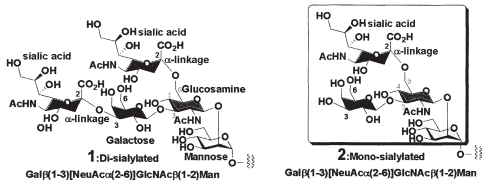
【9】

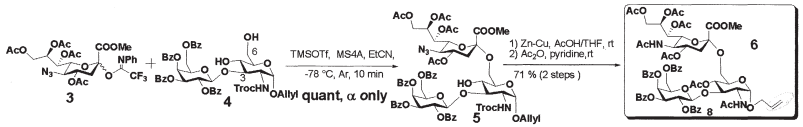
氏　　名	鮑（バオ） 光明（グァンミン） (Guang Ming Bao)
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学 位 記 番 号	第　２４１６８　号
学位授与年月日	平成 22 年 9 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 理学研究科化学専攻
学 位 論 文 名	Synthesis and Clusterization of Galβ(1-3)[NeuAcα(2-6)]GlcNAcβ(1-2) Man Motifs in Exploring the Efficient Molecular Probes of Unique *N*-Glycans （*N*-Glycanの効率的分子プローブ探索を指向したGalβ(1-3)[NeuAcα(2-6)]GlcNAcβ(1-2) Man構造の合成及びクラスター化）
論文審査委員	（主査） 教　授　深瀬　浩一 （副査） 教　授　村田　道雄　　教　授　加藤　修雄

論 文 内 容 の 要 旨

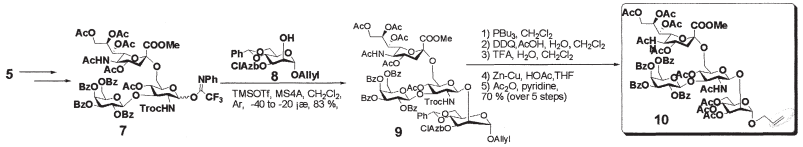


Among the various types of oligosaccharide structures, *N*-glycans are prominent in terms of diversity and complexity. In particular, *N*-glycans containing sialic acids are involved in a variety of important physiological events, including cell-cell recognition, adhesion, signal transduction, and quality control. Although the sialic acid usually links to the galactose through the α(2-3) or α(2-6) glycosyl bonds at the non-reducing end, the oligosaccharide structure such as mono-sialylated Galβ(1-3)[NeuAcα(2-6)]GlcNAc **2** and di-sialylated NeuAcα(2-3)Galβ(1-3)- [NeuAcα(2-6)] GlcNAc **1**, which contain unusual sialyl bond linkages, i.e., α(2-6) linkage to the *N*-acetyl glucosamine, were found in the *N*-glycan chains of several glycoproteins. Interestingly, the complex-type *N*-glycans containing these motifs were also identified in the mouse brain. However, physiological role of NeuAcα(2-6)GlcNAc structure or lectins that recognize this motif have not been known yet. The author therefore designed and synthesized the tri- and tetrasaccharides **14**, **15**, **19**, **20**, and **22** as the molecular probes for the biological studies.

The key to the synthesis was obviously the α-sialylation of the C6-hydroxyl of glucosamine derivative. The author applied the efficient and highly stereoselective α-sialylation with the sialyl imidate donor having the C5- azide function **3** by virtue of the “fixed dipole moment effects”, recently developed in this group. Thus, the reaction of disaccharide **4** and C5-azide imidate **3** in CH_2CH_3CN with 0.2 equivalents of TMSOTf at -78°C gave the desired trisaccharide **5** quantitatively as a single α-isomer. Reductive removal of *N*-Troc group and azide in **5** followed by the peracetylation with Ac_2O gave the key trisaccharide **6**.

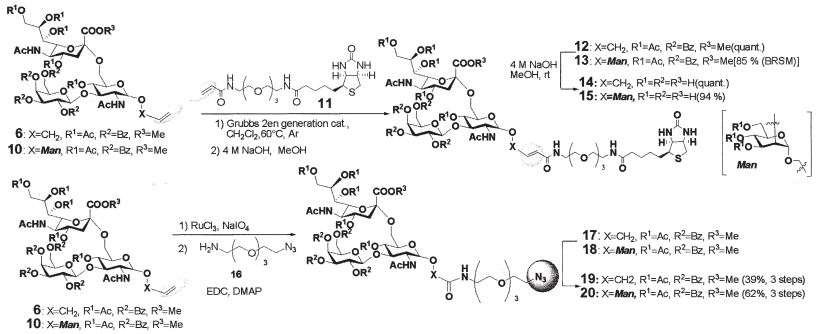


The tetrasaccharide **10** was synthesized from the trisaccharide **5**; after the trisaccharide **5** was converted to the imidate **7**, it was glycosylated with the C2-hydroxyl of the mannose acceptor **8** in CH_2Cl_2 by using the TMSOTf as an activator to give tetrasaccharide **9** in 83%. After the azidochlorobenzyl group at C3-hydroxyl on mannose was removed by the treatment with PPh_3, followed by the DDQ oxidation of the resulting iminophosphorane, the protecting group transformation, i.e., hydrolysis of the benzylidene acetal, reductive removal of the *N*-Troc group, and per-acetylation afforded the key intermediate **10** in 70% for four steps.



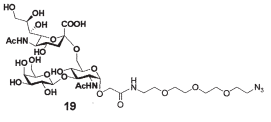
The synthesis of probes were then examined. The cross metathesis of the C1-allyl group of the trisaccharide **6** and **10** with the 5 equivalents of acryloyl derivative of biotin **11** in the presence of the 10 mol% Grubbs’ 2nd

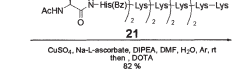
"Ru" catalyst successfully provided the biotin conjugate **12** and **13** in excellent yields. The removal of all protecting groups gave the biotin-probes **14** and **15**. Alternatively, the treatment of **6** and **10** with the $RuCl_3$ and $NaIO_4$ gave the corresponding carboxylic acids in 57% and 67% yields, respectively. These acids were then coupled with the amine **16** and the alkaline hydrolysis of all esters yielded the azides **19** and **20** (69% and 92% in 3 steps), as the promising "click" probes for the bioconjugates with the acetylene functionalities.

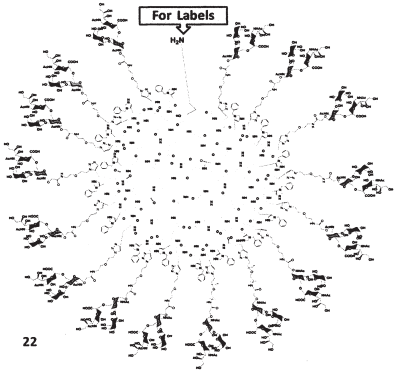


In order to enhance the interaction of these glycan motifs with the target lectins, the glycocluster probe of the trisaccharide **22** was also synthesized. According to our "self-activating" Huisgen 1,3-dipolar cycloaddition", that utilizes the histidine as an internal "Cu(I)"-coordinating ligand, the terminal acetylene of polysine-based dendrimer template **21**, was reacted with azide-partner **19**, in the presence of equimolar amounts of $CuSO_4$, yielding the glycoclusters **22** in 82%.

Thus, the author has synthesized the various probes, i.e., tri- and tetrasaccharide of Gal β (1-3)[NeuAcα(2-6)]GlcNAc, as well as its cluster. These probes will be efficiently be used for the various biological studies.







論文審査の結果の要旨

鮑光明は、「Synthesis and Clusterization of Galβ(1-3)[NeuAcα(2-6)]GlcNAcβ(1-2)Man Motifs in Exploring the Efficient Molecular Probes of Unique N-Glycans (N-Glycan の効率的分子プローブ探索を指向した Galβ(1-3)[NeuAcα(2-6)] GlcNAcβ(1-2) Man 構造の合成及びクラスター化)」という研究題目で以下の研究を実施した。

糖タンパク質の糖鎖は、様々な生体内の認識に関わり、タンパク質の動態や代謝を制御している。Galβ(1-3)[NeuAcα(2-6)] GlcNAcβ(1-2)の 3 糖構造は特異な糖鎖配列を有しており、ごくわずかな糖タンパク質にのみ見出されているがその役割は不明であった。最近、ねずみの脳内神経系にもこの糖鎖が見出されその生理的な役割に興味が持たれた。そこで本研究ではこの 3 糖ならびに 3 糖にマンノース残基の結合した 4 糖を対象に合成研究を行い、さらにそれらを含むプローブを合成した。

鍵となるシアリルグルコサミン構造は、5-アジドシアル酸誘導体を用いることで、完全なα-選択性で構築することに成功した。また効率的合成経路を探索し、3 糖ならびに 4 糖の合成に成功した。プローブ合成については、交差メタセシス反応を用いることで、アリル基を有する保護 3 糖ならびに 4 糖に、ビオチン基を効率的に導入することに成功し、ビオチン含有プローブの合成に成功した。一方アリル基の 2 重結合を酸化開裂してカルボン酸に導いた後、アミド結合形成反応で、末端にアジドを有するオリゴエチレングリコール鎖を糖に導入することに成功し、アジド基含有プローブを合成した。一般に糖鎖と糖鎖認識タンパク質の相互作用は弱いが、多点間相互作用を利用することで、結合強度ならびに選択性が大きく向上することが知られている。上記糖鎖を認識する未知のタンパク質を検出し同定するために、巨大な糖鎖クラスターを合成することとした。均一な高分子を合成するために、分岐状ポリリジン構造を有するデンドリマーの合成について検討した。先にアジドと末端アルキンの Cu(I)を触媒とするクリック反応において、適当な位置にヒスチジン残基を配置させることで、定量的にクリック反応が進行することが当研究室で見出されていた。そこでその方法を適用して、上記の 3 糖アジドとデンドリメリックポリリジンとのクリック反応を定量的に行い、3 糖を 16 個有する巨大な糖鎖デンドリマーの合成に成功した。これらのプローブは共同研究者によって糖鎖認識タンパク質の同定に用いられる予定である。

以上のように、鮑光明は高度な糖鎖合成とプローブ合成に成功し、糖鎖化学の発展に貢献した。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。