

高分解能核磁気共鳴装置を利用した新規糖鎖合成法

梶原康宏

理研・理学研究科連携プロジェクト拠点

理研阪大連携研究室では、理学研究科内で調製した試料を理研より移設した核磁気共鳴装置ならびに横浜理化学研究所の超高分解能核磁気共鳴装置を利用し測定することで、先端研究を推進することを目的としている。また、測定のみならず、理化学研究所から理学研究科への招へい教授を依頼し、討論等をへて研究を推進することも目的としている。

本年は、高分子糖鎖を合成する新規手法の開発に核磁気共鳴装置を利用することで成功した。この研究は、生体資料から糖鎖を単離し、それを原料として糖鎖を追加していくことで、生体に存在する様々な多様な構造の糖鎖を合成する。この研究により、従来の糖鎖合成工程を85%も削減し、10工程程度で効率よく糖鎖を調製できるようになった。この手法は、創薬基盤としても注目されている糖鎖の機能解明に貢献できる成果となった。

まず鶏卵より得た二分枝アシアロ糖鎖 **1** を原料として、位置特異的なベンジリデン化反応と続く保護基の導入により保護体糖鎖 **4** を得た。そして、マンノース残基での選択的な酸加水分解によってジオール **5** を得た。続く6位選択的なベンゾイル基の導入により望む水酸基のみが遊離となった糖受容体 **7** を得ることに成功した。これら全ての糖鎖は、高分解能 NMR を用いることで各種スペクトルを完全解析しその構造を確認した。

次に得られた糖受容体 **5, 7** に対して、糖供与体 **8** とのグリコシル化反応を実施し、保護体三分枝糖鎖の合成に成功した。その後、保護基を順次脱保護し、目的とする三分枝糖鎖 **9** および **10** を得ることに成功した。本成果は、追試が容易であることから三分枝糖鎖の継続的合成が可能で、糖鎖を利用する糖鎖機能解明に貢献できる有用な方法となった[1]。

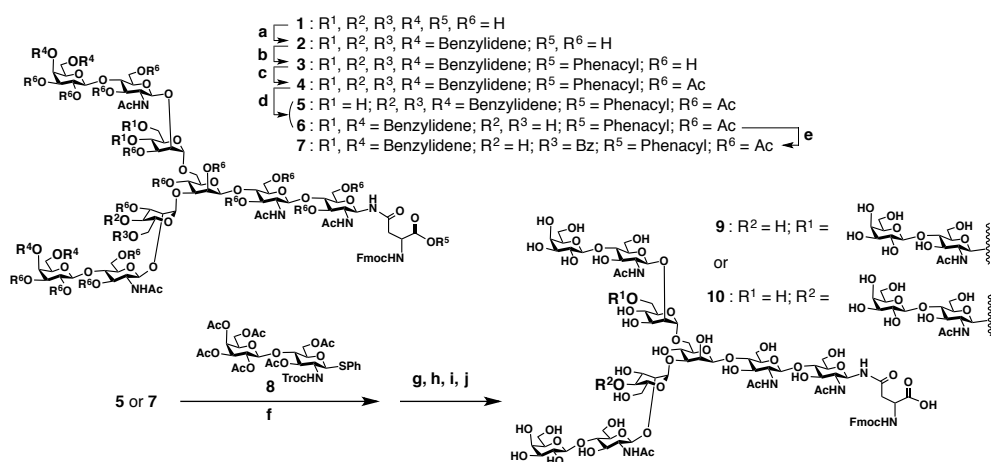


Figure. Synthesis of Complex type Triantennary Glycans.

Reagents and conditions: (a) PhCH(OMe)₂, CSA, DMF, rt; (b) Phenacyl bromide, iPr₂NEt, DMF, rt; (c) Ac₂O, pyridine, DMAP, rt; (d) 60% aq. AcOH, rt; (e) BzCN, iPr₂Et, CH₂Cl₂, rt; (f) **8**, NIS, TfOH, CH₂Cl₂, 4A molecular sieves, 0 °C (or 0 °C to rt); (g) Zn, THF/ AcOH/ Ac₂O, 0 °C to rt; (h) aq. NaOH/ MeOH, 0 °C to rt; (i) FmocOSu, NaHCO₃, DMF (or Acetone)/ H₂O, 0 °C to rt; (j) aq. TFA, 0 °C.

発表論文[1]: Yuta Maki, *J. Am. Chem. Soc.*, 2016, in press

研究業績リスト

I 査読論文

Chemical Synthesis of Homogeneous Glycoproteins for the Study of Glycoprotein Quality Control System

Masayuki Izumi, Simone Dedola, Yukishige Ito, Yasuhiro Kajihara

Israel Journal of Chemistry, 55 (2015), 306–314.

DOI: 10.1002/ijch.201400154

Functional analysis of endoplasmic reticulum glucosyltransferase (UGGT); Synthetic chemistry's initiative in glycobiology

Yukishige Ito, Yoichi Takeda, Akira Seko, Masayuki Izumi, Yasuhiro Kajihara

Seminars in Cell & Developmental Biology, 41 (2015), 90–98.

DOI: 10.1016/j.semcd.2014.11.011

Synthesis of D,L-Amino Acid Derivatives Bearing a Thiol at the α -Position and Their Enzymatic Optical Resolution

Yasuhiro Morishita, Tomoka Kaino, Ryo Okamoto, Masayuki Izumi, Yasuhiro Kajihara

Tetrahedron Letters, 56 (2015), 6565–6568.

DOI: 10.1016/j.tetlet.2015.10.015

Efficient Synthesis of L-galactose from D-galactose

Ryo Orii, Masayuki Izumi, Yasuhiro Kajihara, Ryo Okamoto

Journal of Carbohydrate Chemistry, 34 (2015), 560–566

DOI: 10.1080/07328303.2015.1115514

Chemical synthesis of erythropoietin glycoforms for insights into the relationship between glycosylation pattern and bioactivity

Masumi Murakami, Tatsuto Kiuchi, Mika Nishihara, Katsunari Tezuka, Ryo Okamoto,

Masayuki Izumi, Yasuhiro Kajihara

Science Advances, 2 (2016), E1500678

DOI: 10.1126/sciadv.1500678

Semi-synthesis of intact complex-type triantennary oligosaccharides from a

biantennary oligosaccharide isolated from a natural source by selective chemical and enzymatic glycosylation

Yuta Maki, Ryo Okamoto, Masayuki Izumi, Takefumi Murase, Yasuhiro Kajihara

J. Am. Chem. Soc. 2016, in press.

Synthesis of Glc1Man9-glycoprotein probes by a unique misfolding-enzymatic glycosylation-intentional misfolding approach

Masayuki Izumi, Yukiho Oka, Ryo Okamoto, Akira Seko, Yoichi Takeda, Yukishige Ito, Yasuhiro Kajihara

Angew. Chem. Int. Ed. 2016, in press

II 国際会議等における発表

Chemical Synthesis of homogeneous glycoprotein and insight into the relationship between glycosylation pattern and biological activity

Yasuhiro Kajihara

Pacificchem 2015, session: Strategies for Coupling and Decoupling Diverse Molecular Units in the Glycosciences

2015年12月16日

Honolulu Hawaii, (Invited lecture)

Chemical synthesis of correctly folded and misfolded glycoproteins for understanding of glycoprotein quality control system.

Yasuhiro Kajihara

Pacificchem 2015, session: Carbohydrate Recognition in Health and Disease

2015年12月17日

Honolulu Hawaii, (Invited lecture)

Chemical Synthesis of homogeneous glycoprotein and insight into the relationship between glycosylation pattern and biological activity

Yasuhiro Kajihara

Pacificchem, session: Advances in Peptide and Protein Chemistry

2015年12月20日

Honolulu Hawaii, (Invited lecture)

Chemical Synthesis of homogeneous glycoprotein and insight into the relationship between glycosylation pattern and biological activity

Yasuhiro Kajihara

5 th Modern solid Peptide Symposium

2015年10月22-25日

Ramada Couran Cove Island Resort, Australia, (Invited lecture)

Chemical Synthesis of homogeneous glycoprotein and insight into the relationship

between glycosylation pattern and biological activity,
Yasuhiro Kajihara
Australian Peptide Conference, Australia,
2015年10月25-30日
Gold Coast, Australia (Invited lecture)

Chemical synthesis of homogeneous erythropoietins.
Yasuhiro Kajihara
2015年4月23日
Bachem Spring symposium, Basel, Switzerland (Invited lecture)

A Systematic Synthesis of 1,6- and 1,4- Branched Human-type Tri-antennary N-glycans
by Use of Bi-antennary Glycan Isolated from Biological Source
Yuta Maki, Okamoto Ryo, Izumi Masayuki, Kajihara Yasuhiro
Gordon Research Conference: Carbohydrate
2015年6月14日 - 19日
Mount Snow in West Dover, Vermont, USA

Chemical Synthesis of “Racemic” Antifreeze glycoprotein for X-ray crystallography
Ryo Orii, Ryo Okamoto, Masayuki Izumi, Yasuhiro Kajihara
Gordon Research Conference: Carbohydrate
2015年6月14日 - 19日
Mount Snow in West Dover, Vermont, USA

Chemical synthesis of ubiquitinated glycoproteins having different protein
conformation
Masayuki Izumi, Hiroyuki Araki, Mamiko Tominaga, Ryo Okamoto, Yasuhiro Kajihara
2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies
2015年12月15日 - 20日
Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii, USA.

Chemical synthesis of inducible costimulator molecule (AILIM/ICOS) bearing three
complex-type oligosaccharides at the native positions
Hien Min Nguyen, Masayuki Izumi, Ryo Okamoto, Yasuhiro Kajihara
2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies
2015年12月15日 - 20日
Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii, USA.

Synthetic study of Fc fragment by using Boc SPPS an expression method
Minami Ueda, Shohei Imada, Ryo Okamoto, Masayuki Izumi, Yasuhiro Kajihara
2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies
2015年12月15日 - 20日
Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii, USA.

Synthesis of D,L-amino acid derivatives bearing thiol at the β -position and its enzymatic optical resolution
Yasuhito Morishita, Tomoka Kaino, Ryo Okamoto, Masayuki Izumi, Yasuhiro Kajihara
2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies
2015年12月15日 - 20日
Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii, USA.

Ⅲ 国内会議等における発表

天然由来二分枝複合型糖鎖を原料としたポリラクトサミン構造を有する二分枝複合型糖鎖の合成

ユビキチン化された高マンノース型糖鎖を有する糖タンパク質 CCL1 の化学合成
和泉雅之、荒木浩行、富永真美子、岡本亮、梶原康宏
第34回日本糖質学会年会
2015年7月31日 - 8月2日
東京大学

シアリル糖タンパク質エリスロポエチンの網羅的合成及びそれらを用いた生理活性評価
村上真淑、岡本亮、和泉雅之、梶原康宏
第34回日本糖質学会年会
2015年7月31日 - 8月2日
東京大学

真木勇太、美馬孝則、岡本亮、和泉雅之、梶原康宏
第34回日本糖質学会年会
2015年7月31日-8月2日
東京大学

ラセミ糖タンパク質結晶化を目指した不凍糖タンパク質 (AFGP) の化学合成

折井亮, 岡本亮, 和泉雅之, 梶原康弘

第 34 回日本糖質学会年会

2015 年 7 月 31 日-8 月 2 日

東京大学安田講堂

IV 著書

「糖鎖の新機能開発・応用ハンドブック」第 4 編第 2 章第 4 節「糖タンパク質合成」

和泉雅之、伊藤幸成、梶原康宏

株式会社エヌティーエス (2015 年 8 月発行, 356-358)

「糖タンパク質の品質管理の仕組み」

和泉雅之、伊藤幸成、梶原康宏

東京化学同人 現代化学 (2015 年 10 月発行、535 号、48-53)