

2021年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	二層界面を利用したグリコシル化反応の開発
キーワード	① 糖鎖合成、②立体選択的反応、③フルオラス

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	トマベチ ユウスケ 苫米地 祐輔
配付時の所属先・職位等 (令和3年4月1日現在)	東海大学 工学部 講師
現在の所属先・職位等 (令和4年7月1日現在)	東海大学 工学部 講師
プロフィール	2006年3月東海大学工学部応用化学科卒業。2011年3月 東海大学大学院総合理工学研究科総合理工学専攻 修了(博士(理学))。2011年4月東海大学 糖鎖科学研究所 博士研究員を経て、同年9月から University of Canterbury Department of chemistry 博士研究員。2014年1月 関西学院大学 理工学部 博士研究員、2015年4月 石川県立大学 生物資源工学研究所 特別研究員。2017年4月 東海大学 工学部 応用化学科に着任。専門分野は有機合成、酵素合成、糖鎖工学。所属学会は日本糖質学会、日本化学会、FCCA、日本農芸化学会。

1. 研究の概要

糖鎖合成の重要研究課題である β -マンノシド構築法の開発を行うため、本研究ではフルオラスタグ法を応用した手法で実験を行った。高度にフッ素化された受容体と、マンノースの2位のみフルオラスタグを導入した糖供与体を、フルオラス溶媒と有機溶媒の二層系でグリコシル化した。糖供与体の有機層に面している部分では反応が進行せずに、フルオラス層に存在する面だけ選択的にグリコシル化反応が進行することを期待した。

2. 研究の動機、目的

近年、糖鎖研究による生命現象の更なる解明や、新しい治療薬の開発が期待されている。糖鎖の研究を行う上で、構造が明確な標品を入手することは必須である。有機合成化学によって糖鎖を調製する方法は、非天然型の糖鎖構造を含めて、様々な糖鎖を調製することができる。しかし、糖と糖を繋げるグリコシル化反応は、反応性の類似した糖上の官能基を区別して結合位置を制御する必要があり、また、糖と糖を繋げる際に立体異性体(α グリコシドと β グリコシド)が生じる。近年ではこれらの多くの問題が改善されてきているが、今もなお解決していない課題がある。その一つが β -マンノシドの合成である。マンノースのヒドロキシ基は、2位のヒドロキシ基だけアキシアル方向に結合していることで、 β -マンノシドは α -マンノシドよりも熱力学的に不安定であり、また2位のアキシアルのヒドロキシ基による立体反発などの要因によってその構築が難しい。 β -マンノシドは、タンパク質のアスパラギン残基に結合したN結合型糖鎖のコア構造に存在しているため、生命現象の解明には β -マンノシドの構築法の開発が非常に重要であり、糖鎖合成に関わる研究者にとって避けて通ることができな

い研究課題である。本研究では糖鎖合成の解決すべき課題、すなわち完全 β 選択的マンノシドの構築法の開発に挑んだ。

本研究では、高度にフッ素化された糖受容体と、マンノースの2位のみフルオラストグを導入した糖供与体を、フルオラス溶媒と有機溶媒の二層系でグリコシル化した(図1)。糖受容体はフルオラストグを複数有することから分子全体がフルオラス層側に存在するが、糖供与体に関してはフルオラストグを導入した部分だけがフルオラス層側に分配されることを期待した。すなわち、糖供与体の有機層に面している部分では反応が進行せずに、フルオラス層に存在する面だけ選択的にグリコシル化反応が進行すると考えた。

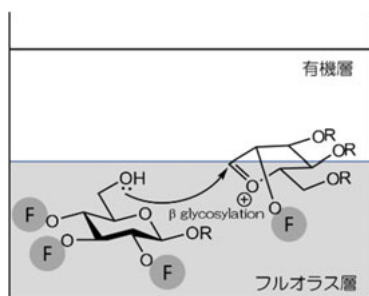


図1 フルオラス溶媒-有機溶媒二層系グリコシル化反応

3. 研究の結果

研究期間中、コロナ禍のため度重なる学内入構禁止措置があり、連続的に実験を実施することが難しい状況ではあったが、糖供与体の合成と予備的なグリコシル化反応の検討を行うことができたので報告する。

図2に糖供与体の合成を示した。マンノースからオルトエステル**1**を収率55%(5工程)で合成した。次にチオ基の導入をしようとしたところメチルグリコシドが副生してしまい、収率は20%程度と低収率になってしまった。東京化成工業株式会社 糖鎖技術研究所 松崎 祐二所長らに合成方法のご助言をいただき、**1**のオルトエステル部分を酢酸で開環し、得られたヒドロキシ基をアセチル化した後、チオ基の導入をすることで収率75%という高収率で目的物**2**を得ることができた。この段階でアノマー位の立体異性体を分離することはできなかったが、脱アセチル化後、ペンタフルオロベンジル(PFB)基を2位に導入したところで、化合物**3**の立体異性体がTLC上でそれぞれ確認された。そこで、カラムクロマトグラフィーによって精製したところ α 体と β 体をそれぞれ収率20%と9%で単離することができた。

次に、得られた**3**の α 体を糖供与体としてグリコシル化反応の検討を行った。予備実験として、糖受容体にペンタフルオロベンジルアルコールを用いてグリコシル化を行った結果、予想に反してジクロロメタンを反応溶媒として用いた場合も、ジクロロメタン/FC72混合溶媒を用いた場合も α/β 比に大きな違いは生じなかった(それぞれの α/β 比は1.4:1.0と1.3:1.0)。

しかし α 体が優先的に得られるマンノシドを用いたにも関わらず、いずれの反応条件でも β 体が α 体と同程度得られることが分かった。現時点では予備的な実験しか行っていないため今後詳細な検討を行う必要があるが、マンノースの2位にフッ素系の保護基を導入することで β 体が多く得られる可能性が示された。

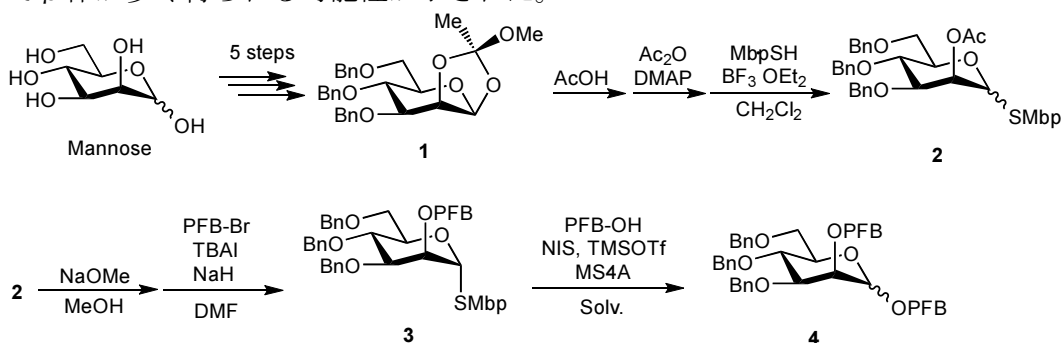


図2 糖供与体の合成およびグリコシル化反応の検討

4. 研究者としてのこれからの展望

研究者にとって研究を地道に継続していくことは言うまでもなく大切なことですが、現在は、今までに「自分自身が全く取り組んだことがないこと」に挑戦することにウェイトを置いて研究活動を行っています。これは、以前大変お世話になった上司の「科学は犯罪以外のことならなんでもやってもいい。発想は自由に」という研究姿勢に共感し、大切にしていきたいと考えているからです。新しいことに怖気付かずチャレンジすることを心掛けています。

知らない事ばかりなのでうまくいかないことも多く、学生と一緒に学びながら研究を行っております。現時点では大きなことは何も成し遂げておらず、どれもまだ中途半端な状態のため少し恥ずかしいですが、ゆくゆくは研究テーマを熟成させ、人のために役に立つ技術や製品をつくりたいです。

大学業務に追われて視野が狭くなりがちですが、恩師の言葉「遊べ、遊べ、よく学べ」を大切に、遊び心、心の余裕をもって研究に取り組んでいきたいと思えます。

5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

この度は本研究課題に対して若手研究者奨励金を授与していただき、誠にありがとうございました。

本研究のような基礎研究は、すぐに応用・実践に繋がるものではないため、その学術的意義は理解されにくいかと思えます。しかしながら、当該手法を確立することができれば、原理的にはβマンノシドなどの糖鎖合成に限らず、有機化学全般へ貢献できる手法となることを確信しています。具体的には立体選択的な有機反応に関わる医薬品、農薬、機能性材料や香料、調味料などの産業分野へ波及する技術へと発展することが期待できます。今回得られた研究成果をもとに、さらに研究を進めることが可能となりましたので、実用化できるよう今後も精進して参りたいと思えます。

2017年に教員となってから毎年科研費へ応募しているものの、不採用という結果が続き自信がなくなっておりましたが、今回皆様にご支援いただいたことで大変励みになりました。心より感謝申し上げます。