

人工ゴルジ装置による複合糖質の自動合成法

Automated Glycoconjugate Synthesis by Artificial Golgi Apparatus

S4-1

西村 紳一郎

Shin-Ichiro Nishimura, Hokkaido Univ. & AIST Hokkaido

001-0021 北海道札幌市北区北 21 条西 11 丁目,北海道大学大学院理学研究科生物科学専攻
062-8517 北海道札幌市豊平区月寒東 2 条 17 丁目 2-1,産業技術総合研究所北海道センター
Tel:011-706-9043, Fax:011-706-9042, E-mail: shin@glyco.sci.hokudai.ac.jp
Tel:011-857-8472, Fax:011-857-8441, E-mail: tiger.nishimura@aist.go.jp

An automated carbohydrate-synthesizer (glycoconjugate-synthesizer) “GolgiTM” was developed by mimicking biosynthetic system of the Golgi apparatus in cells. The present GolgiTM system was improved by using tailored-magnetic beads for immobilizing glycosyltransferases and fine-filter membrane system to achieve fully-automated synthesis in 36 of 96-well reaction vessel. The computer system was also well designed to be user friendly machine for broad area of researchers. It was demonstrated that combined use of GolgiTM with conventional peptide-synthesizer allows for high throughput parallel synthesis of biologically important glycopeptides.

生体内での糖鎖合成機構をヒントにして酵素連続反応による世界初の糖鎖自動合成装置 “GolgiTM” の開発に成功した。一般に自動合成技術の開発では反応効率と分離技術を両立させることが鍵となる。我々は糖転移酵素による糖鎖伸長反応でこの条件をクリアするため、生体内における糖タンパク質生合成プロセスを参考にした独創的な方法論を考案した。すなわち、糖鎖はまずランダムコイル型のポリペプチド鎖に導入されることおよび糖転移酵素は細胞内のゴルジ膜表面に固定化され高密度に分布して機能していることの 2 点に着目してこの生合成反応機構を試験管内で再現するために、(a) 糖転移酵素の大量発現と固定化技術、(b) 合成ターゲットの特異的なマニピュレーションが可能な多官能性リンカーの分子設計や高機能性高分子担体(プライマー)等の鍵技術開発を行った。これらの新技術を駆使することにより、糖転移反応に必要な 3 成分(酵素、受容体基質、供与体基質)をそれぞれ、不溶性担体支持成分、可溶性高分子成分、低分子成分に分けて取り扱うことが可能となったためそれぞれの分離精製過程を大幅に簡素化すると共に分子シャトルを用いる受容体基質の集積効果(クラスター効果)による高い反応効率が達成された。

本装置には酵素固定化用の磁性体ビーズ技術や分子量分画用ろ過膜技術などが新たに導入されており、全ての工程を 36 穴あるいは 96 穴型反応用ベッセルプレート内で完了できるように設計されている。ユーザー用の反応プログラムテンプレートも搭載されているため専門外の研究者にとっても利用しやすいシステムとなっている。また、ペプチド自動合成装置との併用により種々の生理活性糖ペプチドの平行合成などにも応用できることが実証されている。糖鎖自動合成装置 “GolgiTM” では水中での無理無駄の少ないグリーンなプロセスによる超高速コンビナトリアル自動合成が可能であり、糖鎖に限らず糖脂質や糖ペプチド・糖タンパク質等の多様な複合糖質の構築へも柔軟に対応できるため、次世代バイオ医薬品開発や診断用バイオマーカー探索研究等の具体的な実用化研究の推進に貢献することが大いに期待されている。

謝辞

本研究開発は、塩野義製薬(株)、東洋紡績(株)、(株) 日立ハイテクノロジーズとの共同で NEDO からのご支援により行なわれた。

参考文献

1. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 2534-2537 (2005).
2. *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 11804-11818 (2005).