



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Synthetic Study on ADP-ribosylation

Liu, Q.

Citation

Liu, Q. (2019, November 27). *Synthetic Study on ADP-ribosylation*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/80840>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/80840>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The following handle holds various files of this Leiden University dissertation:
<http://hdl.handle.net/1887/80840>

Author: Liu, Q.

Title: Synthetic Study on ADP-ribosylation

Issue Date: 2019-11-27

Chinese Summary

中文总结

本论文的研究方向为二磷酸腺苷核糖基化 (ADP-ribosylation) 相关分子的有机合成及生物学应用。二磷酸腺苷核糖基化是蛋白质转录后修饰 (post-translational modification) 的一种, 其结果是在酶的催化下, 将单二磷酸腺苷核糖 (mono ADP-ribose, or MAR) 或聚二磷酸腺苷核糖 (poly ADP-ribose, PAR) 转移到蛋白质的亲核性氨基酸侧链上。这种修饰在许多细胞生理过程和病理机制中发挥着重要作用, 像 DNA 修复, 细胞凋亡, 转录调节, 肿瘤产生, 神经退行和炎症等。鉴于一系列关于二磷酸腺苷核糖基化的生物难题仍未解决, 化学合成相关工具分子具有极大的应用价值。本文主要描述各种单或寡居二磷酸腺苷核糖基化分子 (mono or oligo ADP-ribosylated molecule) 的合成。

第一章描述了基于有机合成方向二磷酸腺苷核糖基化的研究进展 (Chemical ADP-ribosylation)。本章节从介绍二磷酸腺苷核糖基化的生物学意义入手, 着重介绍了合成这种生物聚合物的难度所在: 1. 立体选择性地在多种氨基酸侧链上构建 α 糖苷键, 2. 2' 位腺苷的选择性糖基化, 3. 多个焦磷酸键的构建。本章随后介绍了近年来有机合成 (单) 二磷酸腺苷核糖基化多肽和寡聚二磷酸腺苷核糖的研究进展。

第二章描述了分枝状二磷酸腺苷核糖片段及其生物素化衍生物的合成。本章上半部分描述了天然分枝状二磷酸腺苷核糖片段核糖基-核糖基-腺苷三磷酸的有机合成并与 1981 年 Miwa 报道的酶合成的相同化合物具有相同的核磁共振图谱, 间接证明了 Miwa 解析的化学构型的正确性。下半部分描述了生物素标记的分枝状和直连状二磷酸腺苷核糖片段的有机合成, 为以后探究分枝状聚合二磷酸腺苷核糖结合蛋白的发现打下基础。

第三章探究了多个焦磷酸键构建的方法。焦磷酸键在生物学中具有重要意义而其化学合成非常困难。本章节采用新型碱敏感的苄甲基 (Fm) 作为磷酸的保护基, 通过固相上的 P(V)-P(III) 策略成功合成了 3',5' 焦磷酸键相连的脱氧胸腺嘧啶核苷寡聚物, 包括十聚体。这种合成方法为后来的寡居二磷酸腺苷核糖 (oligo ADPr) 的合成提供重要参考。

第四章描述了一种固相合成寡居二磷酸腺苷核糖 (oligo ADPr) 的方法。创新之处是采用上一章节的苄甲基保护基策略, 将合成的复杂的直连状亚磷酸酰胺用于基于 P(V)-P(III) 策略的寡居二磷酸腺苷核糖的固相合成, 最后首次成功合成了二磷酸腺苷核糖的五聚体。此外, 采用相似方法, 合成了生物素化的寡居二磷酸腺苷核糖, 可以用于未来蛋白质组学研究。

第五章描述了分枝状寡居二磷酸腺苷核糖的全合成。我们首先合成了复杂的含有两个磷酸三酯的分枝状的亚磷酰胺，并将它用于固相合成。在完成第一个焦磷酸键构建后，端基的苄甲基（Fm）被选择性脱保护，进而与腺苷亚磷酰胺缩合同时得到第二和第三个焦磷酸键。此分子对于研究分枝状二磷酸腺苷核糖结合蛋白具有极大价值。

第六章描述了二磷酸腺苷核糖基化天冬酰胺（ADPr-Asn）的合成，及其作为二磷酸腺苷核糖基化天冬氨酸(ADPr-Asp)的稳定化电子等排体用于 *Macrodomains* 的结构研究。天冬氨酸是二磷酸腺苷核糖基化的常见位点，然而酯糖苷键容易发生迁移，不适于生物结构研究。采用结构相近，但不易迁移的酰胺键，如天冬酰胺，可以很好的解决这一问题。在本章中，我们首先合成了二磷酸腺苷核糖基化天冬酰胺，并用其作为底物与 *Methanobrevibacter oralis macrodomain* (MorMOD)进行共结晶，得到其蛋白质结合和催化的生物数据。

第七章描述了一种合成三氮唑连接的二磷酸腺苷核糖基化多肽和蛋白质的方法。由于传统的二磷酸腺苷核糖基化多肽合成时间周期长，产率低，我们采用点击化学（click chemistry）的策略，分别合成带有炔丙基的二磷酸腺苷核糖和带有叠氮基的多肽或蛋白质，将两者用铜催化的炔-叠氮环加成的反应进行拼合得到了三氮唑连接的二磷酸腺苷核糖基化多肽或蛋白质（泛素）。生物活性数据表明，合成的三氮唑连接的二磷酸腺苷核糖基化的泛素具有与天然产物相似的生物活性，表明该方法为研究二磷酸腺苷核糖基化生物学提供了一个重要的化学平台。

第八章总结了本论文的所有章节并且对未来二磷酸腺苷核糖基化的化学合成进行简要展望。