

氏 名	やま 山 中 重 宣
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 220 号
学位授与の日付	平成12年 3 月 24 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	分子動力学法による糖鎖の形態に関する研究
審 査 委 員	(主査) 教 授 梶 原 莞 爾 教 授 濱之上熊男 教 授 原 三 郎

論 文 内 容 の 要 旨

本論文で対象となっているのは、1,4-β-D-グルコースを基本骨格とするキシログルカンである。グルコース基を有する天然高分子は、植物界、動物界に広く分布しており、我々の生命活動のエネルギー源として、またその他種々の生理活性を司る基本物質として重要であるが、その結合様式の多様性が生理活性発現を分子レベルで理解する妨げとなっている。ここで重要なのは、生理活性状態でのグルコース鎖及びその分子集合体の構造であるが、多くのグルコース鎖はゲルを形成することから分かるように、水溶液中では殆どのグルコース鎖は超分子構造を取り、これまでその分子構造を明らかにすることは困難を極めた。このような背景の下に、本論文ではポリグルカンの内でも最も量的に多いグリーンポリマー（バイオマス）であるポリ1,4-β-D-グルカンを中心に、孤立分子鎖の構造、分子集合体の構造を小角X線散乱法と動力学法を組み合わせる解析し、糖鎖の溶液中での構造解析の新しい手法を提案するとともに、解析結果を基に分子集合体形成のメカニズムを考察している。

本論文は、以下に述べる6章から構成されている。

第一章はポリ1,4-β-D-グルカンの主要産物であるセルロースの溶液中の構造解析の歴史を俯瞰し、問題点を明らかにすると共に、ポリ1,4-β-D-グルカン主鎖の構造的性質を整理している。この整理を通じて、ポリ1,4-β-D-グルカンの溶液中の構造解析がなぜ困難であるか、より精度良く構造解析をするためにはどのような手段が有効であるかを考察した。

第二章において、食品添加物として広く用いられているタマリンド種子由来多糖類（TSP）キシログルカンの水溶液中の構造解析を試みた。TSPキシログルカンはセルロース骨格（ポリ1,4-β-D-グルカン）を持ち、部分的に1,6-α-xyloseあるいは1,2-β-galacto-xylose分岐がある。そのため比較的よく水に溶け、高粘性溶液を生じるが、それ自体ゲルになることはない。ポリ1,4-β-D-グルカン骨格は酵素（end-1,4-β-glucanase）により切断され、4種類の繰り返し単位（モノマー）及びそのオリゴマーを生じる。これら試料を分離精製し、その水溶液からの小角X線散乱を測定した。またこれらモノマーのコンフォメーションを水分子存在下で分子動力学によるシミュレーションを行い、得られた結果から直接散乱因子を計算することにより、実験より得られた散乱プロファイルと比較し、キシログルカンモノマーの骨格が比較的伸びていること、側鎖がその骨格に垂直に突き出ていること、そのため全体としてはリボン状の構造を取っていることを明らかにした。さらにキシログルカンオリゴマー水溶液からの小角X線散乱実験から、1,4-β-D-グルカン骨格はセルロース結晶類似のジグザグ構造を取り、モノマー当たり約1nmづつ骨格が長くなることを見出した。

第三章では、第四章以下で議論することになる。キシログルカングル構造の基礎モデルを構築する。まず系として理想的なネットワーク構造を取ると予想されるポリシロキサンを例に取り、ポリシロキサンネ

ネットワーク形成過程を時分割小角X線散乱により観察した結果を、Flory-Stockmayerの古典的な樹木モデルで定量的に解析することに成功した。

第四章は前章の結果を受けて、Flory-Stockmayerモデルを酵素部分分解により生じるキシログルカンゲルに適用する。TSPキシログルカンは、ガラクトース側鎖を酵素 (β -galactosidase) により選択的に分解することにより、熱可逆性ゲルを形成する。これはガラクトース基を取ることで疎水性が増し、キシログルカン鎖が部分的に会合、その会合部分が架橋ドメインとなりゲル化すると考えられる。まず架橋ドメインとなる会合部分の分子モデルを構築し、この架橋ドメインの成長がゲル形成に至ることを定量的に示した。この場合、会合部分はリボン状のキシログルカン鎖が一系列に並んだ秩序構造を持つことが明らかになった。

第五章におけるエタノール添加キシログルカンゲルは、酵素部分分解キシログルカンゲルと異なり、会合部分は秩序構造を取らない。温度を上昇させながら、エタノール添加キシログルカンゲルが溶解する過程を時分割小角X線散乱で観測し、その結果をランダム凝集が架橋ドメインを形成すると仮定して解析した。その結果エタノール添加キシログルカンゲルは溶解性低下によりミクロ相分離に起因することを明らかにした。

第六章は、以上の結果・考察を総括して、今後糖鎖の生理活性を理解するためには系中の水の挙動が重要であること、水を含めた糖鎖の構造解明には小角X線散乱法と分子動力学を組み合わせた研究方法が有効であることを強調している。

論文審査の結果の要旨

本論文で申請者は、糖鎖、特に1,4- β -D-グルカン骨格を持つタマリンド種子由来キシログルカン鎖の構造解析の手法の展開と、その結果に基づくキシログルカンゲル形成の分子論的考察を行っている。分子動力学法と小角X線散乱法を組み合わせ、これまで分子レベルでの解析が不可能であった糖鎖と水の相互作用を、定量的に解析する可能性を示唆している。本論文の独創性は次の部分に認められる。

- (1) 酵素による主鎖切断を利用してオリゴマーを精製し、それを標準試料として、小角X線散乱法により溶液中の構造を解析し、分子動力学法と組み合わせて、超分子構造を取るために解析不可能であった1,4- β -D-グルカン骨格の溶液中の構造を視覚的に明らかにした。特に水分子存在下での分子動力学法の適用は、糖鎖と水の相互作用を構造解析から定量的に評価する方法として注目される。
- (2) 孤立鎖の構造解析結果を、会合による超分子構造形成に適用し、超分子構造の分子モデルを構築した。糖鎖の部分会合が架橋ドメインとなってゲルが形成される過程を、超分子構造の分子モデルを使って定量的に解析した。
- (3) 会合により生じるキシログルカンの超分子構造は一様ではなく、酵素部分分解によるゲル形成、エタノール添加によるゲル形成のように、条件により異なることを明らかにした。

以上の諸点は、糖鎖の超分子構造と水分子の関わりを定量的に解析する指針を確立したものとして高く評価される。蛋白質や核酸に比べて遅れている糖鎖の生理活性を理解する上で、今後小角X線散乱法と分子動力学を組み合わせた構造解析が重要になると予想される。

本論文の内容は、審査規定のある学術雑誌に以下のように公表されている。

- ・ Conformation of Tamarind Seed Xyloglucan Oligomers, S. Yamanaka, M. Mimura, H. Urakawa, K. Kajiwara, M. Shirakawa, K. Yamatoya, *Sen'i Gakkaishi*, 55, 590-596 (1999)
- ・ ポリシロキサンネットワーク：構造的特性と形成機構、山中重宣、湯口宣明、浦川宏、梶原莞爾、こうじ谷信三、*Network Polymer*, 20, 157-163 (1999)
- ・ Polysiloxane Network Formation Observed by Time-Resolved Small-Angle X-ray Scattering, T. Ando, S. Yamanaka, S. Kohjiya, K. Kajiwara, *Poly. Gel Network.*, 1, 45-60 (1993)
- ・ Gelation of Enzymatically Degraded Xyloglucan Extracted from Tamarind Seed, S. Yamanaka, Y. Yuguchi, H. Urakawa, K. Kajiwara, M. Shirakawa, K. Yamatoya, *Sen'i Gakkaishi*, 55, 528-532 (1999)
- ・ Gelation of Tamarind Seed Polysaccharide Xyloglucan in the Presence of Ethanol, S. Yamanaka, Y. Yuguchi, H. Kajiwara, M. Shirakawa, K. Yamatoya, *Food Hydrocolloid.*, 14, 125-128 (2000)