

氏 名	まきのあきら 牧 野 顕
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	工 博 第 2721 号
学位授与の日付	平 成 18 年 9 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 学 研 究 科 材 料 化 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Chitinase-Catalyzed Polymerization for Synthesis of Chitin Derivatives (キチナーゼ触媒重合によるキチン誘導体の合成)
論文調査委員	(主 査) 教 授 木 村 俊 作 教 授 檜 山 爲 次 郎 教 授 瀧 川 敏 算

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、キチンの人工合成に用いられたキトビオースオキサゾリン誘導体をベースに、2位および6位に様々な置換基を導入したキトビオースオキサゾリン誘導体を、キチナーゼの新規遷移状態アナログ基質モノマーとして分子設計し、キチナーゼ触媒重合を試みることにより、キチナーゼ触媒重合における構造明確なキチン誘導体合成の可能性を検討したものであり、序論と一章から六章、及び結言から構成されている。主な成果は次の通りである。

序論では、キチン誘導体を中心に糖質合成の一般論および過去の研究例について述べており、多糖合成において最も重要とされるグリコシル化反応における酵素触媒の有用性を説明している。また、本論文の概要を述べている。

第一章では、キチンの2位アセトアミド基が交互に脱アセチル化されたキチン—キトサンハイブリッド多糖の合成が行われている。キチナーゼの新規遷移状態アナログ基質モノマーとして非還元末端側2位が遊離のアミノ基の構造を有した *N*—アセチルキトビオースオキサゾリン誘導体が設計され、有機化学的手法に従い合成され、キチナーゼを触媒とした酵素触媒重合の検討が行われている。その結果、本化合物が *Bacillus* sp. および *Serratia marcescens* 由来キチナーゼに強く認識され、重合反応が進行することにより、 $M_n=2020$ の水溶性多糖、キチン—キトサンハイブリッド多糖が収率75%にて得られることが示されている。

第二章では、キチンの人工合成に用いる *N*, *N'*—ジアセチルキトビオースオキサゾリン誘導体と、第一章にて合成した *N*—アセチルキトビオースオキサゾリン誘導体を、モノマーとして用いるキチナーゼ触媒共重合が検討されている。共重合反応は *Bacillus* sp. 由来キチナーゼを触媒として位置・立体選択的に進行し、0~50%の任意の脱アセチル化度を有するキチン誘導体を与えることが明らかにされている。また、生成物の組成はモノマーの仕込み比によって制御可能であることが示されている。

第三章では、*N*—硫酸化キチンの合成が行われている。非還元末端側2位を硫酸基で位置選択的に修飾したキトビオースオキサゾリン誘導体を有機合成手法に従い合成を行った上、キチナーゼ触媒重合が検討されている。その結果、本化合物は *Bacillus* sp., *Serratia marcescens*, *Streptomyces griseus* 由来キチナーゼに認識され、重合反応が進行することにより、交互の2位が硫酸化された $M_n=4180$ の *N*—硫酸化キチンの得られることが示されている。また、生成物の重合度を、触媒として用いるキチナーゼの由来を変化させることにより制御できることが述べられている。

第四章では、セルロースの構成成分であるグルコースとキチンの構成成分である *N*—アセチルグルコサミンが交互に $\beta(1 \rightarrow 4)$ 結合で繋がった非天然多糖、セルロース—キチンハイブリッド多糖の合成が検討されている。すなわち、非還元末端側にグルコースを、還元末端側に *N*—アセチルグルコサミンを有する二糖オキサゾリン誘導体が有機化学的手法に従い合成され、キチナーゼを重合触媒として用いた酵素触媒重合が検討されている。同様に、二糖の非還元末端側に *N*—アセチルグルコサミンを、還元末端側にグルコースを有する β —フツ化糖が合成され、セルラーゼを重合触媒として用いた酵素触媒重合が検討されている。その結果、これらの新規遷移状態アナログ基質モノマーから、それぞれ $M_n=4030$, 2840 のセル

ロースーキチンハイブリッド多糖が、それぞれ収率79%、88%にて得られることが明らかにされた。また、生成したポリマーはヒト由来リゾチームにより三糖～六糖までに分解され、生体内分解性を有することが示唆されている。

第五章では、フッ化キチンの合成が行われている。キトビオースオキサゾリン誘導体の非還元末端、還元末端、両末端6位をそれぞれフッ素原子にて置換した化合物がキチナーゼの新規遷移状態アナログ基質モノマーとして有機化学的手法に従い合成され、キチナーゼ触媒重合反応が検討されている。モノマーは、*Bacillus* sp. 由来キチナーゼに強く認識され、重合反応が進行し、それぞれ $M_n=1410$, 1630, 1700の構造明確なフッ化キチン誘導体の得られることが明らかにされている。収率は、一置換体ではほぼ差がなかったが、二置換にすることにより大きく減少した。また、フッ素原子がキチナーゼ触媒重合に与える影響について検討が加えられ、還元末端側の6位フッ素原子はオキサゾリン環の安定化に大きく寄与していることが示されている。

第六章では、キチンーキシランハイブリッド多糖の合成が検討されている。木材に含まれるキシランの構成成分であるキシロースを非還元末端側に、キチンの構成成分である *N*-アセチルグルコサミンを還元末端側に有する二糖オキサゾリン誘導体をキチナーゼの新規遷移状態アナログ基質モノマーとして設計され、有機化学的手法に従い合成された。引き続き、キチナーゼ触媒重合が検討され、本化合物はキチナーゼに強く認識され、重合反応が進行することにより、 $M_n=1580$ の水に可溶なキチンーキシランハイブリッド多糖が収率80%にて得られることが示されている。

結言では本論文で得られた成果について要約している。

論文審査の結果の要旨

本論文は、糖加水分解酵素のひとつであるキチナーゼを触媒として用いる酵素触媒重合により、位置選択性と立体化学が精密に制御されたキチン誘導体を合成する手法を開拓すること目的に研究した成果をまとめたものであり、得られた主な成果は次の通りである。

- (1) 非還元末端側2位アセトアミド基がアミノ基又は硫酸基に置換されたキトビオースオキサゾリン誘導体が、キチナーゼに遷移状態アナログ基質モノマーとして認識され、重合反応が起こり、それぞれのモノマーからキチンーキトサンハイブリッド多糖及び交互 *N*-硫酸化キチンの合成が達成されることを見出している。また、重合生成物は水に可溶であることを明らかにしている。
- (2) 非還元末端側2位がアミノ基又はアセトアミド基の構造を有する2種類のキトビオースオキサゾリン誘導体を合成し、これらをコモノマーとして用いた酵素触媒共重合により、0～50%の任意の脱アセチル化度を有するキチン誘導体が合成できることを明らかにしている。
- (3) セルロースの構成成分であるグルコースと、キチンの構成成分である *N*-アセチルグルコサミンが、交互に $\beta(1\rightarrow4)$ 結合で繋がった非天然多糖、セルロースーキチンハイブリッド多糖の合成が、セルラーゼおよびキチナーゼを用いる酵素触媒重合により達成されることを見出している。また、得られた重合生成物はリゾチームにより分解されることを明らかにしている。
- (4) キトビオースオキサゾリン誘導体の6位水酸基をフッ素に置換したモノマーからキチナーゼ触媒重合によりフッ化キチン誘導体が合成されることを見出している。また、フッ素原子がキチナーゼ触媒重合に与える影響について検討を行ったところ、還元末端6位フッ素原子はオキサゾリン環の安定化に大きく寄与していることを明らかにしている。
- (5) キシランの構成成分であるキシロースと、キチンの構成成分である *N*-アセチルグルコサミンが、交互に $\beta(1\rightarrow4)$ 結合で繋がった非天然多糖、キチンーキシランハイブリッド多糖が、キチナーゼ触媒重合により合成されることを見出している。

以上のように、本論文はキチナーゼ触媒重合による構造明確なキチン誘導体の新規合成法を開拓したものであり、学術上、実際に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18年8月29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。