



Title	Synthesis and Function of Mycobacterium Cell Wall Peptidoglycan Fragments
Author(s)	Wang, Qianqian
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/52284
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

Abstract of Thesis

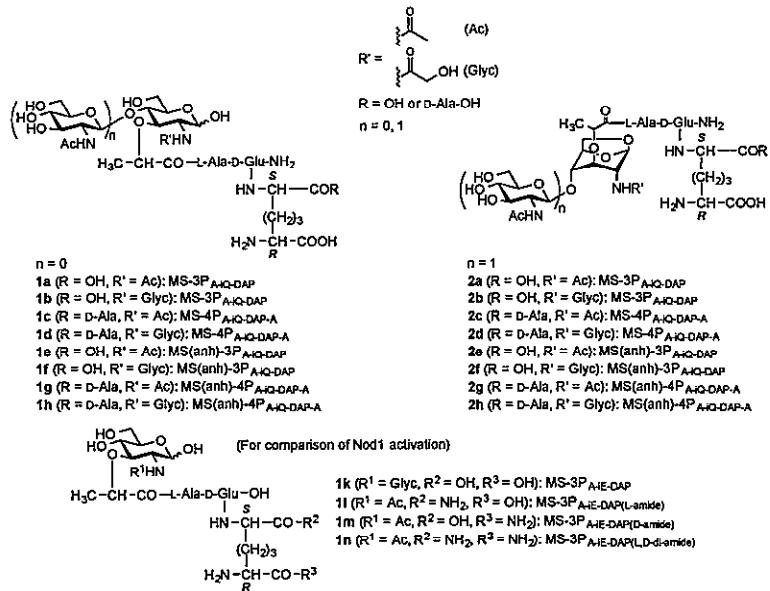
Name (Qianqian Wang)

Title

Synthesis and Function of *Mycobacterium* Cell Wall Peptidoglycan Fragments
(結核菌ペプチドグリカンフラグメントの合成と機能)

Abstract of Thesis

Peptidoglycan (PGN) is a glycoconjugate that constitutes bacterial cell wall and is known as an innate immunostimulant. *Mycobacterium* PGN particularly contains *N*-glycolylmuramic acid (MurNGlyc) in the glycan chain besides the conventional *N*-acetylmuramic acid (MurNAc), along with *meso*-DAP as an amino acid at the branched position. In order to investigate the biological activities of *Mycobacterium* PGN fragments, a series of *meso*-DAP containing *Mycobacterium* PGN fragments (Figure 1), including mono- and disaccharides, along with tripeptide (L-Ala-D-isoGln-*meso*-DAP) and tetrapeptide (L-Ala-D-isoGln-*meso*-DAP-D-Ala) as well as glycolylation and amidation modifications were chemically synthesized in this thesis. An efficient and highly stereoselective synthesis for orthogonally protected *meso*-diaminopimelic acid (DAP) derivatives was developed by using chemoenzymatic reaction, which was advantageous because of mild conditions, short steps, and high stereoselectivity.

Figure 1. Targeted *Mycobacterium* PGN fragments.

The biological function of *Mycobacterium* PGN fragments was evaluated in two aspects: in host and in *M. tuberculosis*. In the view of host's protective system, their immune stimulation via human Nod1 and Nod2 recognition was studied. This was the first study to investigate the immunostimulating ability of *Mycobacterium* PGN fragments with chemically synthesized PGN fragments, which contain *meso*-DAP and *N*-glycolyl (Glyc) muramic acid (MurNGlyc) residues. *Mycobacterium* PGN fragments exhibited very weak hNod1 and hNod2 activation, which provides a proof for the cytosolic immune evasion of *M. tuberculosis*.

In the view of *M. tuberculosis* biosynthetic system, their binding affinity to the extracellular PASTA domain of bacterial Ser/Thr kinase PknB was investigated. Compared with the previous report, more diverse and specific structures were explored, which will help to accumulate more accurate knowledge about the functional mechanism of PknB and design more potent antibiotics.

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏名 (WANG, Qianqian (王 倩倩))		
	(職)	氏名
論文審査担当者	主査 教授	深瀬 浩一
	副査 教授	村田 道雄
	副査 教授	中谷 和彦
	副査 教授	藤本 ゆかり (慶應義塾大学)

論文審査の結果の要旨

結核は、現在でも世界で年間 150 万人が死亡する深刻な感染症である。結核菌は、宿主の免疫機構から逃れて、免疫細胞のマクロファージ内で生存可能であるが、その分子基盤は明らかではない。細菌細胞壁ペプチドグリカン (PGN) は、自然免疫受容体 Nod1 および Nod2 を活性化することで、免疫増強作用を示す。言い換えると、宿主は Nod1 および Nod2 を介して PGN を認識して細菌感染に対する防御機構を活性化する。そこで本研究では、結核菌由来 PGN の免疫増強作用を明らかにするために、その部分構造群の合成研究を行った。結核菌由来 PGN は糖鎖構造部に、グリコール酸で 2 位アミノ基が修飾されたムラミン酸 (MurNGlyc) を含み、ペプチド部位については、*meso*-ジアミノピメリン酸 (DAP) に隣接するグルタミン酸の主鎖カルボン酸がアミド化された構造を有する。そこで、これらの特徴的構造を含む種々のフラグメント構造を合成するため、スケールアップが容易で短工程での合成が可能な化学酵素的手法を開発して鍵中間として *meso*-DAP 誘導体を調製し、別途合成した N-アセチルムラミン酸 (MurNAc) あるいは N-グリコリルムラミン酸 (MurNGlyc) を含む糖鎖との縮合により 20 種以上のフラグメント構造を合成した。

得られた結核菌型 PGN フラグメントを用い、自然免疫受容体 Nod1 および Nod2 の活性化能を測定した結果、ほとんどの結核菌型 PGN フラグメントの免疫増強作用は他の通常の細菌ものに比べて低いことが明らかとなった。これは結核菌の持つ寄生性の分子基盤の一つであると考えられる。

一方、結核菌自身の細胞膜に存在するキナーゼである PknB が、結核菌の増殖を制御することから新規抗結核薬のターゲットとして注目されている。PknB は PASTA ドメインと呼ばれる PGN 認識部位を有しており、本研究では上記の合成 PGN フラグメントを用いて、PASTA ドメインとの相互作用解析を行った。PASTA ドメインと PGN フラグメントのアフィニティーについて、Bio-Layer Interferometry 法という新しい方法を用いて測定を行った。その結果、1,6-アンヒドロ型の MurNAc が比較的強く認識され、糖鎖長が長くなるとより強い親和性を示すことを示した。本結果は、新しい機序に基づく抗菌化合物の開発にも道を開くものである。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。