

氏 名	み 三 村 充
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 141 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科・専 攻	工芸科学研究科 材料科学専攻
学 位 論 文 題 目	Conformation Analysis of Saccharide Chain in Aqueous Solution
審 査 委 員	(主査) 教 授 梶 原 莞 爾 教 授 原 三 郎 教 授 寺 本 正 明

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、糖鎖の生理活性や機能が形態と強い相関があるとの視点から、溶液中における糖鎖分子の形態を明らかにすることを目的としてまとめられている。糖鎖の形態を調べる手段としては X 線結晶構造解析が有力とされているが、糖鎖が生理活性化を発現するのは主として溶液中であることから、溶液中における糖鎖の高次構造を知ることが機能との相関を考える上で重要であるとしている。そのため、構造解析の手段として溶液小角 X 線散乱法とモンテカルロ法による計算機シミュレーションを組み合わせた手法を開発し、この手法により糖鎖の形態を検討している。また、多糖類の多くが分子間の強い相互作用のために水溶液中で容易に会合することから重合度の高い糖鎖について鎖の固有の性質を検討することが困難であるため、溶液中に孤立鎖として比較的容易に分散することが期待される単純糖鎖の単分散分子量のオリゴ糖をもちいて糖鎖の形態を調べている。

本論文は General Introduction に始まる 4 章立てで構成されている。

General Introduction では研究の背景を述べると共に小角 X 線散乱法の一般理論及びモンテカルロ法シミュレーションの原理を説明している。

1 章 から 4 章 では、(1 → 2)-β-D-glucan (sophoran), (1 → 3)-β-D-glucan (laminaran), (1 → 4)-α-D-glucan (amylose), (1 → 4)-β-D-glucan (cellulose), (1 → 4)-β-D-xylan, (1 → 4)-β-N-Glucosamine (chitosan) の直鎖ホモグルカンのオリゴマー、さらに、(1 → 2)-β-D-glucan, (1 → 4)-α-D-glucan の環状オリゴマーについて主鎖の構造毎にまとめて述べている。

分子鎖の計算機シミュレーションには、分子力学計算に基づいたモンテカルロ法を用いた。分子力学計算に必要な力場には MM2 相当の力場を用い糖鎖の計算用に最適化されたパラメータを選んで使用した。さらに、このシミュレーションでは、系を単純にするために、構成糖残基の構造自体は安定でその熱揺らぎは無視できるとした。また、その構造の内部エネルギーはグリコシド結合で結ばれている最近接残基間の相互作用の寄与のみを主に考慮した。従って、グリコシド結合における 2 面体角 (ϕ , ψ) を変化させながらエネルギーを計算して、2 面体角 (ϕ , ψ) についての 2 次元エネルギーマップを作成した。これをエネルギー平面全体の積分値で規格化し、2 面体角 (ϕ , ψ) の組み合わせの出現確率に変換した。この確率に従ってモンテカルロ法により、分子鎖を数百本以上生成した。ここで得られた分子鎖の原子座標から小角散乱プロファイルを理論計算し、生成した鎖に対しての平均を取り実測散乱プロファイルと比較し得る散乱曲線を求めた。このシミュレーションの手法をワークステーション上で確立することに成功した。

アミロースのオリゴマーであるマルトオリゴ糖について、その溶液中での形態を小角 X 線散乱法によって直接観察し、さらに上述のシミュレーションからの結果と比較することにより、その形態を解析した。エネルギー計算によって得られたマルトビオースの 2 次元エネルギーマップには 1 kcal/mol 以下の領域がかなり広く、最低エネルギー領域の -2 kcal/mol と大きく差のないことから螺旋構造に富んだ形態をとることが推測された。このエネルギーマップを用いてシミュレーションを行なうと、アミロースのオリゴマーは螺旋に近い構造が優位であることが分子モデルの可視化からわかった。シミュレーションで得られた散乱曲線は実測と良く一致しており、シミュレーションの結果は溶液中での構造をよく反映していると結論した。

この解析方法を用いて種々の骨格構造を有する糖鎖について同様の構造解析を行ない、散乱法による直接観察とシミュレーションによる結果により一致を常に見いだすと同時に、各々の糖鎖は結合様式の違いに起因すると思われる特徴ある形態をもつことを示した。環状構造を持つ糖鎖についてもこの構造解析手法が有効であるとの結果も得た。

糖鎖の高次構造は従来剛直か、それ以外はランダムコイルとして考えられていたが、この小角 X 線散乱と計算機シミュレーションの結果から、糖鎖の高次構造は決してランダムではなく、その構成残基、結合様式によってある特定の高次構造（特に 2 次構造）を統計的に有為に取っていることが明らかになった。ホモグルカンのように構成残基が同じでも、結合様式が違うだけのセルロースとアミロースが全く異なった物性（例えばアミロースは水に易溶で、セルロースを溶媒に溶かすことは極めて難しい）や生理活性（例えば一本鎖の (1→3)- β -D-glucan は抗ガン活性を示すがその他の多糖は示さない）を持っていることは、この特定の高次構造が、糖鎖の機能発現において重要な役割を果たしていることを示唆した。

論文審査の結果の要旨

糖鎖の生理活性に代表される生体内での役割が明らかにされるにつれ、その機能を応用しようとする試みが数多く見られるようになった。しかしながら、糖鎖機能の研究の礎ともなる、希薄溶液中での分子鎖形態に関しては大きな進展が見られなかった。申請者は、糖鎖の形態を小角 X 線散乱法による直接観察とモンテカルロ法を用いた糖鎖分子の計算機シミュレーションとを組み合わせた手法で検討した。この手法の開発自体が独創的な仕事であり高く評価され得る。さらに、この手法を結合様式の異なる 5 種の糖鎖に用いて各々の分子鎖形態の違いを明らかにすることにも成功している。これらの分子鎖の intrinsic な性質は、今後の機能性多糖類の分子設計や生理活性発現機能の解明の第一歩として大きな意味を持ち、この分野の発展に寄与するものと確信する。

本論文の内容は、次に示すように審査規定のある学術雑誌に公表されている。

- Conformation of Cyclic and Linear (1→2)- β -D-Glucan in Aqueous Solution, Mimura, M., Kitamura, S., Gotoh, S., Takeo, K., Urakawa, H., Kajiwara, K., *Carbohydr. Res.*, **289**, 25-37 (1996)
- Gelation and Its Relevance to the Function of Polysaccharides, Mimura, M., Urakawa, H., Kajiwara, K., Kitamura, S., Taeko, K., *Macromol. Symp.*, **99**, 43-55 (1995)
- Conformation of (2→1)- β -D-Fluctan in Aqueous Solution, Kitamura, S., Hirano, T., Mimura, M., Kajiwara, K., Stokke, B., Harada, T., *Int. J. Biol. Macromol.*, **16**, 313-317 (1994)
- Conformational Dimensions and Scattering Function of (1→3)- β -D-Glucan Calculated by Monte Carlo Method, Kitamura, S., Minami, T., Nakamura, Y., Takeo, K., Kobayashi, H., Mimura, M., Kajiwara, K., *J. Mol. Struct.*, in press.