

(様式 11)

平成 28 年 2 月 17 日

学 位 論 文 審 査 要 旨 (課程博士)

東京農工大学大学院工学府長 殿

審査委員 主査 櫻井 香里  
副査 太田 善浩  
副査 中村 暢文  
副査 長澤 和夫  
副査 養王田 正文  
副査



学位申請者	生命工学 専攻 平成 25 年度入学 学籍番号 13831207
	氏 名 山田里佳
申請学位	博 士 (工学)
論文題目	抗癌活性化合物 OSW-1 の作用機構解明に向けた蛍光プローブ及びフォトアフィニティプローブの合成と解析
論文審査要旨 (2000 字程度)	
<p>OSW-1 はユリ科植物球根から単離及び構造決定されたサポニン化合物であり、癌細胞選択的かつ強力な抗癌活性を示す。OSW-1 作用は既存の抗癌活性分子とは異なる新規機構によることが示唆されていることから、その解明により新規制癌機構の発見や新規抗癌薬の開発につながることを期待される。OSW-1 の細胞内の作用点の解明と結合タンパク質の探索および同定は、OSW-1 の分子レベルでの作用機構解明に繋がる。本論文では、化学的アプローチによる OSW-1 の作用機構解明を目指し、OSW-1 の天然物を利用して効率的誘導化することで機能性プローブを開発し、細胞における OSW-1 の挙動を分子レベルで解析結果について述べられており、全 5 章と実験の部から構成される。</p> <p>第 1 章 (序論) においては、OSW-1 がユリ科植物より単離されその特異な生物活性が発見された経緯やこれまでに明らかにされた作用機構に関する知見などの背景についてまとめ、本研究の目的と意義について述べられている。</p> <p>第 2 章においては、OSW-1 蛍光プローブの効率的な合成法の開発についての成果が述べられている。当研究室において確立された天然物である OSW-1 の植物球根からの精製調達法と 3 次元構造に関する知見を利用して、まず無保護の OSW-1 に対して位置選択的な誘導化を可能とする合成法の開発を行った。その結果、OSW-1 の xylose 1,2-diol 構造に着目し有機スズ試薬である <math>\text{Me}_2\text{SnCl}_2</math> を用いることで、5 つ存在する OSW-1 の水酸基のうち、xylose 3''位及び 4''位水酸基を良好な収率でモノアシル化できることを見出した。この誘導化法を用いて望みの OSW-1 蛍光プローブを収率 61%で得た。細胞増殖阻害活性試験より、合成した蛍光プローブは OSW-1 と同等の抗癌活性を保持することを明らかにした。この蛍光プローブの開発により、細胞における OSW-1 の分子レベルでの挙動解析が</p>	

(様式 11)

初めて可能となった。

第3章においては、OSW-1 蛍光プローブの細胞内取り込み及び局在解析について述べられている。第2章において合成した蛍光プローブを HeLa 細胞に投与し、蛍光イメージング解析を行った。その結果、OSW-1 が細胞に取り込まれることを初めて示した。次に、蛍光プローブの細胞内取り込みの温度依存性を解析したところ、低温条件下では OSW-1 の細胞内への取り込みは停止し、OSW-1 が ATP などのエネルギー依存的に細胞内に取り込まれることが示唆された。細胞小器官特異的染色剤との共染色解析の結果、OSW-1 はゴルジ体や小胞体に主に局在することを初めて明らかにした。

第4章においては、OSW-1 フォトアフィニティープローブの合成及び機能解析について述べられている。生細胞中での OSW-1 結合タンパク質の探索及び同定を目指し、OSW-1 フォトアフィニティープローブの設計及び合成を行った。まず第2章において開発した、 $\text{Me}_2\text{SnCl}_2$  を用いた 4'' 位水酸基選択的モノアシル化法を用いて、フォトアフィニティーラベルを 1 工程で導入する方法を検討した。しかし、良好な収率が得られなかったため、リンカーをアシル化反応により導入した後に、フォトアフィニティーラベルをアミドカップリングする 2 工程でのプローブ合成を検討した。その結果、目的の OSW-1 フォトアフィニティープローブを収率 61% で得た。細胞増殖阻害活性試験から、合成したプローブは OSW-1 とほぼ同等の抗癌活性を保持することが示された。プローブが望みの機能を有しているかを確かめるために、モデル結合タンパク質を用いて、光反応による解析を行った。その結果、OSW-1 が光照射依存的に結合タンパク質を検出できること、光反応生成物に対して click chemistry により任意の検出基を導入できることを明らかにした。このことから、合成したプローブがフォトアフィニティープローブとしての機能を有しており、生細胞中におけるフォトアフィニティーラベリングを用いた OSW-1 結合タンパク質の探索において有用であることが期待された。

第5章では、本研究を総括しその意義と展望について述べられている。