Osaka University Knowledge Archive

Title	糖鎖合成の効率化を目指した新しい反応手法の開発
Author(s)	増井, 誠二
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61480
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　増井誠二　）	
論文題名	糖鎖合成の効率化を目指した新しい反応手法の開発

論文内容の要旨

糖鎖はタンパク質やDNAに次ぐ第三の生体高分子であり，多様な構造と生物機能を持つ．糖鎖の機能発現は個体の恒常性の維持にも重要な役割を果たしている．さらに最近の糖鎖研究の成果により，発生，幹細胞，iPS，分化，老化，エピジェネティックスをはじめ，多くの生理的な過程における糖鎖の役割が解明されており、抗体医薬、がんのバイオマーカーなどの医薬分野においても糖鎖が重要視されている[1]．糖鎖機能の中でも重要な機能が自己・非自己の認識である．糖鎖は免疫，炎症，がん等に深く関与している．例えば，細胞壁ペプチドグリカン（PGN）やグラム陰性菌リポ多糖（LPS）などの細菌由来複合糖質は，自然免疫受容体を介して，免疫系を活性化する[2]．また微生物由来の糖鎖に加え，自己由来の糖鎖も，糖鎖認識タンパク質であるレクチンと相互作用して，免疫活性化や免疫抑制に関わることも明らかにされてきた[3]．

多くの糖鎖は構造上の不均一性があり，また他の夾雑物を含まない形で天然から純粋な形で獲得することはしばしば困難である．そこで糖鎖の化学合成は，他の夾雑物のない均一構造の糖鎖を与えることができるので，合成糖鎖を用いた糖鎖の機能解明に大きく貢献してきた．本研究では糖鎖合成の効率化を目指し，糖の官能基変換とグリコシル化反応について基礎的な検討を行った．研究内容は，糖のヒドロキシ基の直接的なアミノ化反応（第２章），酸性シリカゲルを用いたフロー系での速度論的Fischer グリコシド化反応（第３章），マイクロフロー系の小スケール化とそれを用いたβ選択的グリコシル化反応（第４章）という3つのテーマからなる．

第2章　糖のヒドロキシ基の直接的なアミノ化反応

糖のヒドロキシ基の直接的なアミノ化反応は，ある種のLPSに含まれる2,3-ジアミノ-2,3-デオキシ-D-グルコースの合成を目指したものである．酸化・還元能を有するイリジウム錯体$[(CpMe_5)Ir(NH_3)_3]I_2$を触媒に用いて，遊離のヒドロキシ基のカルボニル基への酸化，アミンとのイミン形成，還元によるアミノ化を一挙に行う反応を利用するものである[4,5,6]．本反応については反応の立体化学が検討されたことはなく，モデル基質を用いて，明らかにするとともに，糖を基質に用いた場合のscope & limitationを明らかにした．（図1）

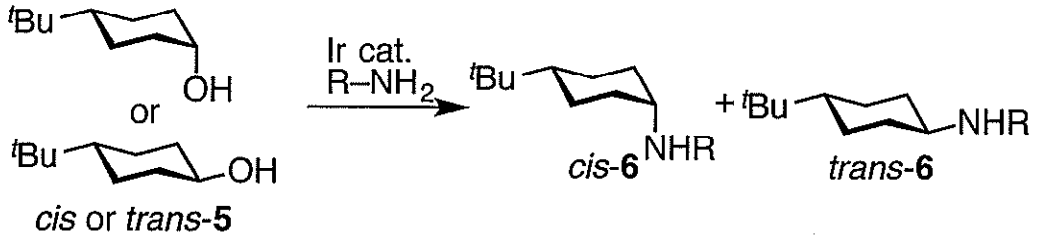

図1 ヒドロキシ基の直接的アミノ化反応

第3章 酸性シリカゲルを使ったフロー系での速度論的 Fischer グリコシド化反応

多くの６炭糖では，ピラノース構造の方がフラノース構造よりも熱力学的に安定であり，天然にもピラノース構造として存在するものが多い．一方，ガラクトフラノースは，結核菌細胞壁，真菌など多くの微生物や原虫に含有されている[7]．ヒトなどの動物はガラクトフラノース構造を有さないので，ガラクトフラノースは異物として認識される．例えば，動物はintelectin-1というガラクトフラノースに結合する分泌型のレクチンを産生する．Intelectin-1は主に腸管の杯細胞から分泌される糖タンパク質で，これまでに炎症や寄生虫感染に関与すること等が報告されている[8]．また近年intelectin-1が上皮型悪性中皮腫で産生され，胸水中に分泌されていることが報告された．また，血清中にβ-D-ガラクトフラノースを認識する抗体も産生される[6]．このようにガラクトフラノースは単純な構造ではあるものの，免疫ア

ジュバントとしての利用が可能である．上述のように６炭糖では，ピラノース構造の方が熱力学的に安定であるので，フラノース構造を得るためには複数段階が必要である．本研究では，フロー反応を用いて速度論的にFischer グリコシル化反応を行うことにより，１段階で６炭糖フラノースを合成する方法について検討した (図2).

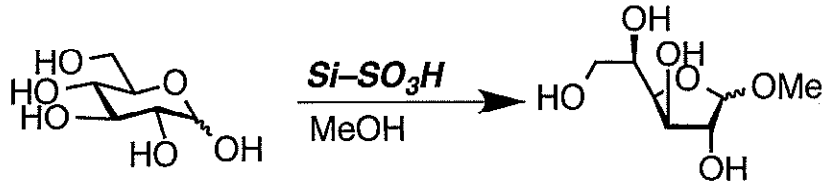

図2　酸性シリカゲルを使ったフロー系での速度論的 Fischer グリコシド化反応

第4章　マイクロフロー系の小スケール化とそれを用いたβ選択的グリコシル化反応

マイクロフロー装置を利用する際の問題点の一つが，デッドボリュームである．マイクロフロー系ではシリンジからマイクロミキサーを繋ぐチューブ，チューブリアクターからクエンチャーまでのチューブの中などの流路内に溶液が残留する．すなわち，実際の反応に利用できる溶液量は注入量から流路内体積を差し引いたものとなる．このロスを無くすためにHPLC用の Rheodyne インジェクターを用いた反応装置を開発した．

糖鎖合成の鍵となるのが立体選択的なグリコシル化反応である．グリコシル化反応の化学選択性や立体選択性を制御するために，しばしば低温化での厳密な温度制御が必要とされる．グリコシル化反応ではルイス酸を活性化剤に用いることが多いが，ルイス酸添加時に脱離基や酸素官能基などルイス塩基との中和熱と反応熱が同時に生成するので，これらの熱の制御が選択性に大きな影響を及ぼす．そこでマイクロフロー法による効率的な除熱と温度制御がグリコシル化反応の制御に有効である．今回は Crich らが報告した βマンノシル化反応を小スケールのフロー系で検討した[9](図3)

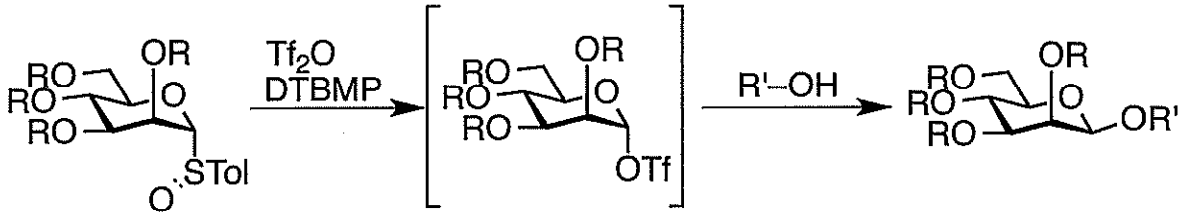

図3 マイクロフロー系の小スケール化とそれを用いたβ選択的グリコシル化反応

Reference

1. E. Miyoshi, M. Nakano, *Proteomics* **2008**, *8*, 3257-3262.
2. Y. Fujimoto, K. Tanaka, A. Shimoyama, K. Fukase, *Methods Enzymol.* **2010**, *478*, 323-324.
3. M. Sato, T. Adachi, T. Tsubata, *J. Immunol.* **2007**, *178*, 2901-2907.
4. Fujita, K.; Li, Z.; Ozeki, N.; Yamaguchi, R. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2687.
5. Kawahara, R.; Fujita, K.; Yamaguchi, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 15108.
6. Kawahara, R.; Fujita, K.; Yamaguchi, R. *The 92nd Annual Meeting*, **2012**, 1L1-06.
7. Peltier, P.; Euzen, R.; Daniellou, R.; Nugier-Chauvin, C.; Ferrieres, V. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 1897–1923.
8. Washimi K. PLoS One. **2012**, *7*, e39889.
9. D. Crich; S. Sun, J. Org. Chem. **1997**, *62*, 1198.

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　増井　誠二　）			
論文審査担当者		（職）	氏　名
	主 査	教授	深瀬　浩一
	副 査	教授	久保　孝史
	副 査	教授	笹井　宏明

論文審査の結果の要旨

増井誠二は、「糖鎖合成の効率化を目指した新しい反応手法の開発」と題した以下の研究を行った。

糖鎖の化学合成は、他の夾雑物のない均一構造の糖鎖を与えることができるので、糖鎖の機能解明に大きく貢献してきた。本研究では糖鎖合成の効率化を目指し、糖の水酸基の直接的なアミノ化反応、酸性シリカゲルを用いたフロー系での速度論的 Fischer グリコシド化反応、マイクロフロー系の小スケール化とそれを用いたβ選択的グリコシル化反応という 3 つの課題について基礎的な検討を行った。

水酸基の直接的なアミノ化反応として、酸化・還元能を有するイリジウム錯体 $[(CpMe_5)Ir(NH_3)_3]I_2$ を触媒に用いて、遊離のヒドロキシ基のカルボニル基への酸化、アミンとのイミン形成、還元によるアミノ化を一挙に行う方法が見出されていた。本研究ではモデル基質を用いて、反応の立体選択性を明らかにし、糖を基質に用いたアミノ化に成功した。

多くの 6 炭糖では、ピラノース構造がフラノース構造よりも熱力学的に安定である。一方、ガラクトフラノースは、結核菌細胞壁、真菌など多くの微生物や原虫に含有されており、ガラクトフラノースは異物として認識される。6 炭糖では，ピラノース構造の方が熱力学的に安定であるので，フラノース構造を得るためには複数段階が必要である。本研究では、フロー反応を用いて速度論的に Fischer グリコシル化反応を行うことにより、1 段階で 6 炭糖フラノースを合成する方法を確立した。

マイクロフロー合成は、温度制御が容易であるなどの利点を有するが、その問題点の一つがデッドボリュームの存在であり、これによる基質のロスが天然物合成などの多段階合成へのマイクロフロー合成の適用を阻んできた。本研究では、このロスを無くすために HPLC 用の Rheodyne インジェクターを用いた反応装置を開発した。β マンノシル化反応はグリコシル化反応の中でも立体制御が困難であることが知られており、高い選択性を得るためには、反応が進行し得る限りの低温で反応を行う必要がある。そこでこの装置を用いて小スケールで条件検討を行い、β マンノシル化反応の最適条件を見出した。

以上の研究により、増井誠二は、糖鎖合成の効率化のための有用な知見を得た。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。