

アカデミックプログラム [A講演] | 16. 天然物化学・ケミカルバイオロジー：口頭A講演

📅 2025年3月28日(金) 13:00 ~ 15:20 🏢 [A]A404(第3学舎 1号館 [4階] A404)

[[A]A404-3pm] 16. 天然物化学・ケミカルバイオロジー

座長：佐々木 紀彦、平尾 宏太郎

◆ 日本語

13:00 ~ 13:10

[[A]A404-3pm-01]

UDP-Glc: glycoprotein glucosyltransferase阻害剤創出に向けたウラシル骨格が修飾されたUDP類縁体の合成研究

○石崎 千晴¹、笹江 勇作¹、阿部 純平^{1,2,3}、平尾 宏太郎^{1,2}、真木 勇太^{1,2}、梶原 康宏^{1,2}、伊藤 幸成² (1. 阪大院理、2. 阪大院理フォアフロント研究センター、3. 大阪国際がんセンター 糖鎖オンコロジー部)

◆ 日本語

13:10 ~ 13:20

[[A]A404-3pm-02]

生理活性を有するエリスロポエチン誘導体の迅速かつ新規な合成研究

○山口 真太郎¹、真木 勇太^{1,2}、平尾 宏太郎^{1,2}、岡本 亮^{1,2}、梶原 康宏^{1,2} (1. 大阪大学、2. 阪大院理フォアフロンティアセンター)

◆ 日本語

13:20 ~ 13:30

[[A]A404-3pm-03]

核磁気共鳴法を利用する糖鎖と水の特異的な相互作用の解析

○石川 華¹、森口 達也、平尾 宏太郎^{1,2}、真木 勇太^{1,2}、岡本 亮^{1,2}、梶原 康宏^{1,2} (1. 阪大院理、2. 阪大院理フォアフロント研究センター)

◆ 日本語

13:30 ~ 13:40

[[A]A404-3pm-04]

タンパク質間相互作用の解明に向けた糖タンパク質プローブの合成研究

○小林 千桜¹、平尾 宏太郎^{2,3}、真木 勇太^{2,3}、梶原 康宏^{2,3} (1. 阪大理学部、2. 阪大院理、3. 阪大院理フォアフロント研究センター)

◆ 日本語

13:40 ~ 13:50

[[A]A404-3pm-05]

Fmoc固相法による安全なペプチドチオエステル合成法の開発

○今村 明里¹、真木 勇太^{2,3}、平尾 宏太郎^{2,3}、北條 裕信⁴、梶原 康宏^{2,3} (1. 阪大理学部、2. 阪大院理、3. 阪大院理フォアフロント研究センター、4. 阪大蛋白研)

◆ 日本語

13:50 ~ 14:00

[[A]A404-3pm-06]

小型エリスロポエチンの設計と合成

○光定 和紀¹、真木 勇太^{1,2}、平尾 宏太郎^{1,2}、佐藤 あやの³、梶原 康宏^{1,2} (1. 阪大院理、2. 阪大院理フォアフロント研究センター、3. 岡大院ヘルスシステム)

◆ 日本語

14:00 ~ 14:10

[[A]A404-3pm-07]

ペプチドの β -シート構造形成における糖鎖の役割

○山田 健太郎¹、真木 勇太^{2,3}、平尾 宏太郎^{2,3}、梶原 康宏^{2,3} (1. 阪大理学部、2. 阪大院理、3. 阪大院理フォアフロント研究センター)

14:10 ~ 14:20

休憩

◆ 日本語

14:20 ~ 14:30

[[A]A404-3pm-08]

腸内細菌*B. caccae* のイヌリン分解酵素による DFA III 還元末端 オリゴフルクトフラノシド生成機構解析

○石渡 明弘¹、志手 由里奈²、北原 兼文²、藤田 清貴²、田中 克典^{1,3}、伊藤 幸成^{1,4} (1. 理研、2. 鹿児島大、3. 東科大、4. 阪大)

◆ 日本語

14:30 ~ 14:40

[[A]A404-3pm-09]

Campylobacter jejuni リピドAの化学合成と免疫機能

○金岡 辰弥¹、下山 敦史¹、中川 翔¹、松浦 良史¹、藤江 駿成¹、深瀬 浩一¹ (1. 大阪大学)

◆ 日本語

14:40 ~ 14:50

[[A]A404-3pm-10]

マイクロ波制御型ホウ素媒介アグリコン転移反応の開発と植物ホルモンCLE2の全合成

○妹尾 一樹¹、稲葉 和樹¹、高柳 亜弥斗¹、和田 雄二²、安田 誠³、戸嶋 一敦¹、高橋 大介¹ (1. 慶應義塾大学、2. 一般社団法人ZeroC、3. 大阪大学大学院)

◆ 日本語

14:50 ~ 15:00

[[A]A404-3pm-11]

マンノシルエリスリトールリピッド含有LNPの合成と核酸導入活性

○伊波 美鈴¹、安齋 樹²、渡辺 登喜子²、阿曾 古都美³、笠原 勇矢³、戸嶋 一敦¹、高橋 大介¹ (1. 慶應義塾大学、2. 大阪大学、3. 医薬基盤・健康・栄養研究所)

◆ 日本語

15:00 ~ 15:10

[[A]A404-3pm-12]

可食性ポリフェノールシナピン酸を活性化剤に用いた光グリコシル化反応

○白石 知佳子¹、高橋 大介¹、戸嶋 一敦¹ (1. 慶應義塾大学)

◆ 日本語

15:10 ~ 15:20

[[A]A404-3pm-13]

電解グリコシル化反応を用いた環状(1,3;1,6)- β -グルカン12糖の全合成

○孫 宇聡¹、佐々木 紀彦¹、野上 敏材¹ (1. 鳥取大学)

UDP-Glc: glycoprotein glucosyltransferase 阻害剤創出に向けたウ ラシル骨格が修飾された UDP 類縁体の合成研究

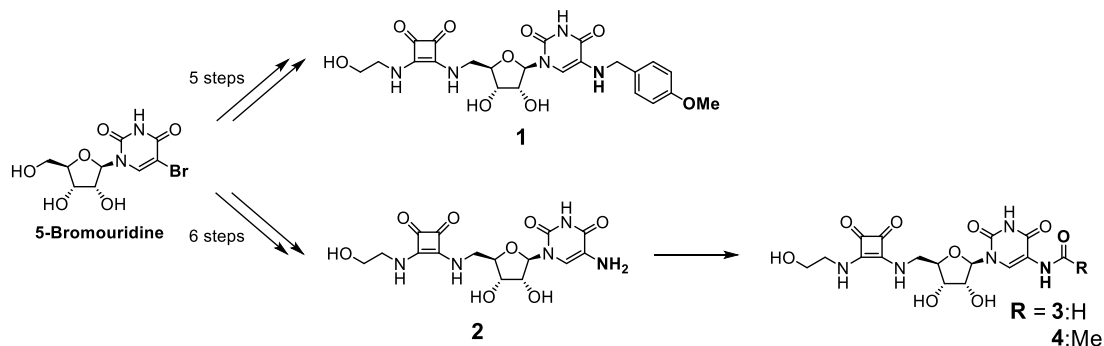
(阪大院理¹・阪大院理フォアフロント研究センター²・大阪国際がんセンター 糖鎖
オンコロジー部³) ○石崎 千晴¹、笹江 勇作¹、阿部 純平^{1,2,3}、平尾 宏太郎^{1,2}、真
木 勇太^{1,2}、梶原 康宏^{1,2}、伊藤 幸成²

Synthetic study of UDP analogs with modifications of the uracil backbone for developing inhibitors of UDP-Glc: glycoprotein glucosyltransferase(¹*Graduate School of Science, Osaka University*,²*Forefront Research Center for Fundamental Sciences, Graduate School of Science*,³*Osaka International Cancer Institute*) ○Chiharu Ishizaki,¹ Yusaku Sasae,¹ Junpei Abe,^{1,2,3} Kohtaro Hirao,^{1,2} Yuta Maki,^{1,2} Yasuhiro Kajihara,^{1,2} Yukishige Ito²

This study aims to develop inhibitors of UDP-Glc: glycoprotein glucosyltransferase (UGGT) for understanding the function of UGGT in the glycoprotein folding cycle. Since UDP is known to exhibit moderate inhibitory activity against UGGT, systematic synthesis of its squaramide modified analogs has been carried out to discover potent inhibitors. In this study, we focused on the modification of the uracil backbone and successfully synthesized designed UDP derivatives (Figure 1~4).

Keywords : UGGT, UDP, squaramide, inhibitor

本研究では、糖タンパク質の品質管理機構において重要な役割を担う UDP-Glc: glycoprotein glucosyltransferase (UGGT) に対して高活性・高選択的な阻害剤を合成することを目的としている。我々は、UGGT に対して中程度の阻害活性を有する¹ことが知られている UDP を基本骨格とし、そのピロホスフェートをスクアラミドに代替した類縁体を UGGT の阻害剤候補とする戦略を立てた。また、阻害活性の向上を期待し、UDP 類縁体のウリジン環 5 位への化学修飾を検討した。本研究では、5-Bromouridine を原料に、ウリジン環 5 位へさまざまな置換基を導入することに成功し、新たな阻害剤候補化合物 (図:1~4) を合成した。本発表では、これらの詳細な合成について報告する。今後、さらなる阻害剤ライブラリーの形成のため、他の置換基の導入も検討する予定である。



1. E. S. Trombetta et al. *EMBO J.* **1999**, *18*, 3282-3292.

生理活性を有するエリスロポエチン誘導体の迅速かつ新規な合成研究

(阪大院理¹・阪大院理フォアフロント研究センター²) ○山口 真太郎¹・真木 勇太^{1,2}・平尾 宏太郎^{1,2}・岡本 亮^{1,2}・梶原 康宏^{1,2}

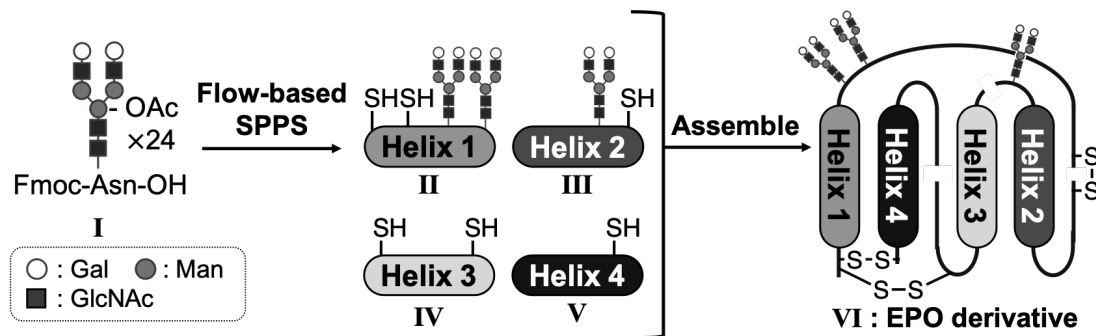
Synthetic study of bioactive erythropoietin derivative (Grad. Sch. Sci., Dept. Chem,¹ and FRC,² Osaka Univ.) ○Shintaro Yamaguchi¹, Yuta Maki^{1,2}, Kohtaro Hirao^{1,2}, Ryo Okamoto^{1,2}, Yasuhiro Kajihara^{1,2}

Chemical protein synthesis requires multiple synthetic steps for glycopeptides and their ligation, resulting in time-consuming process. In this work, we prepared four α -helix segments of erythropoietin by fast flow-based peptide synthesis¹⁾. Fast flow-based SPPS enables an amino acid elongation within 3 minutes under flow and high temperature conditions. For the synthesis of glycopeptide by fast flow-based SPPS, we used peracetyl-asialo-oligosaccharyl asparagine derivative **I** as a building block²⁾. Currently, we examined assembly of the four α -helix segments by disulfide bonds formation to rapidly achieve to the three-dimensional structure of erythropoietin.

Keywords : glycoprotein synthesis, flow synthesis

均一な糖鎖構造を有する糖タンパク質を合成する上で化学合成は重要な手段である。しかし、これまでの一般的な糖タンパク質の合成法では、糖ペプチドの合成や連結反応、フォールディング操作などに長い期間がかかっている。

本研究では高速フロー固相合成法¹⁾によりエリスロポエチン(EPO)に含まれる α -ヘリックス断片の迅速合成を試みた。高速フロー固相合成法ではフロー条件および高温条件により各アミノ酸を3分で伸長可能であり、目的の α -ヘリックス断片を効率よく合成することができた。また、糖水酸基を全てアセチル基で保護したアシアロ糖鎖アスパラギン誘導体**I**を用い、糖ペプチドの合成時間を大幅に短縮することにも成功した²⁾。現在、合成した4つの α -ヘリックス断片(II-V)をジスルフィド結合などで束ね、EPOの擬似三次構造を形成する検討を行なっている。本発表ではこれらの詳細を述べる。



1) Mark D. Simon, *Chem. Bio. Chem.*, **2014**, 15, 713-720

2) 第104回日本化学会春季年会 (H934-2am-10)

核磁気共鳴法を利用する糖鎖と水の特異的な相互作用の解析

(阪大院理¹、阪大院理フォアフロント研究センター²) ○石川華¹、森口達也¹、平尾宏太郎^{1,2}、真木勇太^{1,2}、岡本亮^{1,2}、梶原康宏^{1,2}

Analysis of specific interactions between glycan and water by nuclear magnetic resonance

(¹Grad. Sch. Sci., Osaka Univ., ²FRC, Grad. Sch. Sci. Osaka Univ.) ○Hana Ishikawa¹, Tatsuya Moriguchi¹, Yuta Maki^{1,2}, Ryo Okamoto^{1,2}, Yasuhiro Kajihara^{1,2}

Glycans of glycoproteins regulate stability and functions of proteins. However, the detailed mechanisms are still unclear. We have hypothesized that glycans regulate water behavior around glycoproteins. To analyze the interaction between glycan and water, we succeeded in the development of a unique sampling method for NMR measurement. We especially measured the proton NMR and T1, T2 relaxation time. The resultant spectra revealed that sialic acid at the end of the glycans lower the mobility of water molecules around glycans. We also investigated the functions of carboxylic acid of sialic acid and the specific hydroxy groups. In this presentation, we will present the specific interaction between sialic acid and water in detail.

Keywords : Glycan; Hydration; Nuclear Magnetic Resonance

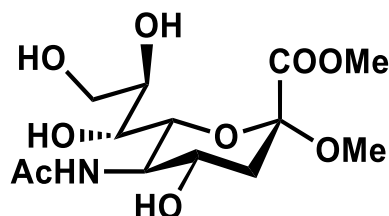
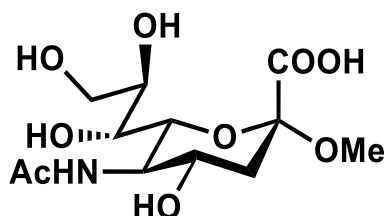
糖タンパク質の糖鎖は、タンパク質の安定化や活性の制御などに関与している。当研究室では、糖鎖が水の動的挙動を制御することで、糖タンパク質同士の複合化を促進していることを示唆するデータを得ている。本研究では、糖鎖末端のシアル酸に着目し、特殊サンプリング法を用いた核磁気共鳴分光法により、シアル酸と水の相互作用の詳細を調べた。

乾燥させた重 DMSO に糖を溶解後、さらに乾燥剤を用いることで、サンプル溶液内の水が糖に対して 1 当量以下になるように調製した。この状態から、100 当量程度にまで、徐々に水の量を増加しながら、プロトン NMR および、水の T1, T2 緩和時間を測定した。

その結果、シアル酸は他の糖に比べて水の緩和時間を大きく低下させることが観測され、糖鎖周辺の水の運動性が低下することが示唆された。

さらに、メチル α シアル酸と、そのメチルエステル体を用いて同様に水との相互作用を解析し、シアル酸のカルボン酸が、水の動的挙動にどのような影響を与えるかについて調べた。また、シアル酸の水酸基を順次デオキシ化し測定することで、それぞれの水酸基と水との相互作用についても解析を行った。

本発表では、以上の実験の詳細と、糖と水の特異的な相互作用に対する考察について報告する。



タンパク質間相互作用の解明に向けた糖タンパク質プローブの合成研究

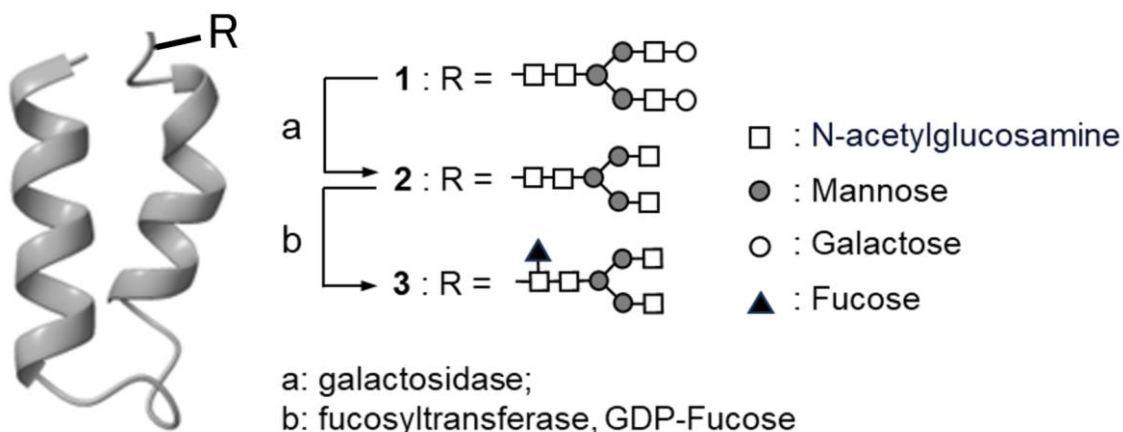
(阪大理学部¹・阪大院理²・阪大院理フォアフロント研究センター³) ○小林千桜¹・平尾宏太郎^{2,3}・真木勇太^{2,3}・梶原康宏^{2,3}

Synthetic studies of glycoprotein probes for elucidation of glycoprotein-protein interactions (¹*Sch. Sci., Osaka Univ.*, ²*Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.*, ³*FRC, Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.*) ○ Chio Kobayashi,¹ Kohtaro Hirao,^{2,3} Yuta Maki,^{2,3} Yasuhiro Kajihara^{2,3}

In our laboratory, the effects of glycosylation on glycoprotein-protein interactions have been investigated using artificial small glycoproteins with specific binding affinity against the Fc region of the antibody. We chemically synthesized a small glycoprotein bearing a human-complex type nona-saccharide. The glycan structure can be modified by glycosidases to prepare diverse glycoforms. In this study, we successfully synthesized small glycoproteins bearing a complex type hepta- or octa-saccharide including fucose through enzymatic editing of glycan structures (Figure 1).

Keywords : Glycoprotein; Enzymatic reaction

我々の研究室では、糖鎖付加によるタンパク質間相互作用へ与える影響を解析することを目指し、抗体のFc領域と特異的に相互作用する人工小型糖タンパク質を設計した。本研究では、糖鎖構造を可変しながら、その糖鎖が結合したタンパク質と他方のタンパク質の間の結合親和性の変化を調べることにした。今回我々は、フコシル化糖鎖に注目した。フコースの付加により糖タンパク質とタンパク質間の相互作用が弱まることが報告されている¹⁾が、その詳細なメカニズムは明らかにされていない。そこで、フコースを有する糖タンパク質プローブを酵素を用いて合成した (Fig. 1)。まず、複合型9糖をもつ人工小型糖タンパク質 **1** を固相合成により合成した。その後、ガラクトース加水分解酵素により **2**、そしてフコース転移酵素により、フコース含有8糖をもつ糖タンパク質プローブ **3** の合成を達成した。本発表では、その詳細について述べる。



1) Tsukimura, W.; et al. *Biosci Biotechnol, Biochem*, **2017**, *81*, *12*, 2352-2359

Fmoc 固相法による安全なペプチドチオエステル合成法の開発

(阪大理学部¹、阪大院理²、阪大院理フォアフロント研究センター³、阪大蛋白研⁴) ○今村 明里¹、真木 勇太^{2,3}、平尾 宏太郎^{2,3}、北條 裕信⁴、梶原 康宏^{2,3}

Development of a Safe Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis for the preparation of peptide-thioesters (¹Sch. Sci., Osaka Univ., ²Grad. Sch. Sci., Osaka Univ., ³FRC, Grad. Sch. Sci., Osaka Univ., ⁴Institute for Protein Research, Osaka Univ.) ○Akari Imamura¹, Yuta Maki^{2,3}, Kohtaro Hirao^{2,3}, Hironobu Hojo⁴, Yasuhiro Kajihara^{2,3}

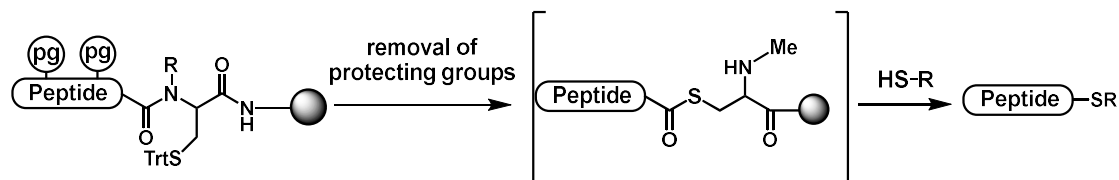
Fmoc solid-phase peptide synthesis (SPPS) is widely used for chemical synthesis of peptides. However, it is potentially risky because it requires strong acids such as trifluoroacetic acid (TFA) to remove protecting groups and to cleave peptides from the resin. The crude peptide needs to be obtained from the TFA cocktail by ether precipitation or TFA concentration. In this study, we investigated a safer Fmoc-SPPS using N-methylcysteine as a linker.

First, a peptide was synthesized by standard Fmoc-SPPS via the N-methylcysteine linker on resin. Then, a TFA cocktail was used to remove protecting groups, while the deprotected peptide remained on the resin. After elution of TFA cocktail from reaction vessel, the resulting peptidyl resin was treated with a phosphate buffer solution including thiol nucleophile reagent to perform thiolysis of peptide from the resin by N-S acyl migration.¹⁾ We could obtain a peptide-thioester without ether precipitation and concentration of TFA.

Keywords : Fmoc SPPSs, peptide-thioester, TFA

Fmoc 固相合成法はペプチドを化学合成する際に広く用いられている。しかし、ペプチド上の保護基の除去や樹脂からの切り出しにはトリフルオロ酢酸(TFA)などの強酸を用いる必要であり、エーテル沈殿によって TFA 溶液中から粗生成物を得るため、潜在的な危険性がある。

今回我々はより安全な固相合成法を目指し、N メチルシステインをリンカーとして用いて、新規なペプチド合成法を検討した。まず一般的な Fmoc 固相合成法により、樹脂上にペプチドを合成し、TFA 溶液により側鎖の保護基を除いた。その後、使用した TFA 溶液を濾過により廃棄後、残った樹脂上のペプチドに対してチオールを含んだ緩衝溶液を樹脂に加えることで、N-S 転移反応を利用してペプチドを樹脂から切り出した。¹⁾この方法により、酸溶液の濃縮やエーテル沈殿を必要とせずに目的のペプチドチオエステル体を得ることに成功した。本発表ではこれらの詳細を述べる。



1) H. Hojo, et al, *Tetrahedron Letters* **2007**, 48, 25-28

小型エリスロポエチンの設計と合成

(阪大院理¹・阪大フォアフロント研究センター²・岡大院ヘルスシステム³)

○光定 和紀¹・真木 勇太^{1,2}・平尾 宏太郎^{1,2}・佐藤あやの³・梶原 康宏^{1,2}

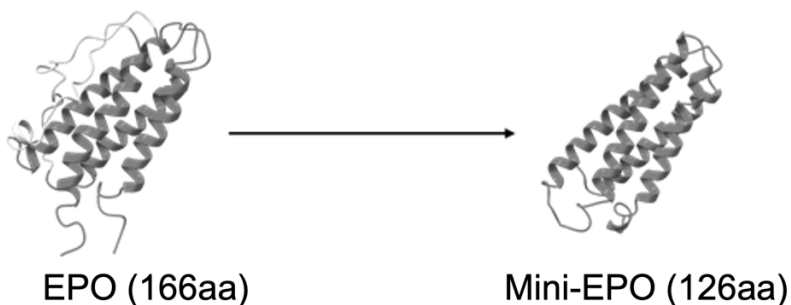
Computational Design and Chemical Synthesis of Mini-Erythropoietin (¹*Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.*, ²*FRC, Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.* ³*Graduate School of Interdisciplinary Science and Engineering in Health Systems, Okayama University*) ○Kazuki Mitsusada¹, Yuta Maki^{1,2}, Kohtaro Hirao^{1,2}, Ayano Satoh³, Yasuhiro Kajihara^{1,2},

Chemical synthesis of proteins has greatly developed; however, several problems remain. In the case of large proteins, the number of synthetic steps increases due to the repetitive peptide ligation and deprotection steps. Consequently, the synthesis requires longer synthetic time and large-scale production is difficult. To address this problem, we aimed to make a small-protein, while keeping its bioactive conformation using computational tools. We chose erythropoietin as the target and designed a miniaturized erythropoietin. We would like to present the details of our design and its chemical synthesis.

Keywords : *Protein Synthesis, Glycoprotein, Protein Design, AlphaFold2*

近年タンパク質の化学合成法は大きく発展し、様々なタンパク質を自在に合成できるようになってきた。サイトカイン類など生理活性を持つタンパク質の合成も行われてきたが、未だにその合成の難易度は高く、また、大量生産には至っていない。これは、タンパク質のサイズの大きさに依存し、ペプチド連結反応ならびに脱保護などの工程数が増えるためである。今回我々は赤血球の増殖を促すエリスロポエチン(EPO)を選び、その生理活性を保ったまま、タンパク質のサイズを小型化するデザインを検討した。受容体との結合に必要な配列を残し、そして、ヘリックス部位の位置の順番を入れ替えたアミノ酸配列をデザインした。また、AlphaFold2を用いて三次構造が保たれるかどうかを確認しながら行なった。次に、この小型化EPO(Mini-EPO)を3つのセグメントに分割し、固相合成後、順次連結しMini-EPOを合成した。同様の手順でN結合型糖鎖を3本持つMini-EPOも合成し、これらの活性評価を行なった。本発表ではこれら詳細を述べる。

Removing loop parts and then rearrangement
of helix positions in polypeptide chain



ペプチドの β -シート構造形成における糖鎖の役割

(阪大理学部¹・阪大院理²・阪大院理フォアフロント研究センター³)

○山田健太郎¹, 真木勇太^{2,3}, 平尾宏太郎^{2,3}, 梶原康宏^{2,3}

Elucidation of novel glycan functions in promoting β -sheet formation of peptides

(¹Sch. Sci., Osaka Univ., ²Grad. Sch. Sci., Osaka Univ., ³FRC, Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)

○Kentarou Yamada,¹ Yuta Maki,^{2,3} Kohtaro Hirao,^{2,3} Yasuhiro Kajihara^{2,3}

Glycans of glycopeptides are known to play crucial functions in stabilizing protein three dimensional structures. However, the detailed mechanisms of glycan functions remain still unclear. Especially there is few study about the role of glycans in β -sheet formation of peptides. To address this issue, we chemically synthesized glycopeptides and peptides in order to study whether a glycan accelerate β -sheet formation. (Fig.1). In this presentation, we report the results of a comparative analysis, demonstrating that glycopeptides form more stable β -sheet structures than peptides.

Keywords : peptide ; beta-sheet ; oligosaccharide

糖ペプチド上の糖鎖はペプチドの 3 次構造の熱安定性を向上させることが知られている。一方で、その糖鎖機能の詳細なメカニズムは明らかでなく、また、ペプチドの 2 次構造形成における糖鎖機能について報告例はほとんどない。今回我々は、 β -シート構造を形成するペプチドに着目し、化学合成した糖ペプチド型およびペプチドを化学合成し、 β -シート構造形成に与える糖鎖機能を解析した (Fig.1)。その結果、ペプチドに比べて糖ペプチドのほうが安定した β -シート構造を形成することが観測された。本発表では、合成および分析についてその詳細を報告する。

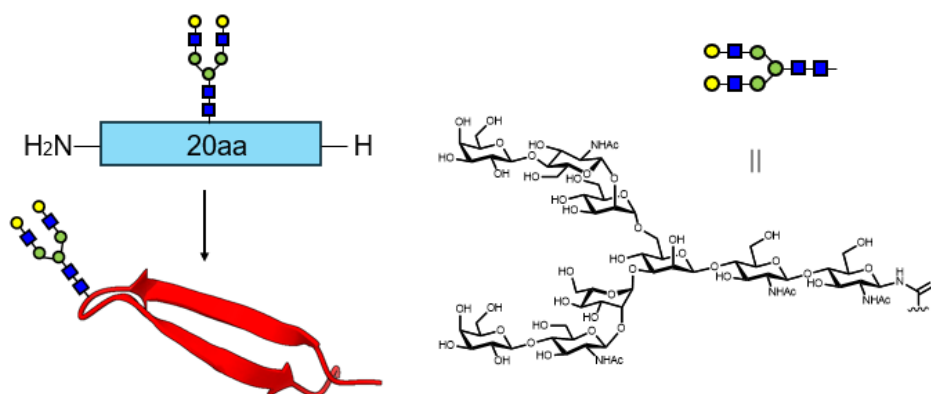


Figure 1. Structure of synthesized glycoferredoxin

腸内細菌 *B. caccae* のイヌリン分解酵素による DFA III 還元末端オリゴフルクトフラノシド生成機構解析

(理研開拓研究本部¹・鹿児島大農²・東科大院物質理工³・阪大院理⁴) ○石渡明弘¹・志手由里奈²・北原兼文²・藤田清貴²・田中克典^{1,3}・伊藤幸成^{1,4}

Analysis of production mechanism of oligofructofranoside with reducing terminal DFA III by inuline-degrading enzyme from *B. caccae* (¹RIKEN CPR, ³Fuc. Agr., Kagoshima Univ., ³Sch. Mat. Chem. Technol., Sci. Tokyo, ⁴Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.) ○Akihiro Ishiwata,¹ Yurina Shite,² Kanehumi Kitahara,² Kiyotaka Fujita,² Katsunori Tanaka,^{1,3} Yukishige Ito^{1,4}

Identification of isolated tri- and tetra-saccharides from inulin degradation by *Bacteroides caccae* was carried by mass and NMR analyses and the results suggested that they are oligofructofuranoside with α -D-fructofuranose β -D-fructofuranose 1,2';2,3'-dianhydride (DFA III) terminal structure, such as β -D-Fruf-(2 $\rightarrow$ 1)-DFA III and β -D-Fruf-(2 $\rightarrow$ 1)- β -D-Fruf-(2 $\rightarrow$ 1)-DFA III, respectively. Functional and structural analyses of the GH91 enzyme were further employed, indicated its unique heterodimeric structure, the key residues and proposed mechanisms in the active site.

Keywords: D-fructofuranoside; inulin-degrading enzyme; intestinal bacterial enzyme; structural analysis.

腸内細菌の一つ *Bacteroides caccae* は、スクロースに β -(1 $\rightarrow$ 2)フルクトシド結合からなる多糖が付加したフルクタンであるイヌリンを資化可能である¹⁾。フルクタンからフルクトースを得て資化していると考えられるが、他のバクテロイデス種から α -D-フルクトフラノース β -D-フルクトフラノース 1,2';2,3'-ジアンヒドリド (DFA III) などの DFA 構造を形成するイヌリンフルクトース転移酵素 (IFTase) 群がみいだされ^{2,3)}、DFA を経由する分解資化機構が提唱されている。これまで *B. caccae* のイヌリン分解は、短縮したフルクタンの生成確認により評価されているが、詳細な機構については、議論の余地があった。今回、イヌリン分解後に、短縮したフルクタン以外の生成物として分離された DFA III 含有オリゴ糖構造の同定、及び糖質加水分解酵素 (GH) ファミリー 91 に属する endo 型 IFTase の機能解析と、機構解析について報告する。

B. caccae によるイヌリン分解において生成する β -(1 $\rightarrow$ 2)-フルクトシド以外の低極性側の生成物の構造決定をおこなった。化学変換、質量分析と NMR 解析にて構造解析したところ、三糖および四糖成分が主成分として分離されており、 β -D-Fruf-(2 $\rightarrow$ 1)-DFA III と β -D-Fruf-(2 $\rightarrow$ 1)- β -D-Fruf-(2 $\rightarrow$ 1)-DFA III であることが明らかとなった¹⁾。*B. caccae* 由来の GH91 類縁体酵素から機能解析と構造解析を行い、新規 IFTase の活性構造としてヘテロダイマーであることと、その触媒残基と endo 型機構の推定を行った¹⁾。

参考文献: 1) Sonnenburg, E. D. *et al.*, *Cell* **2010**, *141*, 1241; 2) Jung, W. S. *et al.*, *J. Biol. Chem.* **2007**, *282*, 8414; 3) Yu, S. *et al.*, *ACS Catal.* **2018**, *8*, 10683; 4) Ishiwata, A. *et al.*, *Submitted for publication*.

Campylobacter jejuni リピド A の化学合成と免疫機能

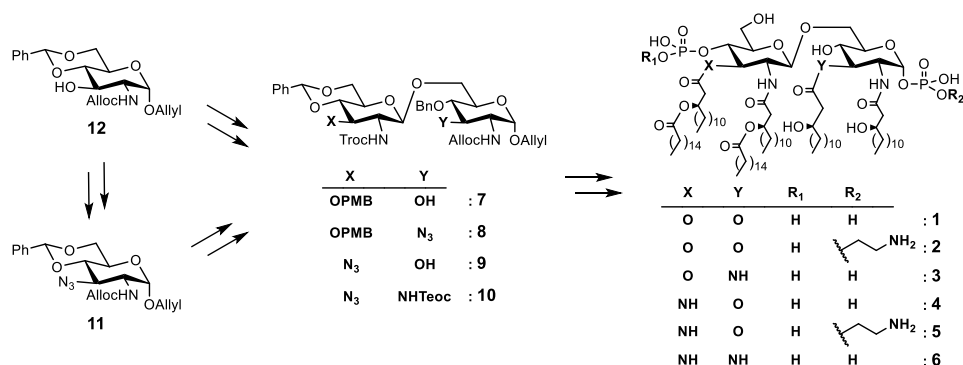
(阪大院理) ○金岡 辰弥・下山 敦史・中川 翔・松浦 良史・藤江 駿成・深瀬 浩一
Chemical synthesis and immune function of *Campylobacter jejuni* lipid A (Graduate School of Science, Osaka University) ○Tatsuya Kanaoka, Atsushi Shimoyama, Sho Nakagawa, Yoshifumi Matsuura, Toshinari Fujie, Koichi Fukase

Lipooligosaccharide is a complex carbohydrate that constitutes the outer membrane of certain gram-negative bacteria, such as *Campylobacter jejuni*. It consists of a sugar chain portion and the glycolipid lipid A attached to the end of the chain. Generally, lipid A is composed of a disaccharide structure consisting of two glucosamine units.¹; however, *C. jejuni* lipid A is unique in that it contains 2,3-diaminoglucose in its disaccharide skeleton. In this study, we synthesized a structurally diverse *C. jejuni* lipid A library with variations in the phosphate groups and sugar skeleton, and evaluated their immune functions.

Keywords : Lipid A; *Campylobacter jejuni*; Autoimmune disease; Immunity

グラム陰性菌の細胞外膜成分リポ多糖 (LPS) は代表的な免疫活性化因子として知られており、多糖末端に活性中心である糖脂質リピド A が結合した構造を有する。大腸菌に代表される一般的な細菌は LPS を産生するが、菌種によっては糖鎖の短いリポオリゴ糖(LOS)を産生する。*Campylobacter jejuni* の外膜は LOS で構成され、オリゴ糖部分構造が、ヒト神経細胞のガングリオンドとの分子相同性がある。そのため、免疫交差反応が誘発され、ギランバレー症候群 (GBS) などの自己免疫疾患が発症することが示唆されている。一般的なリピド A は抗体産生を促進するアジュバント作用を有し、*C. jejuni* リピド A のアジュバント作用の GBS 発症へ関与が考えられるが、*C. jejuni* リピド A の系統的合成は未達成で機能は不明であった。

本研究では糖骨格やリン酸基構造に多様性を有する *C. jejuni* リピド A 群 **1-6** を GlcN 誘導体 **12** と GlcN3N 誘導体 **11** から導かれる単糖誘導体のグリコシル化により鍵二糖中間体群 **7-10** を構築することによって、多様性指向型の戦略で系統的に合成した。また **1-6** の免疫機能を評価し、糖骨格やリン酸基構造の差異が活性に影響を与えることも見出した。



1) N. Yuki, *Lancet Infectious Diseases*, **2001**, 1, 29. 2) A. P. Moran *et al.*, *Eur. J. Biochem.*, **1991**, 198, 459.

マイクロ波制御型ホウ素媒介アグリコン転移反応の開発と植物ホルモン CLE2 の全合成

(慶大理工¹・一般社団法人 ZeroC²・阪大院工³) ○妹尾 一樹¹・稲葉 和樹¹・高柳 亜弥斗¹・和田 雄二²・安田 誠³・戸嶋 一敦¹・高橋 大介¹

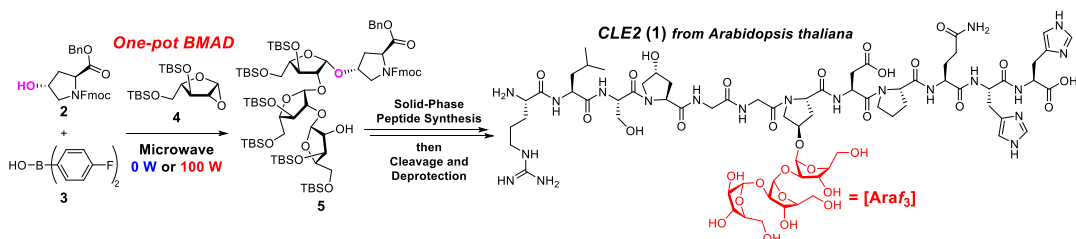
Development of Microwave-Controlled Boron-Mediated Aglycon Delivery and Total Synthesis of Plant Hormone CLE2 (¹*Faculty of Science and Technology, Keio University*, ²*General Incorporated Association ZeroC*, ³*Graduate School of Engineering, Osaka University*) ○Kazuki Senoo¹, Kazuki Inaba¹, Ayato Takayanagi¹, Yuji Wada², Makoto Yasuda³, Kazunobu Toshima¹, Daisuke Takahashi¹

An arabinosylation modification of hydroxyproline (Hyp) with $\beta(1\rightarrow2)$ -triarabinofuranoside ([Araf₃]) attached to its hydroxyl group has attracted attention as a plant-specific and important post-translational modification. CLE2 (**1**), isolated and identified from *Arabidopsis thaliana* in 2009, is a plant peptide hormone proposed to function as a long-range signal from roots to leaves and modified by arabinofuranosylation. In this study, the development of microwave-controlled boron-mediated aglycon delivery (BMAD) and total synthesis of **1** were investigated. It was found that the desired [Araf₃]-O-Hyp **5** could be efficiently obtained in a single step by one-pot BMAD of Hyp-acceptor **2** and 1,2-anhydro donor **4** with microwave irradiation. And then, the first total synthesis of **1** was achieved by solid-phase peptide synthesis.

Keywords : Boron-Mediated Aglycon Delivery; Arabinosylation; Microwave; Plant Hormone; Glycopeptide

ヒドロキシプロリン(Hyp)の水酸基に $\beta(1\rightarrow2)$ -トリアラビノフラノシド([Araf₃])が結合したアラビノフラノシル化修飾は、植物特異的かつ重要な翻訳後修飾として注目されている。2009年にシロイヌナズナより単離・同定された CLE2 (**1**)は、根から葉へ光合成産物を要求する長距離シグナルとして考えられている植物ペプチドホルモンであり、アラビノフラノシル化修飾されている^{1,2)}。しかし、[Araf₃]は熱力学的・立体電子的に不利な 1,2-*cis*- β 構造を含むため、化学合成による構築が困難である。そこで本研究では、当研究室で開発されたホウ素媒介アグリコン転移(BMAD)^{3,4)}とマイクロ波効果を駆使した[Araf₃]の効率的合成法の開発と **1** の全合成を検討した。

まず、ボリン酸**3**存在下、Hypアクセプター**2**と1,2-アンヒドロドナー**4**とのBMAD反応を検討した結果、立体選択的かつ単工程で [Araf₃]-O-Hyp **5** を効率的に合成できることを明らかにした。さらに、同等の反応温度条件下、本反応系にマイクロ波を照射することで **5** の収率が向上することを見出した。その後、ペプチド固相合成、固相からの切り出し、及び脱保護を行うことで、**1** の初の全合成を達成した。



- 1) Ohya, K.; Shinohara, H.; Ogawa-Ohnishi, M.; Matsubayashi, Y. *Nat. Chem. Biol.* **2009**, *5*, 578.
- 2) Okamoto, S.; Kawasaki, A.; Makino, Y.; Ishida, T.; Sawa, S. *Plant Physiol.* **2022**, *189*, 2357.
- 3) Review; Takahashi, D.; Toshima, K. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **2022**, *82*, 79.
- 4) Inaba, K.; Naito, Y.; Tachibana, M.; Toshima, K.; Takahashi, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62*, e202307015.

マンノシルエリスリトールリピッド含有 LNP の合成と核酸導入活性

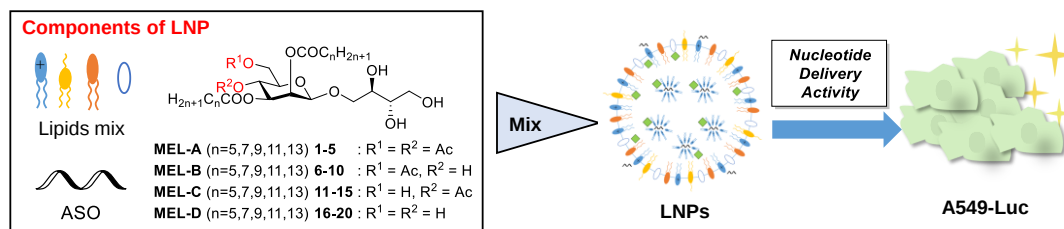
(慶大理工¹・阪大微研²・阪大 CiDER³・阪大 CAMaD⁴・医薬健栄研⁵) ○伊波 美鈴¹・安齋 樹^{2,3}・渡辺 登喜子^{2,4}・阿曾 古都美⁵・笠原 勇矢⁵・戸嶋 一敦¹・高橋 大介¹
 Synthesis of Mannosylerythritol Lipid-Containing LNPs and Their Nucleotide Delivery Activities (¹Faculty of Science and Technology, Keio University, ²Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, ³Center for Infectious Disease Education and Research, Osaka University, ⁴Center for Advanced Modalities and DDS, Osaka University, ⁵National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition) ○Misuzu Iha,¹ Itsuki Anzai,^{2,3} Tokiko Watanabe,^{2,4} Kotomi Aso,⁵ Yuuya Kasahara,⁵ Kazunobu Toshima,¹ Daisuke Takahashi¹

Our laboratory synthesized 20 mannosylerythritol lipids (MELs) **1-20** with different types and fatty chain lengths. In this study, each MEL-containing lipid nanoparticle (LNP) encapsulating antisense oligonucleotides (ASO) was synthesized, and then, their nucleotide delivery activities were evaluated by luciferase assay. As a result, MEL-A (n=9) **3** improved not only the storage stabilities but also the nucleotide delivery activities of LNPs.

Keywords : Mannosylerythritol Lipid (MEL); Lipid Nanoparticle; Antisense Oligonucleotides; Drug Delivery System; Nucleotide Delivery Activity

マンノシルエリスリトールリピッド(MEL)は抗菌活性、肌荒れ改善活性、および遺伝子導入活性などの種々の生物活性を有することから、近年注目を集めている¹⁾。このような背景の中、当研究室では、マンノースの4位及び6位のAc化様式(A-D)と脂肪鎖長が異なる(n = 5, 7, 9, 11, 13) 計20種類のMEL **1-20**を化学合成後、構造活性相関研究を展開してきた²⁾。本研究では、ルシフェラーゼ(Luc)に対するアンチセンス核酸(ASO)³⁾を内包した各種MEL含有脂質ナノ粒子(LNP)を合成後、LNPの粒径測定による保存安定性とLucアッセイによる核酸導入活性を評価した。

まず、作製した各種MEL含有LNPに対して粒径測定を行った。その結果、MEL-A (n=7) **2**およびMEL-A (n=9) **3**を添加した場合、MEL非添加のコントロールと比較して、LNPの粒径を約20 nm小さく制御可能であることを見出した。次に、4℃で1か月間保存後のLNPの安定性を粒径測定により評価した結果、**3**が保存安定性に寄与することを初めて見出した。最後に、MEL含有LNPをヒト肺がん細胞A549-Lucに投与し、Lucアッセイによる核酸導入効率を評価した。その結果、**2**および**3**が核酸導入活性を向上させることを見出した。以上より、MEL-A(n=9) **3**含有LNPが高い保存安定性と核酸導入活性を有する有望なDDSキャリアであることを明らかにした。



- 1) **Review:** Morita, T.; Fukuoka, T.; Imura, T.; Kitamoto, D. *J. Oleo Sci.* **2015**, *64*, 133.
- 2) a) **Review:** Takahashi, D.; Toshima, K. *J. Oleo Sci.* **2024**, *73*, 539. b) Meng, J.; Yasui, C.; Shida, M.; Toshima, K.; Takahashi, D. *Chem. Eur. J.* **2024**, *30*, e202401319.
- 3) Osawa, T.; Kita, R.; Kasahara, Y.; Yamaguma, H.; Nakayama, T.; Kamada, H.; Obika, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2024**, *110*, 117814.

可食性ポリフェノールシナピン酸を活性化剤に用いた光グリコシル化反応

(慶大理工) ○白石 知佳子・高橋 大介・戸嶋 一敦

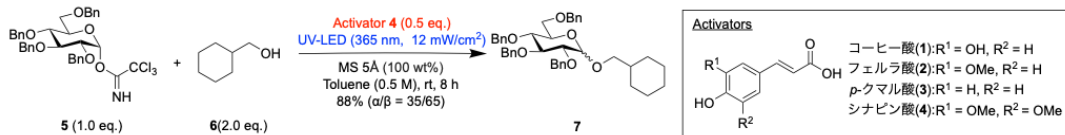
Photo-Induced Glycosylation Using Edible Polyphenol Sinapic acid (*Faculty of Science and Technology, Keio University*) ○Chikako Shiraishi, Daisuke Takahashi, Kazunobu Toshima

Novel environmentally benign and efficient glycosylations are required to establish green carbohydrate chemistry. In this study, we focused on edible polyphenols, caffeic acid (**1**), ferulic acid (**2**), *p*-coumaric acid (**3**), and sinapic acid (**4**), as environmentally benign activators.

Photo-induced glycosylations of glycosyl imidate **5** with cyclohexylmethanol (**6**) using **1-4** were examined. As a result, it was found, for the first time, that when **4** was used, glycosylation reaction proceeded smoothly under long-wavelength UV light irradiation to give corresponding glycoside **7** in high yield. The substrate generality of this reaction will also be reported.

Keywords : Photo-Induced Glycosylation; Edible Polyphenol; Long-wavelength UV Light; Sinapic Acid

医薬品や天然生物活性分子の中には、グリコシド結合を有する配糖体が数多く存在しており、それら配糖体を合成するためのグリコシル化反応が開発されてきた¹⁾。しかし、多くの従来法では、活性化剤として環境高負荷な試薬を必要としており、環境に低負荷かつ効率的に行える新たなグリコシル化反応の開発が強く求められている。このような背景の中、当研究室では、クリーンな光エネルギーで活性化可能な有機光酸触媒を用いた光グリコシル化反応の開発に成功している²⁾。さらに、最近、人体に無害な可食性ポリフェノールであるクルクミン及びエラグ酸を用いた光グリコシル化反応を開発している³⁾。そこで本研究では、新たな活性化剤として、可食性ポリフェノールであるコーヒー酸 (**1**)、フェルラ酸 (**2**)、*p*-クマル酸(**3**)及びシナピン酸 (**4**)を用いた光グリコシル化反応を検討した。その結果、活性化剤としてシナピン酸(**4**)を用いた場合に、グリコシルイミデートドナー**5**とシクロヘキシルメタノール(**6**)との光グリコシル化反応が、365 nm (12 mW/cm², UV-LED)の光照射下で効果的に進行し、望むグリコシド**7**が高収率で得られることを初めて見出した。尚、本反応の基質一般性についても併せて報告する。



- Demchenko, A. V. in *Handbook of Chemical Glycosylation: Advances in Stereoselectivity and Therapeutic Relevance* (Ed.: Demchenko, A. V.), Wiley-VCH, Weinheim, **2008**, pp. 1-27.
- Account: Toshima, K.; Takahashi, D.; Isozaki, Y. *Synlett* **2024**, 35, 777-788.
- (a) Goi, S.; Shigeta, H.; Takahashi, D.; Toshima, K. *Org. Biomol. Chem.* **2024**, 22, 5546-5551. (b) Shigeta, H.; Goi, S.; Takahashi, D.; Toshima, K. submitted.

電解グリコシル化反応を用いた環状(1,3;1,6)- β -グルカン 12 糖の全合成

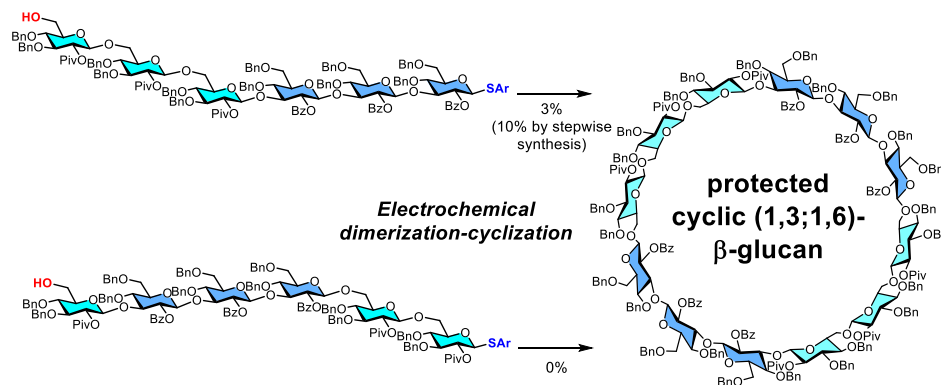
(鳥取大学) ○孫 宇聡・佐々木 紀彦・野上 敏材

Total synthesis of cyclic (1,3;1,6)- β -glucan dodecasaccharides via electrochemical glycosylations (Tottori University) ○Yu-Cong Sun, Norihiko Sasaki, Toshiki Nokami

Electrochemical glycosylation¹ pioneered by Noyori is a method to synthesize oligosaccharides including unnatural cyclic oligosaccharides.^{2,3} We synthesized a hexasaccharide, allowing one-pot synthesis of the corresponding cyclic disaccharide under electrochemical dimerization-cyclization conditions.⁴ The yield was only 3% (10% for sequential synthesis). To our surprise, another hexasaccharide with a similar structure did not afford cyclic oligosaccharides. Therefore, we prepared model disaccharides of two hexasaccharides and compared their oxidation potentials⁵ and relative reactivity values (RRVs)⁶ to elucidate the origin of their reactivity difference. We also performed global deprotection to obtain the desired cyclic dodecasaccharide.

Keywords : Electrochemical glycosylation, Cyclic oligosaccharide, Total synthesis

野依らが開拓した電解グリコシル化法¹は、環状オリゴ糖を含むオリゴ糖の合成が可能である^{2,3}。我々は六糖を用いて電気化学的二量化-環化条件で環状十二糖のワンポット合成を行った⁴。収率は3%（逐次合成では10%）であった。驚くことに、類似した他の六糖では環状糖は得られなかった。そこで、2つの六糖のモデル二糖を調製し、酸化電位⁵と相対反応性値(RRV)⁶の比較を行った。そして、合成した環状十二糖の脱保護にも成功した。



- 1) R. Noyori, I. Kurimoto, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4322.
- 2) S. Manmode, S. Tanabe, T. Yamamoto, N. Sasaki, T. Nokami, T. Itoh, *ChemistryOpen* **2019**, *8*, 869.
- 3) H. Endo, M. Ochi, M. A. Rahman, T. Hamada, T. Kawano, T. Nokami, *Chem. Commun.* **2022**, *58*, 7948
- 4) A. Shibuya, Y. Ishisaka, A. Saito, M. Kato, S. Manmode, H. Komatsu, M. A. Rahman, N. Sasaki, T. Itoh, T. Nokami, *Faraday Discuss.* **2023**, *247*, 59.
- 5) S. Manmode, K. Matsumoto, T. Nokami, T. Itoh, *Asian J. Org. Chem.* **2018**, *7*, 1719.
- 6) Z. Zhang, I. R. Ollmann, X.-S. Ye, R. Wischnat, T. Baasov, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 734.