

学位論文題名

Chemoenzymatic Synthesis of Glycopeptides Using
“Polymer Blotting” Strategy

（“Polymer Blotting”法を利用した化学酵素的手法による糖ペプチド合成）

学位論文内容の要旨

糖鎖は核酸やタンパク質と並んで生体を構成する主要成分であり、生体内の情報伝達、タンパク質の品質管理、構造安定化、タンパク質輸送のための標識など様々な高次機能を担っていることが明らかとなってきた。しかしながら糖鎖は核酸やタンパク質に比べはるかに構造的多様性に富んでいるため、これまで一般的な調製法が確立されていなかった。さらに糖鎖の機能は脂質やタンパク質などと結合した複合糖質として機能していることが多いため、その構造情報を含めた機能の研究は未解明部分が極めて多い。

これらの研究を推し進め、さらに医薬の分野などへと活用するためには糖鎖単独のみならず複合糖質の状態でも均一な試料を調製する必要がある。特に糖ペプチドは糖鎖とペプチド双方が極めて多様性に富んでいるため、必要となった構造をそのつど天然物から調達することは事実上不可能であり、その迅速な製造法の開発が期待されている。

本研究では、様々な糖ペプチドを効率的に調製するための方法として、“Polymer Blotting”法を利用した合成法を新たに開発した。複雑な糖ペプチド合成において、化学酵素的手法による合成法が知られているが、従来法では有機溶媒中でのペプチド固相合成と、水溶液中での酵素による糖鎖合成が各々独立しており、目的化合物を得るためには煩雑な操作や多くの時間が必要であった。本研究で開発した方法は、2機能性リンカーによる高分子担体間の「キャッチ&リリース」を基本としており、これによって複雑な糖ペプチドを簡便かつ迅速に合成することに成功した。合成手順を以下に示す：i) ペプチド固相合成法によって糖アミノ酸を含む糖ペプチド合成を行い、その末端に光切断型もしくは酵素切断型の2機能性リンカーを導入する、ii) 糖ペプチドを固相から切り出し、さらにペプチド部位および糖鎖部位の脱保護を行う、iii) 官能基選択的反応を用いて糖ペプチドと水溶性高分子を選択的に結合させ (blotting)、水溶性高分子ブ

ライマーへと導く、iv) 糖鎖がクラスター化した高分子上で、酵素を触媒とする糖転移反応を用いて糖鎖伸長反応を行う、v) 光照射あるいは酵素反応によって高分子から目的糖ペプチドを切り出し、単離する (Figure 1)。

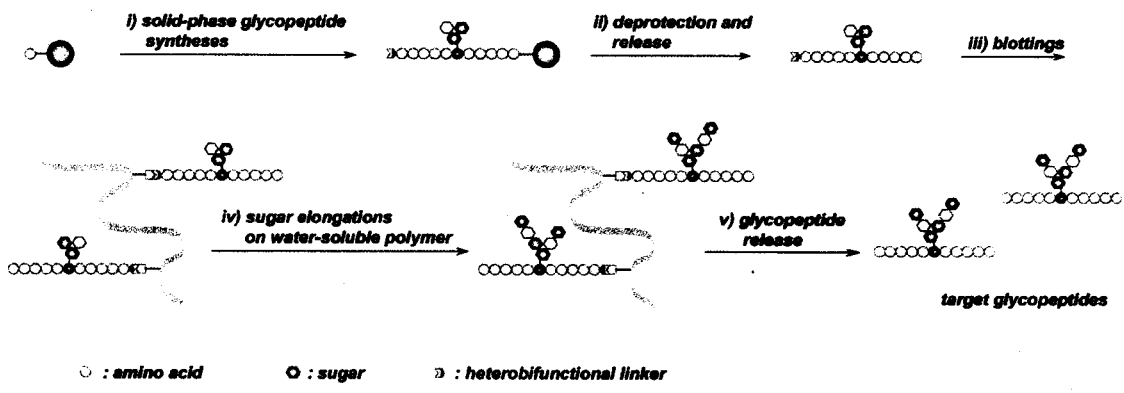


Figure 1. Chemoenzymatic synthesis of glycopeptides using “Polymer Blotting” strategy.

本法により、糖ペプチド固相合成から水溶性高分子上での糖鎖伸長反応までの工程を連続化することが可能となり、複雑な構造を有する糖ペプチドをハイスループット合成することに成功した (例 : Figure 2、MUC1 糖ペプチド)。さらに水溶性高分子プライマーの特性を活かしたコンビナトリアル合成を実施し、MUC1 糖ペプチドライブラリーの構築に成功した。

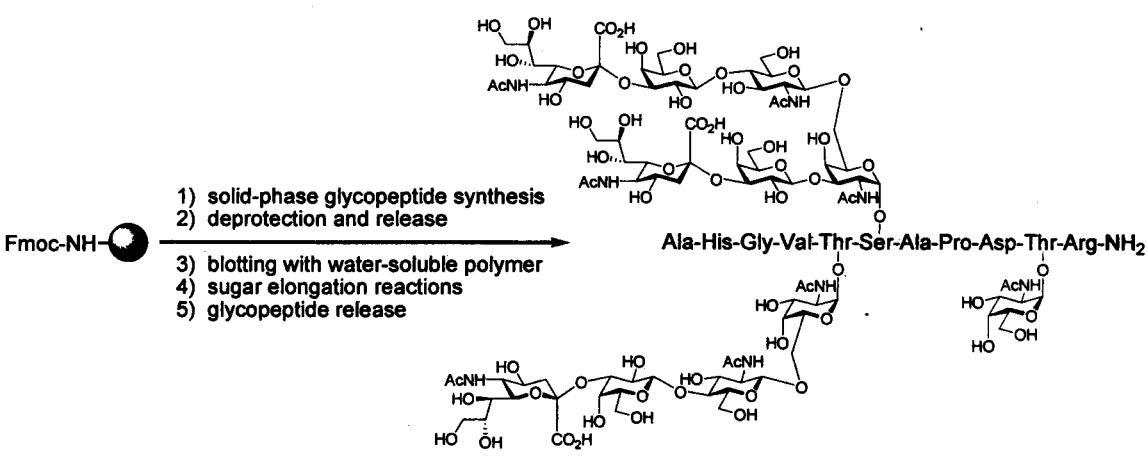


Figure 2. Synthesis of MUC1 glycopeptides using “Polymer Blotting” strategy.

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 西 村 紳一郎

副 査 教 授 坂 入 信 夫 (地球環境科学研究院)

副 査 教 授 田 中 勲

副 査 助教授 出 村 誠

副 査 助教授 門 出 健 次

学 位 論 文 題 名

Chemoenzymatic Synthesis of Glycopeptides Using “Polymer Blotting” Strategy

(“Polymer Blotting” 法を利用した化学酵素的手法による糖ペプチド合成)

糖鎖は核酸やタンパク質と並んで生体を構成する主要成分であり、生体内の情報伝達、タンパク質の品質管理、構造安定化、タンパク質輸送のための標識など様々な高次機能を担っていることが明らかとなってきた。しかしながら糖鎖は核酸やタンパク質に比べはるかに構造的多様性に富んでいるため、これまで一般的な調製法が確立されていなかった。さらに糖鎖の機能は脂質やタンパク質などと結合した複合糖質として機能していることが多いため、その構造情報を含めた機能の研究は未解明部分が極めて多い。

これらの研究を推し進め、さらに医薬の分野などへと活用するためには糖鎖単独のみならず複合糖質の状態でも均一な試料を調製する必要がある。特に糖ペプチドは糖鎖とペプチド双方が極めて多様性に富んでいるため、必要となった構造をそのつど天然物から調達することは事実上不可能であり、その迅速な製造法の開発が期待されている。

本研究で筆者は、様々な糖ペプチドを効率的に調製するための方法として、“Polymer Blotting”法を利用した合成法を新たに開発した。複雑な糖ペプチド合成において、化学酵素的手法による合成法が知られているが、従来法では有機溶媒中での糖ペプチド固相合成と、水溶液中での酵素による糖鎖合成が各々独立しており、目的化合物を得るためには煩雑な操作や多くの時間が必要であった。筆者が開発した方法は、2機能性リンカーによる高分子担体間の「キャッチ&リリース」を基本としており、これによって複雑な糖ペプチドを簡便かつ迅速に合成することが可能である。合成手順は以下の通りである：i) ペプチド固相合成法によって糖アミノ酸を含む糖ペプチド合成を行い、その末端に光切断型もしくは酵素切断型の2機能性リンカーを導入する、ii) 糖ペプチドを固相から切り出し、さらにペプチド部位および糖鎖部位の脱保護を行う、iii) 官能基選択的反応を用いて糖ペプチドと水溶性高分子を選択的に結合させ (blotting)、水溶性高分子プライマーへと導く、iv) 糖鎖がクラスター化した高分子上で、酵素を触媒とする糖転移反応を用いて糖鎖伸長反応を行う、v) 光照射あるいは酵素反応によって高分子から目的糖ペプチドを切り出し、単離する。

本法によって糖ペプチド固相合成から水溶性高分子上での糖鎖伸長反応までの工程を連続化することが可能となり、複雑な構造を有する糖ペプチドをハイスループット合成する

ことに成功した。さらに水溶性高分子担体上での反応の特性を活かすことによって糖転移酵素を利用した糖ペプチドコンビナトリアル合成を可能とし、MUC1 糖ペプチドライブラリーの構築に成功した。以上によって筆者は、「ペプチド」、「糖鎖」双方においてコンビナトリアル合成可能な糖ペプチド合成システム開発に成功した。

これを要するに、筆者は、“Polymer Blotting”法を開発することによって糖ペプチドの効率的かつ網羅的な合成を可能とするシステム構築の道を開拓した。本法によって複雑な構造を有する糖ペプチドを迅速に合成することができるだけでなく、「ペプチド」、「糖鎖」双方の多様性に対応可能な糖ペプチドコンビナトリアル合成を可能とした。さらに筆者は、癌関連研究に応用可能な MUC1 糖ペプチドライブラリーの構築という成果も挙げている。以上の技術は、生体内で重要な役割を担っている糖タンパク質の機能解明、およびそれに関連する医薬品開発や診断技術の発展に大きく貢献するものである。

よって著者は、北海道大学博士（理学）の学位を授与される資格あるものと認める。