

学位論文題名

“Synthetic Studies on the Lactosaminoglycan Models”

Functionalization of Lactose as an Unused Disaccharide Resource.

（ラクトサミノグリカンの合成化学研究

——未利用二糖資源としてのラクトースの機能化）

学位論文内容の要旨

乳製品の製造過程において副産物として産出するホエー（乳清）は、世界で年間数億トンも生産されるにも関わらず食品資材、家畜の飼料などの用途以外にはその利用価値はほとんど知られていない。このホエーは水分を除く固形成分の70%以上がラクトース（乳糖）から構成されており、またこのラクトースも低価格で入手することが可能である。

一方で、細胞表層に存在するアスパラギン結合型糖タンパク質中の糖鎖は一般に二本、三本あるいはそれ以上に枝分かれした分枝型構造として機能していることが知られており、このような糖鎖の密度（クラスター）効果の生物学的意義が、近年多様な人工基質を用いた実験例により明らかになりつつある。さらに、この概念を用いた糖鎖-糖鎖間、あるいは糖鎖-タンパク質間などの相互作用に基づいた新規な医薬への展開が期待されている。しかしこのアスパラギン結合型糖タンパク質糖鎖を構成するオリゴ糖のうちで最も重要な基本骨格の*N*-アセチルラクトサミンは化学的に誘導するのが比較的困難であり、この分野の進展において重要な鍵となるステップであると言われている。

この様な背景にあって、本論文では、未利用二糖資源ラクトースの効果的な利用を根底におき、様々な新しい化学的手法を用いることにより細胞の老化、癌化さらに悪性化等の諸生命現象に深く関与している事で知られている*N*-アセチルラクトサミン誘導体の調製法を系統的に検討している。さらに重合性糖質モノマーの高分子化により、高度に分子設計された糖タンパク質モデルの創製とそれらの機能について詳しく議論している。本論文は六章からなりその内容については以下のように要約できる。

【第一章】この章では未利用二糖資源ラクトースの有効な活用法の示唆をおこなうとともに、クラスター効果における高糖鎖密度リガンド構築の必要性と期待される新しい機能などの背景、目的、およびその意義を明確に述べている。

【第二章】この章はクラスター効果を検討する上で基本となるモデル化合物として糖部分に*N*-アセチルグルコサミンを用い、効果的なアグリコン部分の開発として ω -アクリロイルアミドタイプのスペーサーを考案し、従来の機能性スペーサーの重合性をはるかに向上させることに成功した。さらに小麦胚芽レクチン（WGA）との結合挙動について蛍光分析を用い検討したところ、高い糖鎖密度を有するクラスター高分子においては鮮やかなア

ロステリック型相互作用を発現する事を見出した。これは高密度の糖質ポリマーがWGAのサブサイトと逐次結合するために生じた正の協同効果に起因するものであると推定した。さらにこの章で述べたクラスター高分子は、従来低分子リガンドでは不可能であった糖鎖配列と親和性の関連についても議論できる事を初めて証明した。

【第三章】この章では、第二章において考案した高機能性スパーサーをラクトースから誘導した*N*-アセチルラクトサミン誘導体に導入し、高い糖鎖密度を有する*N*-アセチルラクトサミン型糖質高分子の調製を行っている。さらにこの高分子と蛍光ラベルした *Erythrina Corallodendron*由来レクチンとの相互作用について蛍光分析を用いて検討している。この測定結果から、結合定数 K_a を算出したところ、糖鎖の密度が小さくなるに従い、高い結合定数が得られることが観察された。これはこのレクチンがWGAとは異なり1分子につき、1つの結合部位しか持たないため、糖鎖が密に存在すると糖鎖自身が立体障害となってレクチンとの結合を阻害してしまうためであると考えられる。また第二章と同様に、従来低分子リガンドでは不可能であった糖鎖配列と親和性の関連についても詳細に説明している。

【第四章】この章では、上記に述べた糖質高分子よりも、さらに部分的に糖鎖が密集した三本鎖型のモデル化合物を合成するため、4-ニトロ-4-[1-(3-ヒドロキシプロピル)]-1,7-ヘプタンジオールをアグリコンとして採用し、これに*N*-アセチルラクトミンの導入を行うことにより、三本鎖型糖鎖モノマーの調製を行っている。続いて、このモノマーの重合反応による糖鎖高分子の合成を行い、これまで全く例を見ない天然の三本鎖型糖タンパク質モデルの調製を達成した。

【第五章】この章では、ラクトースを原料として糖鎖合成において極めて有効な1,6-無水ラクトース誘導体を種々の化学的手法により調製し、この鍵中間体と先程の*N*-アセチルラクトサミン誘導体とのグリコシル化反応によりラクトサミノグリカン関連六糖の合成を効率的に行っている。

【第六章】この章は、本論文を総括であり、各章において得られた重要な結果を簡潔にまとめている。

以上のようにこの論文は、未利用二糖資源であるラクトースを出発原料とし、生化学的見地から極めて付加価値の高い*N*-アセチルラクトサミン由来の糖鎖リガンドの合成、およびそれらより誘導できる糖質高分子のクラスター度の制御法について述べている。特に、クラスター度を自由自在に操作する手法はこれまでに全く例がなく、今後この方法論を、さらに複雑な糖鎖に拡張することが大いに期待されてる。

学位論文審査の要旨

主査 教授 西 則 雄 副査 教授 戸 倉 清 一
副査 教授 荒 木 義 雄 副査 教授 西 村 紳 一 郎
副査 助教授 覚 知 豊 次 (北海道大学大学院理学研究科)

学位論文題名

“Synthetic Studies on the Lactosaminoglycan Models” Functionalization of Lactose as an Unused Disaccharide Resource.

(ラクトサミノグリカンの合成化学研究 ——未利用二糖資源としてのラクトースの機能化)

ホエー（乳清）は、乳製品の製造過程において副産物として世界で年間数億トンも生産されるが、食品資材、家畜の飼料などの用途以外にその利用価値はほとんど知られていない。このホエーは水分を除く固形成分の70%以上がラクトース（乳糖）から構成されており、従ってこのラクトースは低価格で入手することができる。

一方、細胞表層に存在するアスパラギン結合型糖タンパク質中の糖鎖は、一般に枝分かれした分枝型構造として機能していることが知られており、このような糖鎖の密度（クラスター）効果の生物学的意義が、近年多様な人工基質を用いた実験例により明らかになりつつある。さらに、この概念を用いた糖鎖-糖鎖間、あるいは糖鎖-タンパク質間などの相互作用に基づいた新規な医薬への展開が期待されている。しかしこのアスパラギン結合型糖タンパク質糖鎖を構成するオリゴ糖のうちで最も重要な基本骨格の*N*-アセチルラクトサミンは化学的に誘導するのが比較的困難であり、この分野の研究の進展において重要な鍵となるステップであると言われている。

この様な背景にあって、本論文では、未利用二糖資源ラクトースの効果的な利用を根底におき、様々な新しい化学的手法を用いることにより細胞の老化、癌化さらに悪性化等の諸生命現象に深く関与していることで知られている*N*-アセチルラクトサミン誘導体の調製法を系統的に検討している。さらに重合性糖質モノマーの高分子化により、高度に分子設計された糖タンパク質モデルの創生とそれらの機能について詳しく議論している。本論文は六章からなり第一章では未利用二糖資源ラクトースの有効な活用法を示唆するとともに、クラスター効果における高糖鎖密度リガンド構築の必要性と期待される新しい機能などの背景、目的、およびその意義を述べている。

第二章はクラスター効果を検討する上で基本となるモデル化合物として糖部分に*N*-アセチルグルコサミンを用い、効果的なアグリコン部分として ω -アクリロイ

ルアミドタイプのスペーサーを開発した。さらに小麦胚芽レクチン (WGA) との結合挙動を蛍光分析で調べ、重要な知見を得た。さらにこの章で述べたクラスター高分子は、従来低分子リガンドでは不可能であった糖鎖配列と親和性の関連についても議論できることを初めて証明した。

第三章では、前述の高機能性スペーサーをラクトースから誘導した *N*-アセチルラクトサミン誘導体に導入し、高い糖鎖密度を有する *N*-アセチルラクトサミン型糖質高分子の調製を行っている。さらにこの高分子と蛍光ラベルした *Erythrina Corallodendron* 由来レクチンとの相互作用について蛍光分析を用いて検討している。

第四章では、上記の糖質高分子よりも、さらに部分的に糖鎖が密集した三本鎖型のモデル化合物を合成するため、三本鎖型糖鎖モノマーの調製を行っている。続いて、このモノマーの重合反応による糖鎖高分子の合成を行い、これまで全く例を見ない天然の三本鎖型糖タンパク質モデルの調製を達成した。

第五章では、ラクトースを原料として糖鎖合成において極めて有効な1,6-無水ラクトース誘導体を種々の化学的手法により調製し、この鍵中間体とさきほどの *N*-アセチルラクトサミン誘導体とのグリコシル化反応によりラクトサミノグリカン関連六糖の合成を効率的に行っている。

第六章は、本論文の総括であり、各章において得られた重要な結果を簡潔にまとめている。

以上のようにこの論文は、未利用二糖資源であるラクトースを出発原料とし、生化学的見地から極めて付加価値の高い *N*-アセチルラクトサミン由来の糖鎖リガンドの合成、およびそれらより誘導できる糖質高分子のクラスター度の制御法について述べている。特に、クラスター度を自由自在に操作する手法はこれまでに全く例がなく、今後この方法論を、さらに複雑な糖鎖に拡張することが大いに期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、また申請者は研究者として誠実かつ熱心であると考え、大学院課程における研鑽や単位取得なども併せ申請者が博士 (地球環境科学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。