



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

KDNを有するガングリオシドの系統的合成及びその 生物学的機能の解明

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 寺田, 知弘 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2412

氏名(本籍)	寺田知弘(愛知県)		
学位の種類	博士(農学)		
学位記番号	農博甲第71号		
学位授与年月日	平成8年3月14日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻		
研究指導を受けた大学	岐阜大学		
学位論文題目	KDNを有するガングリオシドの系統的合成及びその生物学的機能の解明		
審査委員	主査	岐阜大学教授	長谷川 明
	副査	岐阜大学教授	木曾 眞
	副査	信州大学教授	茅原 紘
	副査	岐阜大学教授	原 徹夫
	副査	静岡大学教授	碓氷 泰市
	副査	岐阜大学助教授	石田 秀治

論文の内容の要旨

細胞表層には糖蛋白質や糖脂質(ガングリオシド)が存在し、糖鎖部分を細胞外に背向させ、外界の情報や自己の存在を顕示し、ホルモン、ウイルス、バクテリア、細菌毒素、その他のレセプター機能をはじめ、細胞間認識や細胞の分化、増殖、がん化、受精免疫などの基本的な生命現象に深く関与する分子種である。その化学構造は炭素9分子から成る糖酸、即ちシアル酸が各種のオリゴ糖鎖の特定部位に $\alpha(2\rightarrow3)$ 、 $\alpha(2\rightarrow6)$ あるいは $\alpha(2\rightarrow8)$ にてグリコシド結合し、更に糖鎖還元末端に分子多様性のセラミドが β -配当体結合している。このガングリオシドは生体内にごく微量しか存在せず、オリゴ糖鎖構造の多様性に加えて脂質部分にも多様性があり、天然から純粋な単一化合物として得ることは困難である。この多彩な生物活性を担うガングリオシドの生物学的機能を分子レベルで行うためには、合成化学的手段による天然化合物及びその類縁体の合成が必要不可欠な課題である。

本研究ではこの問題に取り組み、ガングリオシドのうち、とくにKDNを有するガングリオシドを系統的に合成し、その生物学的機能の解明を目的とした。KDNは1986年、井上らによってニジマス卵表層胞中のポリシアロ糖蛋白質(PSGP)より単離された新規シアル酸であり、C-5位のN-アシル基が水酸基に置換されていることが構造上の特徴である。KDN-ガングリオシドは

KDN-GM₃をはじめとする数種類が発見されており、卵巣をはじめとする生殖器官に局在していることからニジマスの配偶子形成、受精に深い関わりがあると考えられている。また、このKDNの α -グリコシド結合は、シアル酸のそれと比べてシアリダーゼによって切断されにくい性質を有する一方で、シアル酸の有する生物的機能は保持している場合がある。この事実はKDN-ガングリオシドの生物学的意義とともに、将来新しい生理活性物質の開発に向けての期待がもたれる。

KDN-ガングリオシド合成の問題点はシアル酸の場合と同様、熱力学的に不安定なKDNの α -配糖体の合成である。この問題に対しKDNチオグリコシド誘導体を合成し、適切に保護されたガラクトース、ラクトース受容体を用い、アセトニトリル中、反応促進剤に*N*-沃素こはく酸イミド-TMSOTfを作用させることにより解決し、KDN α (2-3) Gal、KDN α (2-6) Gal及びKDN α (2-3') Lacを合成する事ができた。こうして得られたKDN-GM₃, GM₄糖鎖をガングリオシドへと導くために常法に従い、糖鎖のC-1位置換基(SE基)をBF₃・エーテルで除き、CCl₃CNでイミデートを合成する。得られた糖鎖にアジドスフィンゴシンを β -グリコシドとして導入し、アジド基の選択的還元、脂肪酸の導入、保護基の除去という共通した反応経路により、目的化合物であるKDN-GM₃, KDN-GM₄を合成した。

一方、縮合後のKDN α (2-3) Galは3段階を経て非還元末端側メチルチオグリコシド誘導体に導いた。これをDMTST用いて、還元末端側3糖、4糖アクセプターと縮合して糖鎖部分を構築した後、常法に従って目的化合物KDN-lacto-/neolactotetraosylceramide, KDN-Le^xを合成した。

また、KDN α (2-6) Galも同様に、メチルチオグリコシド誘導体へと導き、還元末端側3糖と縮合した後、常法に従ってKDN- α (2-6)-lacto/ neolactotetraosylceramideを合成した。

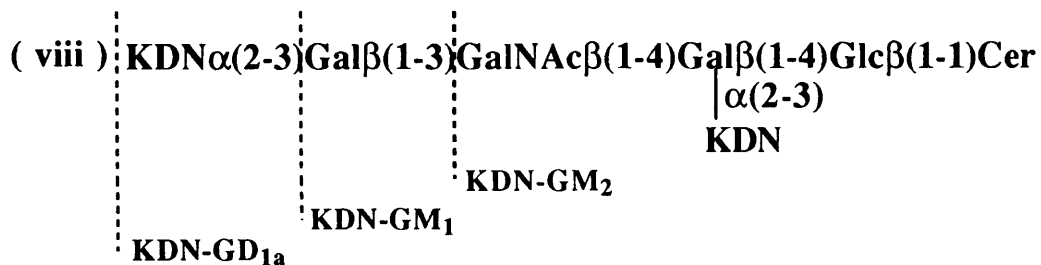
更に、KDNチオグリコシド誘導体と3', 4'位遊離のラクトースアクセプターと縮合して得られた糖鎖に、*N*-フタロイルガラクトサミン誘導体を導入し、4段階を経てKDN-GM₂糖鎖を合成した。この糖鎖を常法に従ってKDN-GM₂ガングリオシドへと導く一方、ガラクトース及びKDN α (2-3) Galチオグリコシド誘導体と縮合して、目的化合物であるKDN-GM₁及びKDN-GD_{1a}ガングリオシドの合成に成功した。

以上、本研究で確立したKDN-ガングリオシドの系統的合成の成功は、他系列KDN-ガングリオシド合成にも応用できるとともに、広くシアロ複合糖質の合成研究ならびに分子レベルでのKDN-ガングリオシドの機能解析研究に大いに貢献するものと考えられる。

- (i) KDN α (2-3)Gal β (1-1)Cer
- (ii) KDN α (2-3)Gal β (1-4)Glc β (1-1)Cer
- (iii) KDN α (2-3)Gal β (1-4)GlcNAc β (1-3)Gal β (1-4)Glc β (1-1)Cer
- (iv) KDN α (2-3)Gal β (1-4)GlcNAc β (1-3)Gal β (1-4)Glc β (1-1)Cer
- (v) KDN α (2-3)Gal β (1-4)GlcNAc β (1-3)Gal β (1-4)Glc β (1-1)Cer
 $\begin{array}{c} | \\ \alpha(1-3) \\ \text{Fuc} \end{array}$

(vi) $\text{KDN}\alpha(2-6)\text{Gal}\beta(1-3)\text{GlcNAc}\beta(1-3)\text{Gal}\beta(1-4)\text{Glc}\beta(1-1)\text{Cer}$

(vii) $\text{KDN}\alpha(2-6)\text{Gal}\beta(1-4)\text{GlcNAc}\beta(1-3)\text{Gal}\beta(1-4)\text{Glc}\beta(1-1)\text{Cer}$



目的化合物

審査結果の要旨

シアロ複合糖脂質であるガングリオシドは動物細胞表層に局在し、糖鎖部分を細胞外に背向させ、外界の情報や自己の存在を顕示し、ホルモン、ウイルス、バクテリア、細菌毒素、その他のレセプター機能をはじめ、細胞間認識や細胞の分化、増殖、がん化、受精免疫などの基本的な生命現象に深く関与する分子種である。その化学構造は炭素9分子から成る糖酸、即ちシアル酸が各種のオリゴ糖鎖の特定部位に $\alpha(2\rightarrow3)$ 、 $\alpha(2\rightarrow6)$ あるいは $\alpha(2\rightarrow8)$ にてグリコシド結合し、更に糖鎖還元末端に分子多様性のセラミドが β -配当体結合している。このガングリオシドは生体内にごく微量しか存在せず、オリゴ糖鎖構造の多様性に加えて脂質部分にも多様性があり、天然から純粋な単一化合物として得ることは困難である。この多彩な生物活性を担うガングリオシドの生物学的機能を分子レベルで行うためには、合成化学的手段による天然化合物及びその類縁体の合成が必要不可欠である。

本研究では、ガングリオシドのうち、とくにKDNを有するガングリオシドを系統的に合成し、その生物学的機能の解明を目的とした。KDNは1986年、井上らによってニジマス卵表層胞中のポリシアロ糖蛋白質(PSGP)より単離された新規シアル酸であり、C-5位のN-アシル基が水酸基に置換されていることが構造上の特徴である。KDN-ガングリオシドはKDN-GM₃をはじめとする数種類が発見されており、卵巣をはじめとする生殖器官に局在していることからニジマスの配偶子形成、受精に深い関わりがあると考えられている。また、このKDNの α -グリコシド結合は、シアル酸のそれと比べてシアリダーゼによって切断されにくい性質を有する一方で、シアル酸の有する生物的機能は保持している場合がある。この事実はKDN-ガングリオシドの生物学的意義とともに、将来新しい生理活性物質の開発に向けての期待がもたれる。

本研究では、これらKDN-ガングリオシドの系統的合成経路を世界で初めて完成した。その合成法の特徴を要約すると次の通りである。KDN-ガングリオシド合成の問題点はシアル酸の場合と同様、熱力学的に不安定なKDNの α -配糖体の合成である。この問題に対しKDNチオグリコシド誘導体を初めて合成し、アセトニトリル中、反応促進剤にN-沃素こはく酸イミド-TMSOTfを用いることにより解決し、 $\text{KDN}\alpha(2-3)\text{Gal}$ 、 $\text{KDN}\alpha(2-6)\text{Gal}$ 及び $\text{KDN}\alpha(2-3')\text{Lac}$ を合成する事に成功した。こうして得られたKDN-GM₃、GM₄糖鎖を常法に従い、糖鎖還元末端側のみを遊離とし、ルイス酸を作用させてこれをイミデートとしたのち、スフィンゴシンを β -結合にて導入した。最後に脂肪酸を縮合し、すべての置換基を脱保護して目的化合物である

