



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Design, synthesis and their application of effective probes for dynamic analysis of sphingolipids and their related biomolecules [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	齊藤, 翔太
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第12721号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65596
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Shota_Saito_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 齊藤 翔太

学 位 論 文 題 名

Design, synthesis and their application of effective probes for dynamic analysis of sphingolipids and their related biomolecules

(スフィンゴ脂質及びその関連生体分子の動態解析用プローブの設計・合成及びその応用)

スフィンゴ脂質は 2-アミノ-1,3-ジオール構造を持つ脂質群の総称であり、細胞のシグナル伝達、アポトーシスおよび免疫応答などに関与している。近年、スフィンゴ脂質がメタボリックシンドロームやアルツハイマー病の新規な創薬ターゲットとして注目されており、その代謝解析の研究には大いに興味を持たれている。内在性スフィンゴ脂質の代謝解析については、特定の酵素の変異やノックアウト法によって徐々に解明されているが、外来性スフィンゴ脂質に関しては未だ発展途上である。外来性スフィンゴ脂質の代謝解析法としては、放射性同位体を用いる方法、蛍光基を導入する方法があるが、前者は放射性同位体を使用するため特殊な設備が必要であり、後者は蛍光基によってスフィンゴ脂質本来の生物学的活性や親和性が変化してしまうという欠点がある。本学位論文ではフルオラスケミストリーを用いたスフィンゴ脂質の代謝解析法に着目した。フルオラスケミストリーとは、高度にフッ素化された化合物が特異的に親和性を持つことを利用して化合物の分離を迅速に行う技術であり、精製操作を簡便にすることが可能であるため有機合成の分野において急速な発展を見せている。近年、有機合成分野のみならず生物学的分野においてもメタボロミクス、マイクロアレイ、光反応性クロスリンカーといった形でフルオラスケミストリーの応用が行われている。フルオラスケミストリーをスフィンゴ脂質の代謝解析に用いることによって、特殊な設備を用いることがなく、顕著な生物学的活性の変化や親和性の変化がない新規な方法が確立できると考えられる。本学位論文では、フルオラス固相抽出法を用いたスフィンゴ脂質群の分析評価のためフルオラス標識スフィンゴ脂質の合成、細胞毒性評価およびフルオラス固相抽出カラムを用いた LC-MS 解析を行うこととした。L-serine を出発物質とし、11 段階を経て目的とするフルオラススフィンゴ脂質の合成を達成した。合成したフルオラススフィンゴ脂質をフルオラス固相抽出カラムを用いた LC-MS を用いて分離条件の検討を行ったところ、フルオラス鎖の有無、さらにフルオラス鎖の長短によって効率的分離が可能であった。フルオラス鎖の導入による生物学的活性の変化の有無を調べるため NIH3T3 細胞、B16

細胞を用いて細胞毒性試験を行った。その結果、フルオラス鎖の導入による細胞毒性の変化は微小であった。スフィンゴ脂質の一種であるセラミドをスフィンゴリエリンへ変換する酵素である **SMS2** を過剰発現した細胞の破碎液と合成したフルオラスセラミドの蛍光誘導体を反応させた結果、合成したフルオラスセラミドの蛍光誘導体はフルオラススフィンゴリエリンへと変換され、フルオラス鎖の代謝への影響が微小であることが確認された。