JAIST Repository
https://dspace.jaist.ac.jp/

Title	溶液NMR法を用いた糖鎖の構造と水和との連関の解明
Author(s)	龍岡，博亮
Citation	
Issue Date	2023-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/10119/18435
Rights	
Description	Supervisor:山口 拓実，先端科学技術研究科，博士

JAIST
JAPAN
ADVANCED INSTITUTE OF
SCIENCE AND TECHNOLOGY

Japan Advanced Institute of Science and Technology

氏　　名	龍岡　博亮		
学　位　の　種　類	博士（マテリアルサイエンス）		
学　位　記　番　号	博材第 559 号		
学位授与年月日	令和 5 年 3 月 24 日		
論　文　題　目	溶液 NMR 法を用いた糖鎖の構造と水和との連関の解明		
論文審査委員	山口　拓実	北陸先端科学技術大学院大学	准教授
	大木　進野	同	教授
	芳坂　貴弘	同	教授
	桶葭　興資	同	准教授
	松尾　一郎	群馬大学	教授

論文の内容の要旨

Biological functions of carbohydrates are exerted mainly through their interactions with lectins. The hydration as well as the structure of carbohydrates are considered to be important factors for the selectivity and affinity of carbohydrate recognitions. In this study, I elucidated the relationship between hydration and structural characteristics of carbohydrates.

To characterize unique solvation environments according to the geometric characteristics of carbohydrates, I attempted to investigate behaviors both of carbohydrates and waters. By solution NMR analyses and molecular dynamics simulations, in conjunction with chemical synthesis of carbohydrates, it was revealed that carbohydrates modulate their interactions with surrounding water molecules and hydration sphere based on the chemical structure and sequence of carbohydrates. On the other hand, I also found that the hydrophobic interaction between sugar residues is important to regulate the conformation of carbohydrates in solution.

The $^{1}H/^{2}H$ isotope shifts in NMR were applied to study the proton exchanges between carbohydrate and water and between water molecules. To focus on the differences in sequence and linking type, three compounds, GLC1-3MAN, MAN'1-3MAN, and MAN'1-2MAN, were synthesized and analyzed by NMR using H_2O/D_2O mixed solvents. NMR measurements to focus on the carbohydrate hydroxy groups revealed that the carbohydrate–water proton exchange in GLC1-3MAN solution proceeded slower than in the others. Meanwhile, the frequent proton exchange between waters in GLC1-3MAN solution was shown by NMR observations of water signals. The results suggested that GLC1-3MAN promotes water structuring more efficiently than the others. Furthermore, bridging water molecules between the hydroxy groups were identified prominently in GLC1-3MAN by molecular simulations. These results indicate that the presence of water molecules strongly bound to carbohydrates by cross-linking their hydroxy groups is a key factor for the expansion of water networks.

To examine the effect of water on carbohydrates in solution, I also observed the conformational changes of Lewis X (Gal1-4(Fuc1-3)GlcNAc) in water and methanol, as a model carbohydrate. The NMR analyses of synthetic Lewis X carbohydrates revealed that a conformation of Lewis X is stabilized by water and the conformation changes in methanol with increase of the GlcNAc ring puckering. It was suggested that hydrophobic interactions between the Gal and Fuc residues are important for the conformational control of Lewis X.

Based on solution NMR spectroscopy, I established a methodology that approaches the carbohydrate hydrations from both the carbohydrate and water aspects. I succeeded to reveal both the effects of carbohydrate structure on water and

the effects of water on carbohydrate structures. This study will promote the understanding of the functioning mechanisms of carbohydrates in aqueous solution. It is also expected that the findings contribute to the development of applicable carbohydrate materials including new drugs and biomarkers.

Keyword: NMR, Carbohydrate, Hydration, Structure, H/D isotope shifts

論文審査の結果の要旨

本論文は、糖鎖の機能を制御する要因として水和に注目し、糖鎖の構造-水和挙動の連関の解明に取り組んだものである。糖鎖の機能発現には、その化学構造や立体構造に加え、水和が重要な因子として考えられる。また糖鎖は医療のターゲットとしても注目されており、新薬の開発等へ応用するためにも、その水和構造の理解は役立つものと言える。

第 1 章では、研究の背景と意義等について以下の趣旨が述べられている。生命科学分野において糖鎖認識に関する研究が、構造生物学的な観点から進めれてきた。一方、糖鎖の水和に関する知見は、溶液中の水の振る舞いをマクロ的に調査したものがほとんどであった。本論文では、糖鎖の構造と水和の関係を知るために、糖鎖が水に与える影響と、水が糖鎖に与える影響をそれぞれ詳細に調査することが必要であると考えた。そこで溶液 NMR 法に着目し、さらに有機合成による糖鎖の作り分けや、分子シミュレーションによる解析を組み合わせ、糖鎖の構造と水和について系統的に観測・比較を行うことを構想した。

第 2 章では、糖鎖の水和を解析するための方法論の確立を行なった。糖鎖の水和を調査するために、本論文では、溶質と溶媒の両方に注目した解析を行うこととした。そのために NMR の同位体シフトを利用して、糖と水、及び水同士の相互作用を観測し、水分子ネットワークを調べる解析法を確立することに成功した。続く第 3 章ではその手法を活用し、糖鎖の配列や結合様式が水和にどのような影響を与えるかを考察した。細胞内で重要な働きをする高マンノース型オリゴ糖鎖をモデルとして、その部分構造である 3 種類の二糖構造を合成し、水和挙動の違いを明らかにした。その結果、糖鎖が、化学構造や配列の違いにより周囲の水の配置を変化させ、水和圏の範囲を制御していることを示した。さらに第 4 章では、糖鎖が溶液中で水から受ける効果を考察した。細胞表面に見られるルイス X 糖鎖をモデルとして、溶媒の違いでおこる立体構造の変化を解析した。これを通して、糖鎖のコンフォメーション制御に対する疎水性相互作用の役割を明らかにした。

第 5 章では研究成果を総括するとともに、今後の展望が述べられている。本論文により、糖鎖の構造やダイナミクスと水和の連関を、総合的に理解するための基盤を築くことができたと言える。研究成果は、糖鎖が誘起する水のネットワーク構造の違いが、生体内での糖鎖の識別に重要であることを予想させるものである。また、水和構造の理解による機能制御を通して、糖鎖のマテリアル応用へと発展することが展望としてまとめられている。以上、本論文は NMR 解析、計算実験、化学合成を統合した方法論をまとめあげ、糖鎖の水和と構造特性の関係を明らかにするなど学術的に貢献するところが大きい。従って、博士（マテリアルサイエンス）の学位論文として十分価値あるものと認めた。