

学位論文の内容の要約

氏名	山田里佳
学位の種類	博士（工学）
学府又は研究科・専攻	大学院工学府 生命工学専攻
指導を受けた大学	東京農工大学
学位論文題目	抗癌活性化化合物 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ープローブの合成と解析

【論文の内容の要約】

第 1 章：序論

OSW-1 は、様々な種類の癌細胞に対して選択的かつ強力な抗癌活性を示す。本研究では、OSW-1 の作用機構解明のために OSW-1 機能性プローブ分子を開発し、細胞における OSW-1 の挙動を分子レベルで解析することを目指した。そのために、1) OSW-1 自体の細胞における挙動を可視化する蛍光プローブを合成して解析を行うこと、2) 生細胞中での結合タンパク質探索が可能な OSW-1 フォトアフィニティー(PA)プローブを合成することを目的とした。

第 2 章：OSW-1 蛍光プローブの効率的な合成法の開発

OSW-1 の 3 次元構造に関する知見を利用して、OSW-1 蛍光プローブを設計した。OSW-1 へ酸クロライドを有する蛍光基を作用させた結果、xylose 部位の水酸基の反応性が高いことを見出した。そこで OSW-1 機能性プローブの簡便な合成を目指し、OSW-1 の効率的な誘導化法の開発を目的とした。検討の結果、 Me_2SnCl_2 を用いることで OSW-1 xylose 4'' 位水酸基を選択的にモノアシル化できることを見出した。合成した蛍光プローブは OSW-1 と同等の抗癌活性を保持し、細胞における OSW-1 自体の挙動解析が可能になると考えられた。

第 3 章：OSW-1 蛍光プローブの細胞内取り込み及び局在解析

OSW-1 の細胞における分子レベルでの局在解析のために、第 2 章において合成した OSW-1 蛍光プローブの HeLa 細胞内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示した。低温になると OSW-1 の細胞内への取り込みが停止したことから、OSW-1 がエネルギー依存して細胞内に取り込まれてい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の結果、OSW-1 はゴルジ体や小胞体に主に局在していた。この結果から、OSW-1 は膜成分に濃縮されている可能性が考えられた。

第 4 章：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

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-1PA プローブの設計及び合成を行った。第 2 章において開発した、 Me_2SnCl_2 を用いた 4'' 位水酸基選択的モノアシル化反応を用いて目的の OSW-1PA プローブを得た。合成したプローブは OSW-1 とほぼ同等の抗癌活性を保持していた。また、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を示し、フォトアフィニティープローブとしての機能を有していることを示した。

第 5 章：総括

本研究では、OSW-1 機能性プローブを用いて抗癌活性化化合物 OSW-1 の分子レベルでの作用機構解明を目指した。第 2 章では OSW-1xylose 4'' 位選択的なモノアシル化法を開発し、収率良く目的の蛍光プローブを得た。第 3 章では OSW-1 が細胞に取り込まれ、小胞体やゴルジ体に局在することを明らかにした。第 4 章では生細胞中での結合タンパク質の探索に向けて、第 2 章において開発した位置選択的なモノアシル化反応を応用して、望みの機能を有する OSW-1PA プローブを合成した。抗癌活性を保持している OSW-1PA プローブにより、生細胞中における OSW-1 の未知結合タンパク質の探索及び同定が期待される。