

学位論文の要旨

氏名	井澤 浩則
学位論文題目	環境低負荷手法を利用した新規多糖材料の創製
<p>本論文は、環境低負荷手法を利用した新規多糖材料の創製をまとめたものである。</p> <p>第1章では、序論として本研究の意義について記載した。 近年、石油資源の枯渇や地球環境問題の悪化から、再生可能資源である天然多糖に注目が集まっている。天然多糖は地球上に最も豊富に存在する有機資源であり、材料素材として用いることで高機能な材料の創製が期待できる。しかし、それには人体に有害な有機溶媒や酸、塩基などを大量に用いる必要があり、環境低負荷な手法での機能性多糖材料の創製が望まれている。 酵素触媒を利用するグリコシル化反応は、有機合成手法と比較して少ないステップで目的の糖鎖が得られる環境低負荷な手法である。一方、イオン液体は蒸気圧をほとんど持たないリサイクル可能な溶媒であり、難溶性の多糖の良溶媒としても知られている。低環境負荷なツールである酵素触媒やイオン液体を用いる新規多糖材料の創製は、持続可能な開発につながると考えられる。 これらの背景から、本研究では酵素触媒及びイオン液体を用いる低環境負荷手法を利用した新規多糖材料の創製を検討した。</p> <p>第2章では、ホスホリラーゼを用いるグリコーゲンを基盤とする新規多糖材料の創製について記載した。 ホスホリラーゼは、α-1,4-グルカン（アミロース）を非還元末端から加リン酸分解してα-D-グルコース 1-リン酸（Glc-1-P）を生成する反応を触媒する酵素であるが、この反応は可逆的であるため、Glc-1-Pが過剰に存在する系ではプライマーとなるα-1,4-グルカンの非還元末端からの糖鎖伸長反応を触媒する。ホスホリラーゼによる糖鎖伸長反応を高度に分岐したα-1,4-グルカンであるグリコーゲンを用いて行うことで、新規な多糖材料の創製が期待される。そこで、本研究ではホスホリラーゼによる糖鎖伸長反応を利用したグリコーゲンからの新規多糖材料の創製を検討した。その結果、グリコーゲンから糖鎖伸長反応が進行することで、反応液が柔軟なヒドロゲルに変換されることが分かった。また、得られたヒドロゲルは、凍結乾燥を行うことで、キセロゲルに変換できることも分かった。</p> <p>第3章では、ホスホリラーゼを用いる新規多糖材料の創製を指向した新規酵素反応及び酵素反応場の開発について記載した。 ホスホリラーゼを用いる新規反応及び酵素反応場の開拓は、新規多糖材料の開発につながると考えられる。そこで、本研究では、ホスホリラーゼを用いる新規反応及び反応場の開拓を行った。 新規反応の開拓では、キシロース 1-リン酸（Xyl-1-P）、グルコサミン 1-リン酸（GlcN-1-P）、N-アセチルグルコサミン 1-リン酸（GlcNAc-1-P）を用いる糖鎖伸長反応を検討した。その結果、ホスホリラーゼは、Xyl-1-P、GlcN-1-Pを基質として認識し、プライマーの非還元末端への1ユニットのみの糖転移反応を触媒することが明らかになった。</p>	

酵素反応場の開発では、有機溶媒中でのアミロースの酵素合成の反応場の開発を検討した。その結果、アルギン酸カルシウム内包反応場を用いてDMSO中で酵素反応を行うことで、DMSO中にアミロースが得られることを見出した。

第4章は、グアーガムを用いるイオン液体ゲルの創製とフィルム材料への変換について記載した。

グアーガムはグアー豆の胚乳部から得られる水溶性多糖である。本研究では、グアーガムを用いるイオン液体ゲルの創製とそのフィルム化を検討した。その結果、グアーガムを塩化1-ブチル-3-メチルイミダゾリウム (BMIMCl) 中で加熱-冷却し、アセトン、エタノールで処理することで、グアーガム/BMIMClゲルが得られることが分かった。また、得られたゲルをエタノールに漬浸することで硬く安定な材料を得ることができた。さらに、この材料を適当な条件下で圧縮することでフィルム状に加工できた。このフィルムは加熱状態で成形するとその温度では形を保っているが、室温まで冷却すると成形した形を保てなくなり、15分程度で元の柔軟なフィルムになるという特性を持つことが示された。

第5章では、キサントガムを用いるイオン液体ゲルの創製とヒドロゲルへの変換について記載した。

キサントガムは *Xanthomonas campestris* の培養によって生産される多糖であり、水を著しく増粘させる性質を有する。本研究では、キサントガムを用いるイオン液体ゲルの創製とそのヒドロゲルへの変換を検討した。その結果、キサントガムをBMIMCl中で加熱-冷却することで、10-100 % w/wのキサントガム/BMIMClゲルが得られることが分かった。ゲルの引っ張り試験から、低濃度な10 % w/wゲルは優れた柔軟性を示し、高濃度な100 % w/wゲルは優れた強度を示すことが分かった。このことから、キサントガム/BMIMClゲルは、キサントガム濃度を制御することで、ゲルの機械的特性を容易に制御できることが分かった。さらに、10 % w/w のキサントガム/BMIMClゲルを水に浸漬することで、圧縮試験で破断しない柔軟なヒドロゲルが得られ、さらに、そのヒドロゲルをCa²⁺でイオン架橋することで、6.5倍伸長する優れた強度と柔軟性を有するヒドロゲルが得られることも明らかになった。

第6章では、本研究の総括を記載した。

本研究では、環境低負荷手法を用いる新規多糖材料の創製を検討した。

第2章では、ホスホリラーゼを用いるグリコーゲンを基盤とした新規多糖材料の創製を検討した。その結果、ホスホリラーゼによる糖鎖伸長反応を、グリコーゲンをプライマーに用いて行うことで、反応液が柔軟なヒドロゲルに変換されることが分かった。また、得られたヒドロゲルは、凍結乾燥を行うことで、キセロゲルに変換できることも分かった。

第3章では、ホスホリラーゼを用いる新規反応及び反応場の開拓を行った。その結果、ホスホリラーゼは、Xyl-1-P、GlcN-1-P、GlcNF-1-Pを基質として認識し、プライマーの非還元末端への1ユニットのみの糖転移反応を触媒することが明らかになった。また、新規酵素反応場での酵素反応としてアルギン酸カルシウム内包反応場を用いてDMSO中で酵素反応を行うことで、DMSO中にアミロースが得られることを見出した。

第4章ではグアーガムを用いるイオン液体ゲルの創製とフィルム材料への変換を検討した。その結果、グアーガムをBMIMCl中で加熱-冷却することで、10-40 % w/w のグアーガム/BMIMClゲルが調製できることが分かった。さらに、得られたイオン液体ゲルを加工することで、高強度なフィルムが得られることも分かった。

第5章では、キサントガムを用いるイオン液体ゲルの創製とヒドロゲルへの変換を検討した。その結果、キサントガムをBMIMCl中で加熱-冷却することで、10-100 % w/w のキサントガム/BMIMClゲルが調製できることが分かった。さらに、得られたイオン液体ゲルは、水に浸漬することで柔軟なヒドロゲルに変換できることも分かった。

論文審査の要旨

報告番号	理工研 第324号	氏名	井澤 浩則
審査委員	主査	門川 淳一	
	副査	青柳 隆夫	橋本 雅仁
<p>学位論文題目 Preparation of Novel Polysaccharide Materials by Means of Environmentally Benign Methodologies (環境低負荷手法を利用した新規多糖材料の創製)</p> <p>審査要旨</p> <p>提出された学位論文及び論文目録等を基に学位論文審査を実施した。本論文は環境低負荷手法による新規多糖材料の創製に関する基礎研究について述べたもので、全文6章より構成されている。</p> <p>第1章は(序章)である。研究の背景がまとめられている。</p> <p>第2章はホスホリラーゼを用いるグリコーゲンを基盤とする新規多糖材料の創製について検討している。グリコーゲンからホスホリラーゼによる糖鎖伸長反応が進行することで、反応液が柔軟なヒドロゲルに変換されることが分かった。また、得られたヒドロゲルは、凍結乾燥を行うことで、キセロゲルに変換できることも分かった。これらは良好な機械的特性を示すことを明らかにした。</p> <p>第3章ではホスホリラーゼを用いる新規多糖材料の創製を指向した新規酵素反応及び酵素反応場の開発について検討している。新規反応の開発では、ホスホリラーゼがキシロース 1-リン酸 (Xyl-1-P)、グルコサミン 1-リン酸 (GlcN-1-P) を基質として認識し、プライマーの非還元末端への1ユニットのみの糖転移反応を触媒することが明らかになった。酵素反応場の開発では、有機溶媒中でのアミロースの酵素合成の反応場の開発を検討した。その結果、アルギン酸カルシウム内包反応場を用いてDMSO中で酵素反応を行うことで、DMSO中にアミロースが得られることを見出した。</p> <p>第4章ではグアーガムを用いるイオン液体ゲルの創製とフィルム材料への変換について検討している。グアーガムを塩化1-ブチル-3-メチルイミダゾリウム (BMIMCl) 中で加熱-冷却し、アセトン、エタノールで処理することで、グアーガム/BMIMClゲルが得られることが分かった。また、得られたゲルをエタノールに浸漬し、さらに適当な条件下で圧縮することでフィルム状に加工できた。このフィルムは加熱状態で成形するとその温度では形を保っているが、室温まで冷却すると成形した形を保てなくなり、15分程度で元の柔軟なフィルムになるという特性を持つことが示された。</p> <p>第5章ではキサントタンガムを用いるイオン液体ゲルの創製とヒドロゲルへの変換について検討している。キサントタンガムをBMIMCl中で加熱-冷却することで、10-100% w/wのキサントタンガム/BMIMClゲルが得られることが分かった。ゲルの引っ張り試験から、低濃度(10% w/w)ゲルは優れた柔軟性を示し、高濃度(100% w/w)ゲルは優れた強度を示すことが分かった。このことから、キサントタンガム/BMIMClゲルは、キサントタンガム濃度を制御することで、ゲルの機械的特性を容易に制御できることが分かった。さらに、10% w/wのキサントタンガム/BMIMClゲルを水に浸漬することで、圧縮試験で破断しない柔軟なヒドロゲルが得られ、そのヒドロゲルをCa²⁺でイオン架橋することで、6.5倍程度伸長する優れた強度と柔軟性を有するヒドロゲルが得られることも明らかになった。</p> <p>第6章は(結論)である。</p> <p>以上、本論文は環境低負荷手法による新規多糖材料の創製に関する研究を扱っており、酵素触媒及びイオン液体を用いることで、これまでに例のないユニークな多糖材料の創製に成功した。これらの成果は、天然多糖を材料資源として有効に利用する新しい材料開発に大きく寄与する。よって、審査委員会は博士(工学)の学位論文として合格と判定する。</p>			

最終試験結果の要旨

報告番号	理工研 第324号	氏名	井澤 浩則
審査委員	主査	門川 淳一	
	副査	青柳 隆夫	橋本 雅仁

2010年2月3日16時00分より理工系総合研究棟2階プレゼンテーションルームにおいて、学位論文発表会が開催された。27名の出席者があり、本研究の背景、実際の研究の経過について詳細な発表と質疑応答が行われた。具体的には、ホスホリラーゼを用いるグリコーゲンからの新規多糖材料の創製、ホスホリラーゼを用いる新規反応及び新規反応場の開発、イオン液体を用いるグアーガムおよびキサントガムからの新規多糖材料の開発について、系統的に説明が行われた。その後、両副査を含め会場から研究全般にわたる質疑応答が行われた。おもな内容は以下の通りである。

【質問】何%のグリコーゲンの末端からアミロース鎖が伸長しているのか。

【回答】ヨウ素染色によってグリコーゲンから伸長したアミロース鎖のDP値を見積もることのできた系では、グリコーゲンの末端の約40%が反応していると見積もることができた。立体障害などを考えると妥当な数字であると考えられ、他の系でもそれに近い数値ではないかと考えている。

【質問】グリコーゲングルでは、どの過程でゲル化が起こっているのか。透明な状態でもゲル化が起こっていることはないのか？

【回答】糖鎖伸長反応の速度解析の結果、いずれの系においても反応終了後にゲル化が起こっていることが確認されている。よって、グリコーゲンから伸長したアミロースが時間経過とともに徐々に二重らせんを形成することで、ゲル化が起こると考えられる。また、どの系でも反応液が透明な状態では、高粘性溶液でありゲルではなかった。

【質問】キサントガム/BMIMClゲルとイミダゾリウムフォームのキサントガムヒドロゲルで強度に違いはあるのか？

【回答】キサントガム濃度がそろったイオン液体ゲルとヒドロゲルの応力-歪み曲線が無いので、実験的な証拠はないが、同じキサントガム濃度なら相互作用が強いイオン液体ゲルの方が、優れた強度を示すと考えられる。

【質問】キサントガムヒドロゲルは、形状記憶効果を示さないのか？キサントガム/BMIMClゲルの構造が形状記憶効果にとって重要なのか？

【回答】今回調製したキサントガムヒドロゲルは、形状記憶効果を示さない。イオン液体ゲルにおける形状記憶効果の強さは、キサントガム濃度に依存しており、調製したヒドロゲルと同等のキサントガム濃度のイオン液体ゲルも、形状記憶効果は示さないことが分かっている。また、 Ca^{2+} 、 Fe^{3+} でイオン架橋を行うことで可能な限りキサントガム濃度を上げたヒドロゲルを調製しても形状記憶効果は見られなかった。イオン液体ゲルに見られた形状記憶効果は、キサントガムがBMIMCl中で特異的に形成する強固なネットワーク構造に起因すると考えている。

【質問】イオン液体中での不溶性多糖の糖鎖伸長反応は可能か？

【回答】リパーゼのような有機溶媒耐性を持つ酵素を用いるイオン液体中での多糖の修飾反応は報告されているが、イオン液体中での糖鎖伸長反応は、ほとんど報告例がなく、今後の進展が期待される研究トピックでもある。いかにしてイオン液体中で酵素活性を保持させるかがポイントになってくると思われる。

以上のように各質問に対して的確な回答が得られ、審査委員会は申請者が博士課程の修了者としての学力ならびに見識を有するものと認め、博士(工学)の学位を与えるに足りる資格を有するものと判定した。