

Glycosynthesis and Glycomaterials Design by Nonaqueous Biocatalysis Using Surfactant- Enveloped Enzymes

江草, 静香

<https://hdl.handle.net/2324/1398287>

出版情報：九州大学, 2013, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）



氏 名 : 江 草 静 香

論文題目 : **Glycosynthesis and Glycomaterials Design by Nonaqueous Biocatalysis Using Surfactant-Enveloped Enzymes**

(界面活性剤被覆酵素を用いた非水系糖鎖合成および糖鎖材料設計)

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

近年、糖鎖が生体内で重要な生理機能を担うことが明らかになり、その機能をマテリアルとして利用する糖鎖材料工学に大きな注目と期待が集まっている。しかし、糖鎖の特徴である構造多様性から既存の有機化学的合成法には限界があり、新規な糖鎖合成技術の開発が希求されている。本研究では、糖質加水分解酵素を界面活性剤で被覆した修飾酵素触媒 **Surfactant-enveloped enzyme (SEE)** を創出し、酵素反応系としてこれまで適用例の無い多糖良溶剤の非水系極性有機溶媒中で、加水分解の逆反応である脱水縮合反応を触媒する新規糖鎖合成法の構築を試みた。

まず、高い構造規則性と低い溶媒溶解性から合成が極めて困難な樹木多糖類のセルロースの合成に挑戦した。セロビオースからのセルロース合成では、伸長反応の進行に伴い生成物が析出するため、従来法では重合度 20 程度までしか得られていない。そこで、セルロースの良溶剤である非水系塩化リチウム含有ジメチルアセトアミド (**DMAc**) を反応場とし、セルラーゼから調製した **SEE** を用いて合成したところ、一段階で重合度 100 以上の高分子セルロースが 5% の転化率で得られた。一般に、酵素は非プロトン性極性溶媒中では速やかに活性を失うが、非イオン性界面活性剤で被覆することで様々な有機溶媒に対して高い耐性を付与することができた。また、既存の酵素反応では必須の有機合成による基質糖のアノマー炭素の活性化が全く不要で、脱水縮合に適した反応場を選択できる本系の利点が明らかとなった。水系での酵素の作用機序は **SEE** でも保存され、プロセッシブ型セルラーゼでは高転化率でオリゴマーが、非プロセッシブ型では重合度 60 程度が低転化率で得られた。すなわち、長鎖セルロースの合成における複数の酵素の協奏的な作用機構が示唆された。

次に、本非水系酵素触媒反応に共触媒としてブレンステッド酸を加えることで、多糖合成の転化率が飛躍的に向上する効果を発見した。セルロース合成では重合度 120 の高分子体が転化率 26% で得られ、5 倍以上の転化率向上を達成した。さらに、本手法を同じく構造的な多糖のキチンの合成に適用したところ、リゾチームから調製した **SEE** を用い、**DMAc** 中で有機スルホン酸を共触媒としてキトビオースから脱水縮合反応を行うことで、重合度 210 の長鎖キチンが 80% の転化率で得られた。

最後に、本手法のバイオマテリアル応用を志向して、生理的に不活性な紙表面へのラクトースの直接導入を検討した。**SEE** を用いる非水系反応により、セルロース繊維の表面にガラクトース末端基を一段階で導入することが可能であった。アシアロ糖タンパク質レセプターを持つラット肝細胞の良好な細胞接着挙動が観察され、生理活性を有するバイオアクティブペーパーの創出に成功した。

以上のように、本研究で構築した界面活性剤被覆酵素を用いる非水系酵素反応による糖鎖合成法は、酵素・基質・界面活性剤・共触媒・反応場の組み合わせの自由度が高く、様々な糖鎖合成および糖鎖材料設計に応用可能であり、糖鎖機能材料開発における新手法として大いに期待が持たれる。