

Title	固相反応場への濃縮効果を利用したN-結合型糖タンパク質糖鎖の合成研究
Author(s)	時本, 博臣
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/47680">https://hdl.handle.net/11094/47680</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

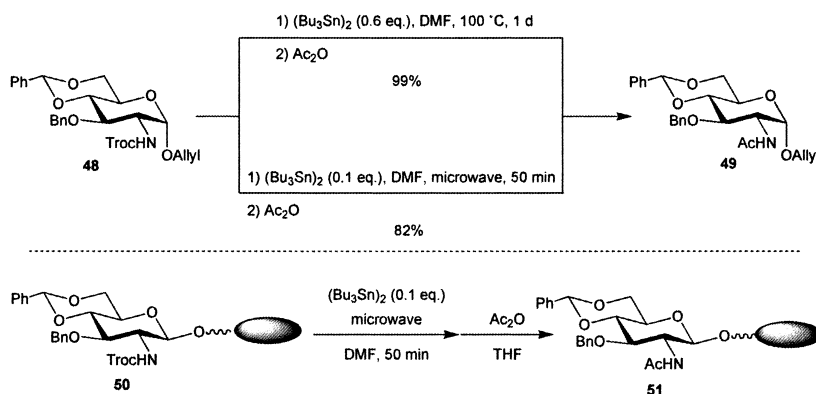
氏名	ときもとひろおみ 時本博臣
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 20862 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科化学専攻
学位論文名	固相反応場への濃縮効果を利用した <i>N</i> -結合型糖タンパク質糖鎖の合成研究
論文審査委員	(主査) 教授 深瀬 浩一 (副査) 教授 村田 道雄 教授 笹井 宏明

## 論文内容の要旨

生物の細胞表面は糖鎖によって覆われており、外界との相互作用のなかには糖鎖が関与するものが多く知られている。これら糖鎖の機能を解明するためには単一の糖鎖を簡便に十分量供給できる固相合成法の確立が強く求められているが、*N*-結合型糖タンパク質糖鎖のような複雑な糖鎖に関しては未だ容易に適応できるものではない。そこで著者は、固相合成法における新たな概念として、“固相上への試薬の濃縮効果”を提案し、その概念に基づいて 1) 固相合成に適した Troc 基の脱保護法、および 2) 固相上での効率的なグリコシル化反応を開発すると共にこれらの方法を用いて 3) *N*-結合型糖鎖の固相合成を検討した。

## 1) 固相合成に適した Troc 基の脱保護法の開発

糖鎖の液相合成においてその有用性が既に周知であるトリクロロエトキシカルボニル (Troc) 基の固相合成法での利用が強く望まれていた。Troc 基の脱保護は通常、亜鉛粉末を用いた不均一条件下で行うため、これまで固相合成法には適応できなかった。そこで著者は、固相合成法にも適用可能な均一条件での新規脱保護法の開発を行い、DMF 中、 $(\text{Bu}_3\text{Sn})_2$  を用い、 $100^\circ\text{C}$  にて 1 日加熱することで定量的に進行することを見出した。またマイクロ波の照射を用いることで反応時間も短縮し、さらに  $(\text{Bu}_3\text{Sn})_2$  の使用量を削減することにも成功した。さらに固相上では疎水性試薬である  $(\text{Bu}_3\text{Sn})_2$  の固相への濃縮効果が相乗的に働き、併せて効率的な Troc 基の脱保護法を開発することができ

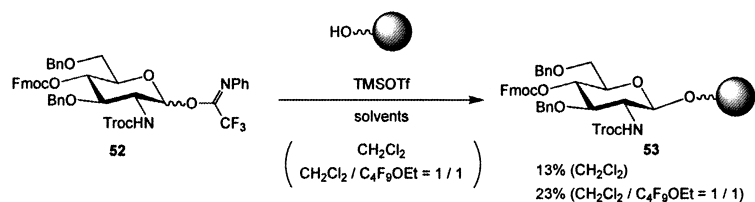


Scheme 1.

た (Scheme 1)。

### 2) 固相上での効率的なグリコシル化反応の開発

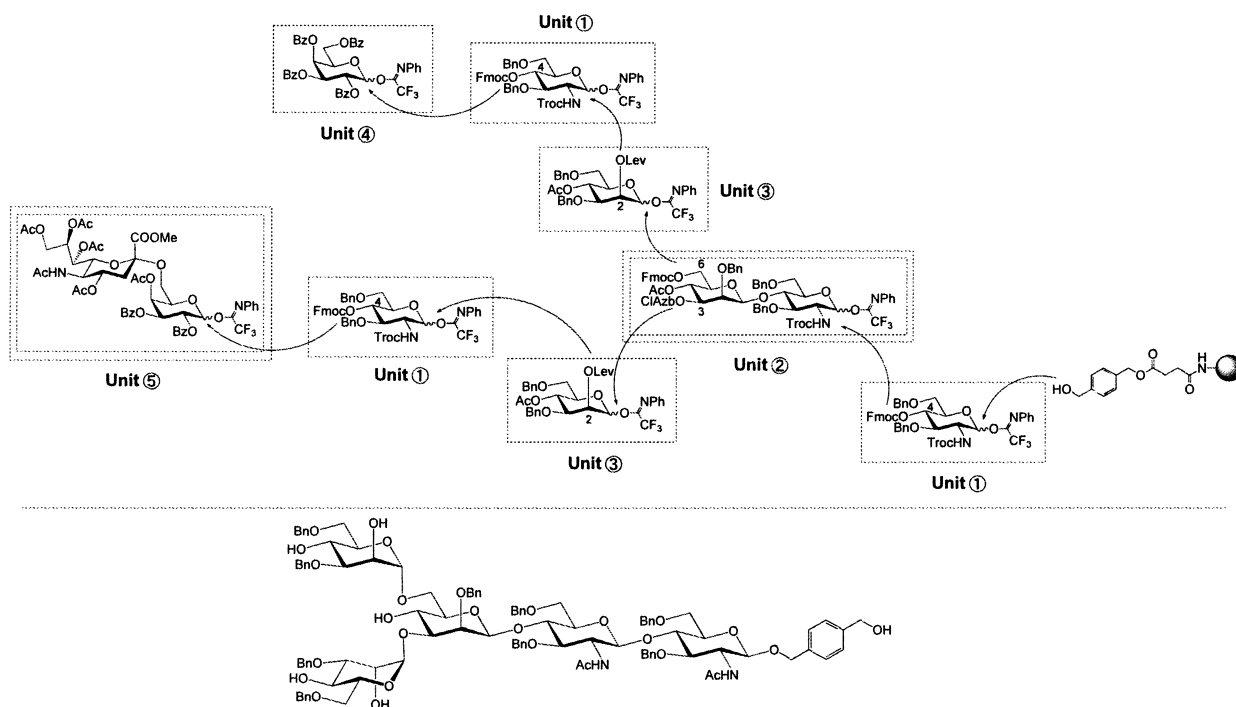
次に、固相合成法に適応したグリコシル化反応の開発を行った。固相場での反応性の低下を補うために、これまでに反応剤の濃度を高くする方法が用いられてきた。しかし、糖供与体などの反応剤を大量に使用することは実用的な固相合成の観点からあまり望ましくない。そこで著者は、ここでも“固相上への試薬の濃縮効果”の概念を適応した。溶媒にフルオラス溶媒やイオン性液体を加えることで、これらの溶媒に難溶性の糖供与体が固相担体内に濃縮され、固相上でのグリコシル化反応の反応性が增大することを期待して検討を行った。その結果、ポリスチレン樹脂を用いたときには、ジクロロメタンに対してフルオラス溶媒であるノナフルオロブチルエーテルを1対1の比率で混合させることで、固相上でのグリコシル化反応の収率を2倍近く向上させることに成功した (Scheme 2)。



Scheme 2.

### 3) N結合型糖鎖の固相合成の検討

以上に確立した方法を用いて、N結合型糖タンパク質糖鎖のライブラリー構築を目指した固相合成を行った。まず、一般的なN結合型糖タンパク質糖鎖の合成に有用な5つのユニットをデザインし、これら各ユニットの合成法を確立した (Scheme 3)。続いてフルオラス溶媒を用いるグリコシル化反応、およびTroc基の脱保護法を有効に活用しながら各ユニットを順次導入し、複合型N結合型糖タンパク質糖鎖の共通中間体である5糖を得ることに成功した。本研究で確立した5つの基本合成ユニットと、固相上での効率的なグリコシル化反応および保護基変換法を併せて用いることでN結合型糖鎖のライブラリー構築が可能であり、将来N結合型糖鎖の生物学的意義を明らかにする上で重要な方法論になりうると期待される。



Scheme 3.

## 論文審査の結果の要旨

### 「固相反応場への濃縮効果を利用したN-結合型糖タンパク質糖鎖の合成研究」

様々な生命現象における糖鎖の重要性が注目されているが、糖鎖機能の解明のために化学合成によって十分な量の糖鎖を供給することが望まれている。本研究では糖鎖を簡便にかつ効率的に合成する方法として固相合成法について検討した。そこで、固相合成法における新たな概念として、“固相上への試薬の濃縮効果”を提案し、その概念に基づいて1) 固相合成に適したトリクロロエトキシカルボニル (Troc) 基の脱保護法、および2) 固相上での効率的なグリコシル化反応を開発すると共にこれらの方法を用いて3) N結合型糖タンパク質糖鎖の固相合成を検討した。

#### 1) 固相合成に適した Troc 基の脱保護法の開発

Troc 基の脱保護は通常、亜鉛粉末を用いた不均一条件下で行うため、これまで固相合成法には適応できなかった。そこで、DMF 中、 $(\text{Bu}_3\text{Sn})_2$  を用い、加熱する条件で定量的に Troc 基を脱保護できることを見出した。さらに固相上では疎水性試薬である  $(\text{Bu}_3\text{Sn})_2$  の固相への濃縮効果が相乗的に働き、効率的な Troc 基の切断が可能であった。

#### 2) 固相上での効率的なグリコシル化反応の開発

固相法に適したグリコシル化法として、溶媒にフルオラス溶媒であるノナフルオロブチルエーテルを加えることで、これらの溶媒に難溶性の糖供与体が固相担体内に濃縮されグリコシル化の反応性が增大することを見出した。

#### 3) N結合型糖タンパク質糖鎖の固相合成の検討

以上の方法を用いて、N結合型糖タンパク質糖鎖のライブラリー構築を目指した固相合成を行った。まず、一般的な N結合型糖タンパク質糖鎖の合成に有用な5つのユニットをデザインし、各ユニットの合成法を確立した。続いてフルオラス溶媒を用いるグリコシル化反応、および Troc 基の脱保護法を有効に活用しながら各ユニットを順次導入し、複合型 N結合型糖タンパク質糖鎖の共通中間体である5糖を得ることに成功した。

以上の成果は固相法による糖鎖の効率合成における基本的な課題を解決したものであり、今後様々な糖鎖合成への展開を可能にするものである。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。