

## 糖鎖の「枝分かれ」が酵素の切断位置を左右する仕組みを解明 — $\beta$ -1,3-グルカン分解酵素が糖鎖を認識・切断する仕組みを分子レベルで明らかに—

### 【発表のポイント】

- 枝分かれの位置と長さを精密に制御した  $\beta$ -1,3-グルカンオリゴ糖（\*1）の蛍光プローブ（\*2）を開発
- $\beta$ -1,6 結合による枝分かれが、酵素の切断効率と切断位置を左右する重要な要因であることを解明
- 8 糖からなるより長い糖鎖プローブを用いることで、短い糖鎖基質では捉えにくかった主要な切断位置を特定し、酵素の糖鎖認識モデルを改良

### 【概要】

名古屋工業大学生命・応用化学類の宮川淳准教授、山口貴大氏（研究当時：大学院生）、山村初雄教授、京都府立大学大学院生命環境科学研究科の織田昌幸教授らの共同研究グループは、枝分かれの位置と長さを精密に制御した  $\beta$ -1,3-グルカンオリゴ糖の蛍光プローブを開発しました。これを用いて、 $\beta$ -1,6 結合による枝分かれが、菌類などに広く存在する  $\beta$ -1,3-グルカン分解酵素の切断効率や切断位置を左右する重要な要因であることを明らかにしました。

本研究では、 $\beta$ -1,3-グルカンの枝分かれ構造を精密に制御したオリゴ糖を化学合成して蛍光プローブ化することで、枝の位置と長さによる酵素反応の違いを明らかにしました。さらに、8 糖からなる長い糖鎖プローブを用いて主要な切断位置を特定し、酵素の糖鎖認識モデルを改良しました。

本研究は、枝分かれ構造に加え、糖鎖の長さも、酵素による糖鎖基質の認識や切断位置を正確に解析する上で重要であることを示したものです。

本手法は複雑な構造を持つ糖鎖と酵素との関係を分子レベルで理解するための技術基盤となり、さまざまな糖質関連酵素の詳細な機能解明への応用が期待されます。

本研究成果は、米国化学会（ACS）が刊行する学術誌『ACS Bio & Med Chem Au』に 2026 年 8 月 19 日付で掲載されました。

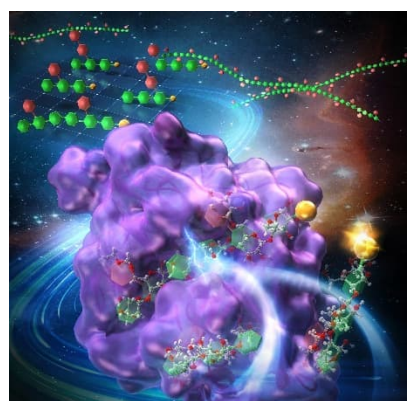


図 1 本研究のイメージ図

### 【研究の背景】

$\beta$ -1,3-グルカンは、グルコースが  $\beta$ -1,3 結合によって連なった多糖で、菌類などに広く存在しています。 $\beta$ -1,3 結合からなる主鎖に  $\beta$ -1,6 結合による枝分かれを持つ構造があり、この枝分かれ構造は、糖鎖の溶解性や高次構造、生物活性などに影響することが知られています。また、菌類の細胞壁では  $\beta$ -1,3-グルカンが重要な構成成分となっており、その分解や再構築には  $\beta$ -1,3-グルカンを

切断する酵素（ $\beta$ -1,3-グルカナーゼ）が関わっています。

これまで $\beta$ -1,3-グルカナーゼの働きについては、天然由来の多糖や枝分かれを持たない直鎖状のオリゴ糖などを用いて研究されてきました。しかし、天然の $\beta$ -1,3-グルカンは枝分かれの位置や数が不均一であるため、枝分かれの「位置」や「長さ」の違いが酵素による糖鎖の認識や切断にどのような影響を与えるのかを詳細に解析することは困難でした。そこで本研究では、枝分かれの位置と長さを精密に制御した $\beta$ -1,3-グルカンオリゴ糖を化学合成し、蛍光プローブとして利用することで、枝分かれ構造と酵素による糖鎖認識・切断との関係を分子レベルで明らかにすることを目指しました。

#### 【研究の内容・成果】

本研究では、 $\beta$ -1,3-グルカンの主鎖に $\beta$ -1,6結合による枝を導入し、その位置と長さを精密に変化させたオリゴ糖を化学合成しました。具体的には、枝を主鎖の非還元末端、内部、還元末端の異なる位置に配置するとともに、枝の長さを1糖または2糖とした複数の糖鎖を合成しました。さらに、これらの糖鎖に蛍光標識を導入してプローブ化し、*endo*- $\beta$ -1,3-glucanase（\*3）による分解反応を高感度に追跡しました。

その結果、 $\beta$ -1,6結合による1糖の枝は調べたすべての位置で酵素による分解が確認されましたが、枝が2糖になると酵素による分解が大きく抑制されることが明らかになりました。また、同じ長さの枝でも、その位置によって切断効率や切断される場所が異なることから、枝分かれの位置と長さが、酵素に対する糖鎖の結合の仕方や向きを決める重要な要因であることが示されました（図2）。

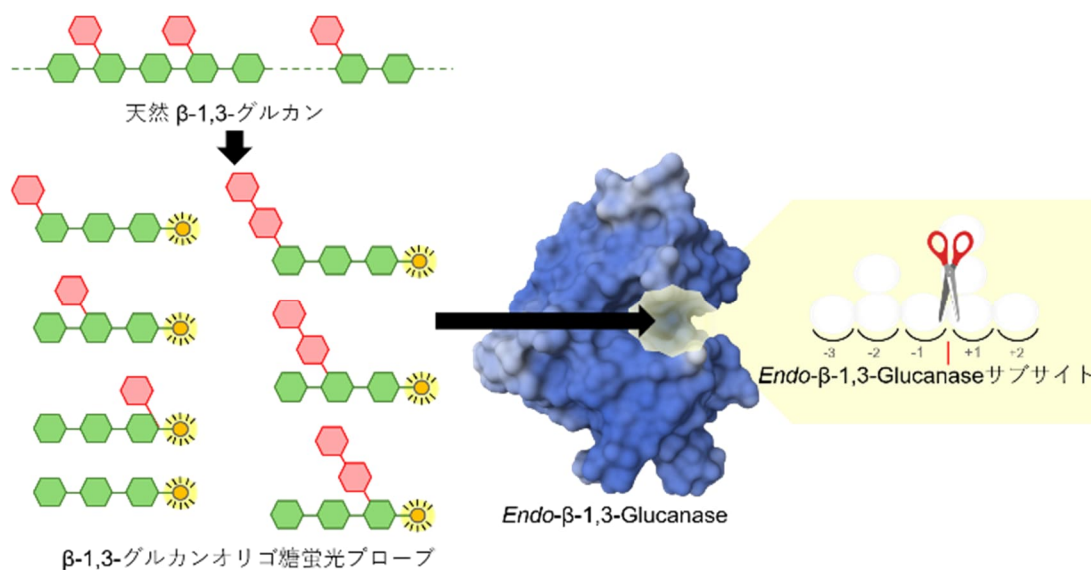


図2 主鎖3糖型プローブによる糖鎖認識モデル

さらに、より長い糖鎖での酵素の働きを調べるため、2か所に1糖の枝を持つ8糖からなる蛍光プローブを合成しました。この8糖プローブを用いて酵素反応を解析したところ、短い糖鎖では明確に捉えることができなかった主要な切断位置を特定することに成功しました。この結果をもとに、酵素が糖鎖を認識する領域（サブサイト（\*4））を-4から+3までとするモデルへと改良し、枝分かれを持つ糖鎖を酵素がどのような向きで認識し、切断するのかをより詳細に示しました（図3）。

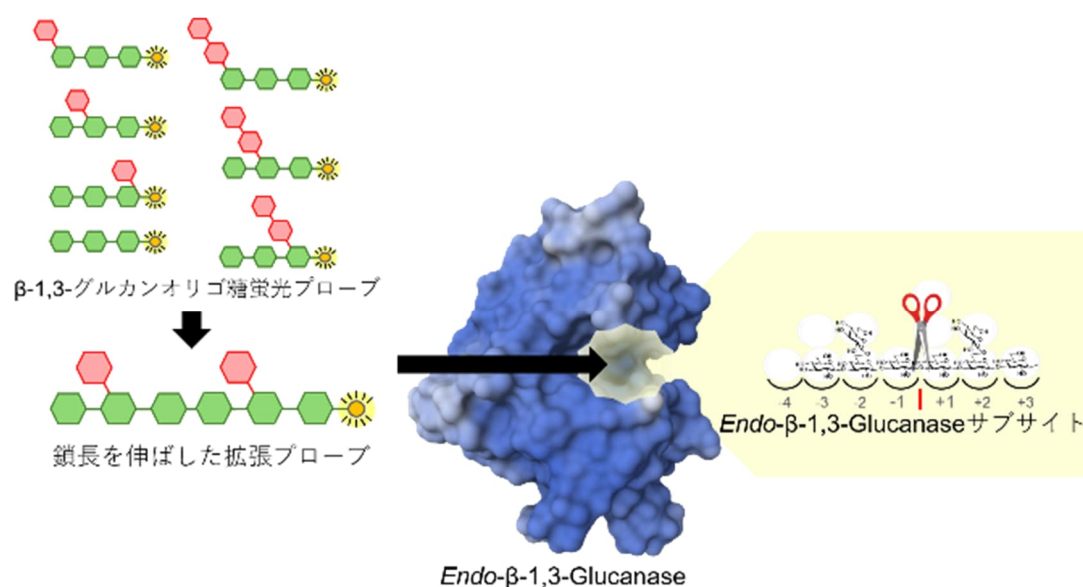


図3 拡張したプローブによる糖鎖認識モデル

### 【社会的な意義】

糖鎖は、生体内でさまざまな機能を担う一方、その構造が複雑かつ不均一であるため、わずかな構造の違いが酵素の働きに与える影響を正確に調べるのが難しい分子です。本研究では、構造を精密に設計した糖鎖を化学合成し、蛍光プローブとして用いることで「枝の位置」と「枝の長さ」という糖鎖の微細な構造の違いを一つずつ切り分けて、酵素反応への影響を解析することを可能にしました。

### 【今後の展望】

本研究で確立した、構造が明確な合成糖鎖を蛍光プローブとして利用する解析手法は、今回対象としたβ-1,3-グルカンナーゼだけでなく、複雑な多糖を認識・分解するさまざまな糖質関連酵素の解析にも応用できると考えられます。

今後、枝分かれの位置や長さ、糖鎖全体の長さなどをさらに系統的に変化させた糖鎖プローブを活用することで、複雑な糖鎖構造と酵素機能との関係をより詳細に解明し、糖質関連酵素の基質認識機構の理解を深めることが期待されます。

### 【用語解説】

#### (※1) β-1,3-グルカンオリゴ糖

β-1,3-グルカンは、グルコース（ブドウ糖）が主にβ-1,3結合によって連なった多糖の一種。菌類などに広く存在し、β-1,6結合による枝分かれを持つものがある。枝分かれの状態によって、溶解性、高次構造、生物活性などが変化する。オリゴ糖とは、単糖が2～10個程度結合した糖鎖のことである。本研究では、構造を精密に制御したβ-1,3-グルカンのオリゴ糖を化学合成し、酵素反応の解析に使用した。

#### (※2) 蛍光プローブ

特定の分子や化学反応を検出・追跡するために蛍光物質を導入した分子。本研究では、合成した糖鎖に蛍光標識を導入することで、酵素によって生成する糖鎖断片を高感度で分析した。

(※3) endo-  $\beta$ -1,3-glucanase (エンド- $\beta$ -1,3-グルカナーゼ)

$\beta$ -1,3-グルカンの主鎖に存在する  $\beta$ -1,3 結合を内部から切断する酵素。本研究では、*Cellulosimicrobium cellulans* 由来の酵素を使用した。

(※4) サブサイト

酵素が糖鎖を結合・認識する領域を、糖を構成する単位ごとに表した考え方。糖鎖を切断する結合を挟んで各領域に番号を付けることで、酵素が糖鎖をどのような位置や向きで認識しているかを表す。

#### 【謝辞】

本成果は、JSPS 科研費 (JP20K05602)、池谷科学技術振興財団 (研究代表者：宮川淳) の支援を受けて実施されました。

#### 【論文情報】

タイトル: Mechanistic Insights into  $\beta$ -1,6-Branch Recognition and Orientation-Selective Hydrolysis by Endo- $\beta$ -1,3-Glucanase Using Synthetic  $\beta$ -Glucan Probes

著者名: Atsushi Miyagawa, \* Takahiro Yamaguchi, Masayuki Oda, Hatsuo Yamamura (\*責任著者)

掲載誌: ACS Bio & Med Chem Au

掲載日: 2026 年 8 月 19 日

DOI : 10.1021/acsbiochemau.6c00086

URL : <https://doi.org/10.1021/acsbiochemau.6c00086>

備考: Cover Picture 選出

#### 【本件への問い合わせ先】

<研究に関すること>

名古屋工業大学 生命・応用化学類

准教授 宮川 淳

TEL : 052-735-5239

E-mail : [miyagawa.atsushi@nitech.ac.jp](mailto:miyagawa.atsushi@nitech.ac.jp)

<広報に関すること>

名古屋工業大学 企画広報課

TEL : 052-735-5647

E-mail : [pr@adm.nitech.ac.jp](mailto:pr@adm.nitech.ac.jp)