



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Synthesis and Functions of Neoglycolipids Based on the Glycoblotting Method [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	石田, 純也
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第11399号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/55632
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Junya_Ishida_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（**生命科学**） 氏 名 石田 純也

学 位 論 文 題 名

Synthesis and functions of neoglycolipids based on the glycoblotting method

（糖鎖捕捉反応を利用した新奇糖脂質の合成と機能）

糖鎖は生体内において細胞の増殖や分化、免疫、がんの転移や浸潤、シグナル伝達、感染や炎症などの様々な生命現象に深く関わっていることが知られている。糖タンパク質と同様、糖脂質も細胞表面において糖鎖を提示する役割を担っているが、中でもスフィンゴ糖脂質（糖セラミド）はその多様な糖鎖構造により細分化され、ガングリオ系、グロボ系、ネオラクト系などと呼ばれている。このような構造の多様性は研究者にとって興味を強く引きつけると同時に、研究戦略を構築する際の大きな障害となっている。研究対象となる糖脂質試料を自ら調製する必要がある場合には、大別して生体中から抽出する方法と、化学法や酵素法を用いて合成を行う方法の2つのアプローチがとられるが、糖脂質はその糖鎖構造の多様性のみならず基礎となるスフィンゴシン骨格の構造やそれに結合するアシル基の鎖長や不飽和度が異なるため、抽出法により目的の糖脂質のみを十分量単離することは非常に困難な作業であると言える。したがって後者の手法が主流となり、この数十年の間にめざましい発展を遂げてきた。しかしながら、一般に複合糖質の化学合成は供与体となる糖部位及び受容体となるアグリコン部位それぞれに保護などの工程を必要とした後、禁水条件での反応となるグリコシル化を行うことで目的物を得るため、多段階の反応が必須であり、かつ熟練した合成技術が目的物の収量に大きく関わってくるといった問題を抱えている。目的の糖脂質が定まっておらず、膨大な数のライブラリを構築しなければならない場合には、さらに時間的及び金銭面でのコストも大きな問題となってくる。近年、エンドグリコシダーゼの改変によるフッ化糖とスフィンゴシンの一段階反応が開発され大きな注目を浴びているが、やはりアノマー位の改変が必要である点や、利用できる基質の範囲をいかに広げられるかという点が課題として残っている。

そこで筆者は遊離糖を特異的に捕捉するグライコブロットティング法に着目した。この手法はアミノオキシ基やヒドラジド基を有する化合物と遊離の糖を弱酸性溶液中で混合するのみで簡便に糖鎖複合体を得ることができることが最大の特徴であり、当研究室ではそ

の特徴を糖鎖構造解析に応用することで網羅的な解析を従来法とは比較できないほど迅速に行うことに成功した。無保護糖に位置選択的な結合を形成することが可能であることから、この手法は配糖体の合成やマイクロアレイへの固定化、ネオグリコシドとして複合糖質模倣体の合成などにも応用されてきたが、糖脂質への応用は報告例が少ないのが現状である。本研究ではフィトスフィンゴシン骨格並びにセリン骨格を有するセラミド誘導体の一級水酸基を直接糖鎖捕捉が可能な官能基に置換し、種々の遊離糖鎖と混合することでグライコブロットング法による簡便な新奇糖脂質ライブラリの構築が可能であることを示した。また、メトキシアミノ基置換セラミドの合成経路においては、 $N\alpha$ to $N\beta$ アシル転移という想定外の反応が起こることが観測されたが、逆にその反応を利用することで目的物の合成を達成することができた。同様の転移反応が過去の文献において副反応機構として示唆されていたが、意図的に利用したのは本研究が初めてである。糖鎖捕捉反応においてもこの基質は糖部位が環構造をとらない代わりにスフィンゴシン鎖が環を巻くという予想もしていなかった生成物を与えた。この構造では糖脂質としての機能を持たないことが容易に予想されたため、反応条件を最適化することで副生成物の生成を抑え目的の糖脂質模倣体を得ることに成功した。これらの知見は、この先の捕捉型糖鎖複合体研究の発展において非常に有用なものであると考えられる。

得られた新奇糖脂質が天然型と同様に酵素に認識されるかを確かめるため、糖脂質の糖-脂質間の結合を特異的に切断するエンドグリコシダーゼを用いて評価した。天然型と捕捉型のラクトシルセラミドを同じ条件において酵素処理した結果、天然型は加水分解が進行したが捕捉型においては反応の進行は確認できなかった。そこで両者を混合した実験を行ったところ、天然型の反応速度が明らかに低下した。この結果は捕捉型が天然型と競合して酵素に認識されることにより天然型の分解反応を阻害したことを意味し、これにより糖脂質模倣体として機能していることが明らかになった。

本研究により、糖鎖捕捉法による新奇糖脂質の合成の有用性が示された。