

# アルキンを有する代謝安定型 GM3 アナログの創製と 光反応性基の開発に向けた基礎研究

2015年度

太田 英介

# 主 論 文 要 旨

報告番号	Ⓐ 乙 第	号	氏 名	太田 英介
主 論 文 題 目：				
アルキンを含む代謝安定型 GM3 アナログの創製と光反応性基の開発に向けた基礎研究				
(内容の要旨)				
<p>天然物や生理活性分子を駆使し、生命現象を解明するケミカルバイオロジー研究が、国内外で活発に進められており、その解析方法論も多く開発されている。一方で、脂質のケミカルバイオロジー研究は、依然として難しい場合が多い。本研究で着目する糖脂質は、1 分子ではなく一過的に集合体を形成することで、機能を発揮すると考えられていることから、生細胞を用いた機能解析が必須である。しかしながら、糖脂質は細胞内酵素によって容易に代謝されるため、糖脂質そのものをプローブとして利用しにくい。本研究では、糖脂質のケミカルバイオロジー研究に向けて、現状の糖脂質プローブの問題点を克服できる新たな方法論を提案し、その有効性の実証に取り組んだ。</p> <p>第一章では、本研究の着想に至る背景と、具体的な目的について述べた。冒頭では、当研究室で着目しているガングリオシド GM3 の報告されている機能とその代謝経路について簡単に纏め、最近当研究室で開発された代謝安定型 GM3 アナログの設計コンセプト、およびその有効性について言及した。一方、これまでに報告されている GM3 の光親和性プローブを用いた実験結果を整理し、それらの問題点（代謝不安定性と光親和性標識基の構造と導入位置）を明確にした。このような背景を考慮し、GM3 のケミカルバイオロジー研究を遂行する具体的な解決策、すなわち理想的な GM3 の光親和性プローブを提案し、これを実現するために達成すべき 2 つの課題（代謝安定型 GM3 アナログへの検出基アルキンの導入、糖部に導入できる非疎水性光反応性基の開発）を示した。</p> <p>第二章では、代謝安定型 GM3 アナログへのアルキンタグの導入について述べた。合成に関しては、アルキン部位の導入と効率的グリコシル化反応のため、保護基の最適化が重要であった。特にグリコシル化反応では、保護基によるアクセプターの求核性を向上させることが、目的物を得るためには必須であった。合成した化合物の生物活性評価では、アルキンの位置によって生物活性が異なることを見出し、GM3 アナログとしての生物機能に影響を与えないアルキンの位置を決定した。</p> <p>第三章では、糖-タンパク質相互作用の解析を指向した光反応性基の開発に関する基礎検討について述べた。既存の光反応性基の特徴を概観し、光反応性基として一置換 <math>\alpha</math>-ケトアミドを設計した根拠を示した。マンノースと Concanavalin A の相互作用を糖-タンパク質相互作用のモデルとして採用し、マンノースプローブを設計した。プローブの水中での光分解速度および分解物の解析、等温滴定カロリーメトリーによる相互作用の熱力学的評価、さらに光親和性標識実験の結果、未だ改善の余地はあるものの、一置換 <math>\alpha</math>-ケトアミドが非疎水性光親和性標識基として機能することが示唆された。さらに、分解物の解析過程で見出した新規光誘導型シクロプロパノール形成反応についても纏めた。Na-プロトンを持たない <math>\alpha</math>-ケトアミドでは、本反応が定量的に進行することを見出した。</p> <p>第四章では、O<math>\alpha</math>-プロトンを持たない <math>\alpha</math>-ケトエステルの光反応では、分子間でカップリング反応が進行することを見出し、これについて詳細を纏めた。カップリングパートナーとしては、アルコールやアミドなど様々な分子を利用でき、ヘテロ原子に隣接する 1 級もしくは 2 級 C-H 結合を直接官能基化できた。また、本光反応をアミノ酸誘導体とのカップリング反応にも応用できることを示した。これらの結果は、<math>\alpha</math>-ケトエステルが光親和性標識に利用可能であることを示唆している。</p>				

## SUMMARY OF Ph.D. DISSERTATION

School Fundamental Science and Technology	Student Identification Number	SURNAME, First name OTA, Eisuke
<b>Title</b>  Studies on development of alkyne-tagged sialidase-resistant GM3 analogues and photoaffinity groups		
<b>Abstract</b> <p>Chemical biology research of natural products or bio-active compounds has been actively studied. In contrast, understanding the functions of glycolipids by means of chemical biology is still challenging. Considering the difficulties for handling of membrane proteins and microdomains, which are transiently formed depending on glycolipids functions, all experiments for analysis of glycolipids should be conducted at cellular level. But molecular probes based on native glycolipids are often ineffective due to their facile metabolism in living cells. In this thesis, author focused on proof-of-concept studies of novel methodologies applicable for chemical biology research in glycolipids.</p> <p>In chapter 1, background of ganglioside GM3 and purpose of this research was mainly described. Then, concepts of molecular design and validity of sialidase-resistant GM3 analogue, recently developed by Sodeoka group, was introduced as a key molecule in this study. Based on drawbacks of reported photoaffinity probes of GM3, the author designed new metabolically stable photoaffinity probes, and proposed two challenges to be addressed in order to develop the desired probes.</p> <p>In chapter 2, the first challenge, synthesis and biological evaluation of sialidase-resistant GM3 analogue with an alkyne tag, was described. For the synthesis, optimization of the protecting group was essential for efficient glycosylation and introduction of alkyne moiety. Biological evaluation of the synthetic analogues revealed that the position of alkyne in lipid part affected the biological activity, and appropriate position of alkyne was determined.</p> <p>In chapter 3, the second challenge, attempts at development of novel non-hydrophobic photoaffinity groups toward analyzing sugar-protein interaction, was described. To examine the potential of <math>\alpha</math>-ketoamide as a new photoaffinity functional group, mannose and its binding protein Concanavalin A were selected, and several mannose derivatives possessing an <math>\alpha</math>-ketoamide functionality were prepared. Preliminary biochemical experiments revealed the designed probes successfully labeled Con A by photo-irradiation, though there is a room for improvement of efficiency. In addition, scope and limitation of an interesting photo-induced cyclopropanol formation reaction of <math>\alpha</math>-ketoamides discovered during the course of above studies were also summarized.</p> <p>In chapter 4, photochemical reaction of <math>\alpha</math>-ketoesters was described. Photolysis of <math>\alpha</math>-ketoesters without <math>O\alpha</math>-protons resulted in the formation of coupling products with alcohols, amides, and so on. The coupling reaction with an amino acid derivative also proceeded smoothly to give <math>\beta</math>-amino acid derivatives, suggesting the potential of <math>\alpha</math>-ketoesters as a photoaffinity group.</p>		