



Title	ケミカルバイオロジーへの展開を指向したフシコクシン変換反応の開発とその応用
Author(s)	樋口, 雄介
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58606
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	ひ 橋 口 雄 介
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学 位 記 番 号	第 2 4 3 3 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 23 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	ケミカルバイオロジーへの展開を指向したフシコクシン変換反応の開発 とその応用
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 加藤 修雄 (副査) 教 授 笹井 宏明 教 授 村田 道雄

論文内容の要旨

14-3-3タンパク質は全真核生物において高度に保存されているタンパク質である。その機能は、セリン/スレオニンキナーゼによってリン酸化されたリン酸化タンパク質を認識し会合体を形成することで発現する。フシコクシン(FC)、コチレニン(CN)は、共に植物ホルモン様活性を示す天然物であるが、後に、14-3-3と植物原形質膜にあるH⁺-ATPaseの会合体に対して、さらに安定なternary complexを形成することがその活性の本質にあることが示された。また、CNには優れた抗がん活性があることが知られているが、14-3-3が標的とするリン酸化タンパク質はH⁺-ATPase以外にも200以上知られており、さほど奇妙ではない。その作用機序を考えればFC,CNの誘導体を用いて14-3-3の機能を制御できることと考えられる。しかしFC,CNの14-3-3のpositive modulatorとしての機能に着目してFCの構造を変換した研究はほとんどない。

そこでまず、FCの構造変換方法を開発した。その結果、糖鎖とFC8位のヒドロキシ基をビスマセトナイト保護する方法を見出した。これによって、FCに存在する12位ヒドロキシ基、19位アセトキシ基のみを選択的に反応させることができた。さらに、16位メトキシ基を脱離させることができることを見出し、これによって生じた、エキソメチレンを利用し、3位、16位を様々な構造に変換できることを示した。

続いて、13位の修飾を検討した。ビスマセトナイト保護に続き、12位のヒドロキシ基を酸化し、13位でのアルキル化を行った。この反応は立体選択的に進行し、置換基はα面にのみ導入された。そこで、この反応を利用して14-3-3にC末端で結合するmode 3選択的14-3-3 positive modulatorを設計合成した。C. Ottmann博士との共同研究によりX線結晶構造解析を行い、このFC誘導体がmode 3選択性を有することを示唆する結果を得た。この抗がん活性を評価したところ、弱いながらもCN様の抗がん活性を示し、このことから、少なくともCNの抗がん活性の一部はmode 3のリン酸化タンパク質と関連している可能性が示唆された。

さらに、糖鎖にかわる置換基を導入する目的で、FCアグリコンの9位ヒドロキシ基に2-アミノエチル基を導入した化合物を合成した。MTTアッセイの結果、これらの中には配糖体以上の活性を示す誘導体も見出された。そこで、アミノ基に環境応答性蛍光基を導入した。細胞を共焦点レーザー顕微鏡にて観察したところ、蛍光が小胞体に局在化することから、その標的が小胞体に存在することが示唆された。

以上のように、本研究ではFCの構造変換反応を開発し、これを応用して特定の機能を有する誘導体を合成することが出来た。これらの誘導体は、それぞれ非常に興味深い結果を示した。しかし、これらは1つの応用例であり、今後、本研究によって開発された手法を基に様々な機能を有するFC誘導体が創出可能になると考える。

論文審査の結果の要旨

本論文は、全真核生物において高度に保存されている 14-3-3 タンパク質の機能を有機低分子化合物によって制御することを目的に、14-3-3 タンパク質の positive modulator として機能するジテルペン配糖体・フンコクシン (FC) およびコチレニン (CN) の化学構造を変換し、ケミカルバイオロジーの展開を可能とする機能化ツールの創製に関する研究成果を纏めたものである。

FC/CNが、14-3-3 タンパク質と植物原形質膜にある H^+ -ATPase の binary complex に対して、さらに安定な ternary complex を形成すること、また、CN には優れた抗がん活性があることが知られているが、14-3-3 タンパク質の機能 modulator としての観点から FC/CN の化学構造を変換した研究はほとんど行われていない。そこでまず、FC の構造変換方法を開発した。その結果、糖鎖上の水酸基と 8 位水酸基をビスアセトニドとして保護する方法を開発した。これによって、FC に存在する 12 位水酸基、および 19 位アセトキシ基のみを選択的に化学変換することを可能とした。さらに、16 位メトキシ基を強塩基によって脱離させることができることを見出し、生じたエキソメチレンを利用して、3 位、16 位を様々な構造に変換できることを示した。

続いて、13 位の修飾を検討した。ビスアセトニド保護に続き、12 位水酸基を酸化してケトンに変換し、13 位でのアルキル化を行った。この反応は立体選択的に進行し、置換基は α 面にのみ導入されることを明らかにした。この反応を利用して 14-3-3 タンパク質に C 末端で結合する mode 3 型リン酸化ペプチド選択的に ternary complex を形成しうる positive modulator を設計・合成した。実際、ternary complex の X 線結晶構造解析を行い、この FC 誘導体が mode 3 選択性を有することを示唆する結果を得た。さらに、その抗がん活性を評価したところ、弱いながらも CN 様の抗がん活性を示した。したがって、少なくとも CN の抗がん活性の一部は mode 3 のリン酸化タンパク質と関連している可能性が示唆された。

さらに、糖鎖にかわる置換基を導入する目的で、FC アグリコンの 9 位水酸基に 2-アミノエチル基を導入した化合物を合成した。MTT アッセイの結果、これらの中に配糖体以上の活性を示す誘導体も見出した。そこで、アミノ基に環境応答性蛍光基を導入し、共焦点レーザー顕微鏡にて評価した結果、蛍光が小胞体に局在化することから、その標的が小胞体に存在することが示唆された。

以上のように、本研究では FC の構造変換反応を開発し、さらにその成果を応用して特定の機能を有する FC 誘導体の創製に成功するとともに、それら誘導体が意図した性質を有することを確認した。

本研究によって開発された化学変換法は 14-3-3 タンパク質に対する positive modulator であるとともに、様々な機能を付与した FC 誘導体の創出を可能とする重要な成果である。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。