や抗エイズウイルス抗体の作製に有用なハイマンノース型糖鎖含有糖ペプチドの調製法を確立し、これら糖ペ

プチドをコンジュゲートさせたネオ糖ペプチドの調製にも成功した。

#### 4. 今後の研究の推進方策

最終年度は、これまでに解析をあまり進めていない紅藻類に含まれる糖タンパク質糖鎖の構造解析を進めることで、海藻糖タンパク質糖鎖の構造特性を明らかにする。一方、海藻糖タンパク質から調製したハイマンノース型糖鎖をコンジュゲートさせたネオ糖ペプチドを用いてマクロファージ活性化能などの免疫活性を明らかにする。

#### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

Kimura, Y., Watanabe, T., Kimura, M., Maeada, M., Murata, Y., Fujiyama, K. Salt-adaptation of Tobacco BY2 cells induces change in glycoform of N-glycans. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 72, 514-522, 2008, 査読有

[学会発表] (計7件)

(1) Sakamura, S., Kimura, M., Fujiyama, K., Okihara, K., Hashimoto, K., Yamada, H., and Kimura, Y. A novel  $\beta$  1-3 galactosyltransferase involved in biosynthesis of honeybee N-glycan bearing T-antigen unit. 15<sup>th</sup> European Carbohydrate Symposium, Abstract p 487, 2009/7/19, Vienna, Austria

(2) Takeoka, Y., Sakamura, S., Fujiyama, K., Kimura, M., and Kimura, Y., Suppression of endo- $\beta$ -N-acetylglucosaminidase and peptide:N-glycanase activity in *Arabidopsis thaliana*. 15<sup>th</sup> European Carbohydrate Symposium, Abstract p 531, 2009/7/19, Vienna, Austria

(3) 永井裕美, 木村万里子, 木村吉伸, 糖タンパク質薬剤開発に必要とされる有用糖ペプチドの多量調製法の確立, 日本農芸化学会大会, 講演要旨集 p 323, 2009/3, 福岡

(4) Nakamura, K., Takeoka, Y., Sakamura, S., Hosoi, K., Fujiyama, K., Kimura, M., and Kimura, Y.

Suppression of Endo- $\beta$ -N-acetylglucosaminidase activity in *Arabidopsis thaliana* and Tomato Plant. XXIV International Carbohydrate Symposium, 2008/7/27, Oslo, Norway

(5) 原 共紀, 木村万里子, 木村吉伸, 雑豆に含まれる糖タンパク質糖鎖の網羅的構造解析, 日本農芸化学会中四国支部例会, 2008/1, 徳島

(6) Takayuki U., Mariko K., Yoichiro H., Kiyoshi O., Hiroyuki S., Hideo Y., and Yoshinobu K.

Processing pathway of N-glycan with T-antigen in *Apis mellifera*: Structural features of N-glycans synthesized in *Apis Mellifera*, XIX International Symposium on Glycoconjugates, 2007/7/19, Cairns, Australia

(7) Hiromi N., Mariko K., Kiyoshi O., Ken H., Hiroyuki S., Hideo Y., Masami Y. and Yoshinobu K.

Identification of royal jelly glycoprotein bearing N-glycans with T-antigen unit. XIX International Symposium on Glycoconjugates, 2007/7/19, Cairns, Australia

[図書] (計2件)

(1) 長澤治子, 木村万里子他, 医歯薬出版「食べ物と健康」食品学・食品機能学・食品加工学(改訂版), 水産食品(魚介類・藻類)担当, p182-194, 2010/2

(2) 長澤治子, 木村万里子他, 青山社, 「食品学実験—基礎から応用まで—」(改訂版), p25, 26, 34-37, 40-43, 50-54, 132, 133, 2010/3

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

なし