



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

細胞膜微小ドメインの動的機構解明に向けたスフィンゴ糖脂質プローブの創製と応用

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2022-06-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 浅野, 早知 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/81605

氏 名 (本 国 籍)	浅野 早知	(岐阜県)
学 位 の 種 類	博士 (農学)	
学 位 記 番 号	農博甲第 7 5 9 号	
学 位 授 与 年 月 日	令和 3 年 3 月 1 5 日	
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	細胞膜微小ドメインの動的機構解明に向けたスフィンゴ糖 脂質プローブの創製と応用	
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 准教授	今 村 彰 宏
	副査 岐阜大学 教授	安 藤 弘 宗
	副査 静岡大学 教授	河 合 真 吾

論 文 の 内 容 の 要 旨

【研究背景・目的】

糖鎖は、細胞の分化・増殖、がん、免疫など、多岐にわたる生命現象に関与している生体分子であり、医療やワクチン開発、ドラッグデリバリーシステムの観点から、糖鎖のケミカルバイオロジー的研究が重要視されている。本研究では、糖鎖合成の課題である化合物の難溶性の解決に向けた保護基の開発研究と、これを利用したスフィンゴ糖脂質 (GSL) プローブの合成を行い、細胞内シグナル伝達の起点である細胞膜微小ドメインの詳細な動的構造の解明を目指した。

【糖鎖合成への応用を指向した溶解性向上のための保護基の有用性検証】

多糖を化学合成により構築する過程で、グリコシル化収率の低下や単離精製の困難化といった課題が生じ、これらの弱点を克服するための基盤を築く必要がある。本研究では、汎用性の高い芳香族系保護基のベンゼン環 *p* 位を *tert*-ブチル基修飾することにより糖鎖誘導体の溶解性が飛躍的に向上することを見出した。本結果により、*tert*-ブチル基置換型保護基を用いることで、低温条件下で効果を発揮する溶媒効果や、副反応の抑制などに貢献できると期待出来る。

【細胞膜ドメインの動的機構解明に向けたプローブの開発と応用】

GSL は、細胞膜上における側方の相互作用によりタンパク質や脂質と相互作用し、微小領域を形成することが知られている。本研究では、細胞膜ドメインの形成機構・構造の解明に有用な GSL プローブの開発を行なった。

GSL の膜挙動を 1 分子イメージングで解析するためのプローブとしてドメイン形成能を有する最小構造の GSL であるラクトシルセラミドとがん細胞や未分化細胞に特異的に発現するユニークな GSL である SSEA-3、SSEA-4、Globo-H の蛍光プローブを開発した。1 分子イメージングによる

細胞膜での挙動解析により、GSLは同種会合体を形成し、分化制御やがんの悪性化に関わっていることを示唆する結果を得た。

次にGSLのラフト親和性タンパク質の同定を行うための光親和性プローブを開発した。本研究では、光反応性基として「セレノフェン-2-イル置換型 α -ケトアミド基」を新たに開発した。水中安定性、光安定性、蛋白質結合性の評価により、光反応性基としての有用性を確認した。この結果を基に次にGSLへの導入を指向し、光反応性基ユニットの合成を行なった。アジド-アルキン環化付加反応による蛍光やビオチンの修飾を可能とするアルキンを導入し、親水性を維持するため各ユニット間をPEG鎖で連結させた構造を設計・開発した。シアル酸9位アミノ基修飾型ガングリオシドGM3に対し、カルバメート結合を介して光反応性基ユニットの導入を行い、光親和性GM3プローブを合成した。A549細胞を用いた光架橋実験とプロテオミクス解析を行い、17種類のタンパク質が同定された。

審査結果の要旨

申請者浅野早知は、糖鎖の生物学的機能の分子基盤の解明に有用な機能性糖鎖分子プローブの創製とその有用性の実証を目的として、学位論文研究を行った。まず、糖鎖合成の課題である化合物の難溶性の解決に向けた保護基の開発研究に取り組み、分子間凝集を抑制することができる新たな芳香族系保護基を開発することに成功した。次に、これを利用した1分子イメージング用スフィンゴ糖脂質(GSL)プローブを新たに開発し、さらに新たな光反応性分子捕捉基を開発し、GSLに導入することに成功した。これらのGSLプローブを細胞膜微小ドメインの形成機構解明・構造解析へと応用し、GSLの膜挙動、GSL-蛋白質複合体の構造について新たな知見を獲得し、細胞膜ドメインのケミカルバイオロジー研究におけるGSLプローブの有用性を証明した。本研究で開発されたGSLプローブは今後の糖鎖機能研究の発展に多大に貢献するものと期待できる。以上のことから、本論文は岐阜大学大学院連合農学研究科学位論文として相応しい価値を有するものと認めた。

基礎となる学術論文

- 1) Sachi Asano, Hide-Nori Tanaka, Akihiro Imamura, Hideharu Ishida, Hiromune Ando, *p-tert-Butyl Groups Improve the Utility of Aromatic Protecting Groups in Carbohydrate Synthesis*, *Org. Lett.* 2019, 21, 4197-4200.
- 2) Sachi Asano, Rita Pal, Hide-Nori Tanaka, Akihiro Imamura, Hideharu Ishida, Kenichi G. N. Suzuki, Hiromune Ando, Development of Fluorescently Labeled SSEA-3, SSEA-4, and Globo-H Glycosphingolipids for Elucidating Molecular Interactions in the Cell Membrane, *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20, 6187.

既発表学術論文

- 1) Naoko Komura, Keiichi Kato, Taro Udagawa, Sachi Asano, Hide-Nori Tanaka, Akihiro Imamura, Hideharu Ishida, Makoto Kiso, Hiromune Ando, Constrained Sialic Acid Donors Enable Selective Synthesis of α -Glycosides, *Science* 2019, 364, 677-680.