

学 位 論 文 題 名

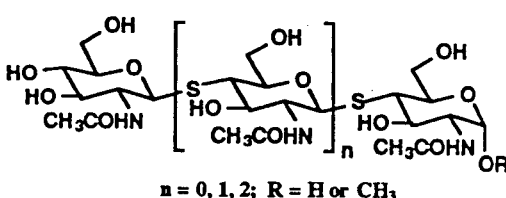
Neoglycoconjugates of Biological Interests : Design,
Synthesis, and Application

(生物学的に重要な擬似複合糖質 : 設計, 合成, および応用)

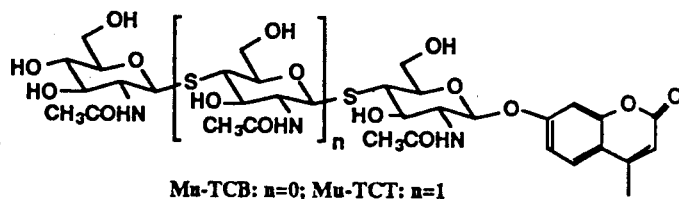
学位論文内容の要旨

近年、複合糖質の構造と生物学的機能に関する研究が益々重要となっている。これら様々な糖鎖の生合成機構、代謝、さらに生物活性等の分子レベルにおける研究にとって擬似複合糖質(Neoglycoconjugates)の有効性が多方面で示唆されている。本研究においてはS-グリコシド化合物、C-グリコシド化合物、擬似糖ペプチド、さらにリポオリゴ糖などの糖鎖生物学領域において価値ある新しい基質あるいは阻害剤の分子設計、合成、およびそれらの評価・応用を系統的に行った。本論文は5つの章から成り、以下に各々の概要を記した。

【第1章】 この章では右図に示した擬似キトオリゴ糖をN-アセチル-D-グルコサミン(GlcNAc)とN-アセチル-D-ガラクトサミンを出発物質として合成する方法とそれらのいくつかの性質について述べている。



【第2章】 チオグリコシド結合した擬似キトオリゴ糖の生化学的価値を確認するため、右に示したように非糖質部(アグリコン)に蛍光性基を新たに導入した新しいタイプの基質(Mu-TCBとMu-TCT) を合成した。次いで、

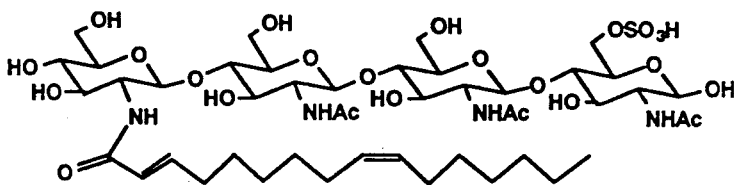


Streptomyces griseus 由来のキチナーゼならびに、*Vibrio furnissii* 由来のキトデキストリナーゼによる分解特性について検討した。両酵素共にMu-TCBをMu-TCTよりも好ん

で加水分解することが明らかになった。また、Mu-TCBは既存のMu-キトビオース(Mu-CB)やMu-キトリオース(Mu-CT)と異なり、チオキトオリゴ糖と蛍光性基の間のグリコシド結合のみを切断することから、より直接的かつ定量的に活性測定が可能となった点で極めて優れていることも証明された。

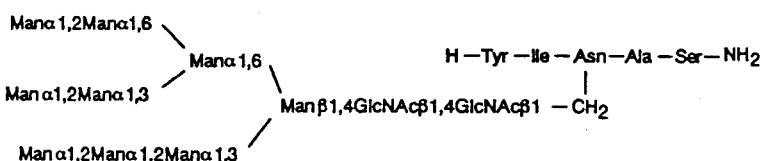
【第3章】 Nodulation factors

と言われるリポオリゴ糖シグナル(右図)は様々な植物細胞壁に存在して窒素固定バクテリアに



対する宿主特異性を提示する糖鎖として知られている。この章では、キトテトラオース誘導体とみなせるこの化合物およびその類縁体の簡易合成の道を拓いた。

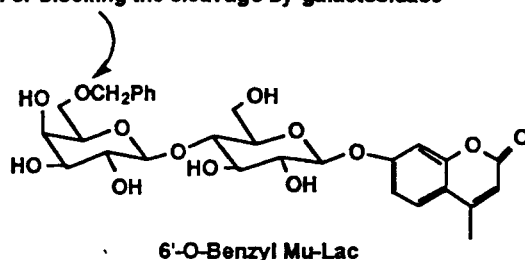
【第4章】 右に示す擬似糖ペプチドの酵素—化学合成法を確立した。高マンノース型糖鎖(Man_{5,9}GlcNAc)を



Arthobacter protophormiae 由来のエンド-β-N-アセチルグルコシダーゼ(Endo-A)の糖転移活性を用いることによりこの新規な糖ペプチドアナログの合成が飛躍的に簡略化された。

【第5章】 糖脂質分解酵素であるセラミドグリカナーゼの新しい蛍光性基質(右図)を合成した。この基質はこれまでに報告された基質と異なり、ガラクトース残基のC-6位ベンジル基によりexo型ガラクトシダーゼの作用を阻害し、セラミドグリカナーゼ

For blocking the cleavage by galactosidase



のみにより分解されるため、本酵素の検出・同定や未精製検体中の純度評定等にも有効とみなせる。

以上のように本論文は、複合糖質の生物学的機能を解明する際に効果的かつ汎用的利用が可能と考えられる多くの特異的基質、リガンド、さらに阻害剤の分子設計と簡易合成法の確立に大きく貢献するものである。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 西 村 紳一郎

副 査 教 授 戸 倉 清 一 (大学院地球環境科学研究科)

副 査 教 授 西 則 雄 (大学院地球環境科学研究科)

副 査 助教授 吉 田 孝

学 位 論 文 題 名

Neoglycoconjugates of Biological Interests : Design, Synthesis, and Application

(生物学的に重要な擬似複合糖質：設計、合成、および応用)

糖タンパク質、糖脂質、およびプロテオグリカンなどの複合糖質は受精、発生、分化、成長、老化、癌化（悪性化）、さらにウイルス感染等の様々な生命現象に細胞間における認識・情報制御などを通して深く関与しているという実験的事実が最近数多く報告される様になってきた。しかし、極めて多様かつ複雑な化学構造のこれら複合糖質の研究は関連する酵素、リセプター、さらに糖鎖遺伝子に至る諸因子を含めて困難な状況にあると言える。これらの生物界に存在する様々な複合糖質糖鎖の生合成機構、代謝、あるいは生物活性等の分子レベルにおける解明研究にとって擬似複合糖質 (Neoglycoconjugates) と呼ばれるバイオミメチック化合物の有効性が多方面で示唆されている。

本論文においてはS-グリコシド化合物、C-グリコシド化合物、擬似糖ペプチド、さらにリポオリゴ糖などの糖鎖生物学領域において価値ある新しい基質あるいは阻害剤の分子設計、合成、およびそれらの機能評価と応用を5つの章に分けて述べている。

第一章と第二章では擬似キトオリゴ糖をN-アセチル-D-グルコサミン(GlcNAc)とN-アセチル-D-ガラクトサミンを出発物質として効果的に合成する方法とそれらの酵素阻害剤としての性質について述べている。これらのチオグリコシド結合により構築した擬似キトオリゴ糖の特異的基質としての生化学的評価をするため、非糖質部（アグリコン）に蛍光性基を新たに導入した新しいタイプの基質も合成している。これらが *Streptomyces griseus* 由来のキチナーゼならびに、*Vibrio furnissii* 由来のキトデキストリ

ナーゼによりすみやかに加水分解することが明らかになった。また、既存の蛍光ラベル化キトビオースやキトトリオースと異なり、チオキトオリゴ糖と蛍光性基の間のグリコシド結合のみを選択的に切断することから、より直接的かつ定量的に活性測定が可能となった点で極めて優れていることも証明した。

第三章においては植物細胞壁に存在して窒素固定バクテリアに対する宿主特異性を提示する糖鎖として知られているNodulation factorsと言われるリポオリゴ糖シグナルの全合成について記述している。複雑な四糖であるキトテトラオース誘導体とみなせるこの化合物およびその類縁体の簡易合成の道を新たに開拓した。

第四章では糖タンパク質分解酵素の基質として極めて興味深い擬似糖ペプチドの酵素—化学合成法について述べられている。高マンノース型糖鎖(Man₅₋₉GlcNAc)を *Arthobacter protophormiae* 由来のエンド-β-N-アセチルグルコシダーゼ(Endo-A)の糖転移活性を用いることによりいとも簡単にこの新規な糖ペプチドアナログの合成を達成している。。

第五章では糖脂質分解酵素セラミドグリカナーゼの基質特異性を解析するために新しい蛍光性糖脂質の合成と有効性について記述されている。この基質はこれまでに報告された基質と異なり、ガラクトース残基のC-6位ベンジル基が存在することでexo型ガラクトシダーゼの作用を阻害するため、セラミドグリカナーゼのみにより分解される事をつきとめている。

以上のように本論文は、擬似複合糖質の分子設計を通して複合糖質の生物学的機能を解明する際に効果的かつ汎用的利用が期待できる様々な特異的基質、リガンド、さらに阻害剤の創製に大きく貢献するものである。よって審査員一同は申請者が北海道大学博士（理学）の学位を授与される資格が十分あるものと認める。