

氏 名	ふじ かわ しゅん いち 藤 川 俊 一
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	工 博 第 2525 号
学位授与の日付	平 成 17 年 3 月 23 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 学 研 究 科 材 料 化 学 専 攻
学位論文題目	In Vitro Synthesis of Chondroitin and Its Derivatives via Enzymatic Polymerization (酵素触媒重合によるコンドロイチン及びその誘導体の合成) (主 査)
論文調査委員	教 授 小 林 四 郎 教 授 木 村 俊 作 教 授 瀧 川 敏 算

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、糖加水分解酵素を用いた酵素触媒重合による多糖合成を応用し、近年その生理活性が注目され、非常に複雑な構造を有するグリコサミノグリカンの1種であるコンドロイチン、コンドロイチン硫酸とその誘導体の合成を主に目的とし研究を行った結果をまとめたものであり、序論と1章から6章、及び結語から構成される。

序論においては、多糖類特にグリコサミノグリカンの1種であるコンドロイチン硫酸の構造の複雑性、生体内における重要な機能について触れ、人工合成の困難さについて述べている。さらに、多糖類の合成法として新規に開発された糖加水分解酵素を用いた酵素触媒重合による合成手法について、その重合機構や過去の研究例について述べている。

第1章では、*N*-アセチルコンドロシンオキサゾリン誘導体を基質モノマーとして設計し、ヒアルロニダーゼによる酵素触媒重合により、グリコサミノグリカンの1種であるコンドロイチンの合成を行った。この手法は高分子量コンドロイチンの人工合成について報告した最初の例となった。

第2章では、第1章での反応を詳しく解析すると共に、オキサゾリン環の2位に様々な置換基を有する *N*-アセチルコンドロシンオキサゾリン誘導体を基質モノマーとして設計することで、天然からは得ることの出来ないコンドロイチン誘導体の合成を行った。その結果、反応条件を選ぶことにより様々な分子量を有するコンドロイチンの合成が可能であることが分かり、特に最大分子量は天然から得られるものにほぼ匹敵するものであることが分かった。コンドロイチン誘導体は、*N*-アセチル基が *N*-プロピオニル、*N*-アクリロイル基に置換された誘導体が高収率で得られた。

第3章では、*N*-アセチルコンドロシンに位置選択的に硫酸基を有するオキサゾリン誘導体を基質モノマーとして設計し、ヒアルロニダーゼによる酵素触媒重合により天然から得ることのできない構造の明確なコンドロイチン硫酸を合成した。コンドロイチン硫酸の生理活性はその硫酸化パターンに関わっていることが知られており、この手法で得られた構造明確なコンドロイチン硫酸はその生理活性の分子レベルでの解明に繋がると考えられる。

第4章では、硫酸化された *N*-アセチルコンドロシンオキサゾリン誘導体と硫酸基を有さないオキサゾリン誘導体、2位にビニル基を有するオキサゾリン誘導体のヒアルロニダーゼ触媒共重合により、コンドロイチン硫酸やその誘導体を合成した。この手法では、モノマーの仕込み比や反応時間等を制御することで、得られるコンドロイチン硫酸の硫酸化度やコンドロイチン硫酸誘導体のビニル基の導入率を簡単に制御できることが分かった。この手法はコンドロイチン硫酸の硫酸化度を厳密に制御できる方法であり、コンドロイチン硫酸の生理活性は硫酸化の程度に関わっていることから、この手法でコンドロイチン硫酸の生理活性を制御できることが予想され、治療薬などへの応用が期待される。

第5章では、変異キチナーゼを触媒に用い、反応性の高いチオール基を有するアクセプターを用いて、チオグリコシドの酵素合成を行った。この手法は変異キチナーゼを用いたチオグリコシドの最初の報告であり、また、オキサゾリン誘導体をドナーとする手法が幅広く応用できることを示すものである。

第6章では、キチナーゼの加水分解反応の遷移状態に見られるオキサゾリニウムイオンのアナログを新規基質モノマーに

用いる基礎研究を行った。アナログとしては、イソプロピリデン、カルボナート、オルトエステル誘導体を用いたが、いずれも新規基質モノマーにはならなかった。しかし、カルボナート誘導体はキチナーゼの新規阻害剤、オルトエステル誘導体は新規基質となるとことが分かり、キチナーゼの加水分解機構に新しい知見を与えることとなった。

結語では、本研究で得られた成果について要約し、本研究の意義と将来性を論じている。

論文審査の結果の要旨

本論文は、糖加水分解酵素を用いた酵素触媒重合による多糖合成を応用し、様々な生理活性を有し、非常に複雑な構造を有するグリコサミノグリカンの1種であるコンドロイチン(Ch)、コンドロイチン硫酸(ChS)とその誘導体の合成を主目的とし研究を行った成果についてまとめたものであり、得られた主な成果は次のとおりである。

- (1) *N*-アセチルコンドロシンオキサゾリン誘導体を基質モノマーとして設計し、精巢性ヒアルロニダーゼ(HAase)による酵素触媒重合により、構造明確なChの合成を行った。
- (2) オキサゾリン環の2位に様々な置換基を導入し、同様に重合を行い、*N*-アセチル基が*N*-プロピオニル、*N*-アクリロイル基に置換された非天然のCh誘導体の合成を行った。
- (3) *N*-アセチルコンドロシンに位置選択的に硫酸基を有するオキサゾリン誘導体を基質モノマーとして設計し、HAaseによる酵素触媒重合により天然から得ることのできない構造の明確なChSの合成を達成した。
- (4) 硫酸化された*N*-アセチルコンドロシンオキサゾリン誘導体と硫酸基を有さないオキサゾリン誘導体、オキサゾリン環2位がビニル基に置換されたオキサゾリン誘導体をコモノマーとしたHAase触媒共重合により、天然から得ることの出来ない硫酸化度やビニル基の導入率を厳密に制御したChSやその誘導体を合成した。
- (5) 変異キチナーゼを触媒に用い、キトビオースオキサゾリン誘導体を糖供与体、求核性の高いチオール基を有する糖を糖受容体とし、チオグリコシドの新規合成手法を達成した。
- (6) キチナーゼの加水分解反応の遷移状態に見られるオキサゾリニウムイオンの類似体を新規基質モノマーに用いる基礎研究を行った。

以上、本論文は糖加水分解酵素を用いた酵素触媒重合による多糖合成を応用し、様々な生理活性を有する有用多糖、オリゴ糖の創出に向けた新たな合成手法を提案するものであり、学術上、實際上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士(工学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成17年2月16日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。