



Title	加水分解酵素を用いるグリコシル化反応の効率化と天然糖鎖の合成に関する研究
Author(s)	安河内, 崇
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41560
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	やす こう ち 安 河 内	たかし 崇
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)	
学 位 記 番 号	第 1 4 3 9 7 号	
学 位 授 与 年 月 日	平成 11 年 3 月 25 日	
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科化学専攻	
学 位 論 文 名	加水分解酵素を用いるグリコシル化反応の効率化と天然糖鎖の合成に関する研究	
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 楠本 正一 (副査) 教 授 長谷 純宏 客員教授 豊島 正	

論 文 内 容 の 要 旨

近年、糖鎖の生物学的な役割を詳細に解明するために糖鎖の合成研究が活発に行われている。グリコシダーゼを用いる糖転移反応は高い立体選択性でグリコシル化生成物が得られることや水溶液中で穏和な条件で行えるなどの利点を持っており、新しい糖鎖合成法として注目を集めている。しかしながら、この反応は水中で行われるために供与体基質や生成物である糖転移化合物の加水分解が並行しており、目的物の収率は低い傾向にある。また、酵素の受容体に対する特異性が低いために受容体の複数の水酸基から目的の水酸基のみを選択的に反応させるという位置制御が困難である。本研究ではこれらの欠点を克服し、さらに実際に生物学的に有用な糖質化合物を合成することを目的としている。

第二、三章ではプロテオグリカンの糖鎖と蛋白質のリンカー部に相当する三糖と四糖の合成に関して述べる。四糖の蛍光標識体 GlcA(β 1-3)Gal(β 1-3)Gal(β 1-4)Xyl(β)MU(1) は受容体の部分保護による位置選択的なガラクトシル化やグルクロニダーゼを用いる新規なグリコシル化によって効率的に合成できた (二章)。一方、三糖-セリン複合体 Gal(β 1-3)Gal(β 1-4)Xyl(β 1-O)-Ser(2) の合成においては酵素反応の供与体としてガラクトシルフルオリドを用いることによって糖転移反応の収率を向上させることができた。さらに酵素的に得られたオリゴ糖 *p*-ニトロフェニル (PNP) グリコシドから PNP 基を選択的に切断することによって、これを化学的グリコシル化の基質へと変換した後、セリン誘導体と縮合して2へと導いた (第三章)。

ガラクトシルフルオリドは化学的に不安定であるなどの欠点を有しているために酵素的なグリコシル化の供与体としてより適した基質の探索を行った (第四章)。その結果、3-ニトロ-2-ピリジル (NPy) グリコシドが高い水溶性と反応性を併せ持っており、高い収率で糖転移生成物を与えることを見出した。

さらに検討した結果、NPy グリコシドはグリコシダーゼによる糖転移反応の受容体としても優れていること、また NPy グリコシドはルイス酸で活性化することによって化学的なグリコシル化の供与体としても働くことがわかった。これによって、NPy グリコシドをグリコシダーゼによる糖転移反応の受容体として用いて酵素的に糖鎖を伸張した後に、化学的な方法でさらに複雑な糖鎖化合物へと導く新しい経路を開くことができた (第五章)。

第六章においてはグリコシダーゼの触媒するグリカールへのアルコールの付加反応を利用した2-デオキシグリコシド合成について述べる。本方法はグリコシダーゼによる糖転移反応と同様に、生成物である2-デオキシグリコシドが酵素の加水分解基質であるために目的物の収率が低かったが、反応溶液の pH を酵素の加水分解の至適 pH からずら

して反応を行い、生成物の加水分解を低く抑えることによって収率を大きく向上させることに成功した。

以上の研究はいずれもグリコシダーゼを用いる糖鎖合成法として一般的に適用できる方法論に基づいており、今後様々な糖鎖合成に応用できるものと考えている。

論文審査の結果の要旨

グリコシダーゼによる糖転移反応を支配する因子の考察に基づく、新しい基質の設計や部分保護法の導入などによって、反応の収率や位置選択性などの問題点を大きく解決した。さらにこの酵素反応を化学反応と組み合わせることによって、天然に存在する糖鎖化合物を効率よく合成する新しい手法を示したもので、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。