

研究課題名 糖鎖分子ナノアーキテクチャーの研究

所属研究機関名 独立行政法人 産業技術総合研究所

研究者氏名 湯口 宜明

## 研究計画の概要

### 研究の趣旨・目的

植物細胞壁の主成分、すなわち木材の成分であるセルロースやカニ・エビなどの外殻に含まれているキチンなどの多糖類は生物の作り出す優れた構造体である。これらの多糖類はきわめて基本的な糖鎖であり多くの研究者が興味の対象としてきたが、いまだ未踏の研究分野が残されている。糖鎖分子は炭素、酸素、水素などの少数の元素から構成されているが、巧みな構造によって独特の分子集合体を形成している。例えばセルロースはグルコース環を繰り返し単位としてリボン状の直鎖構造を有している。その分子特性として、(1)分子内に親水性、疎水性部分を持っている、(2)多くの光学活性炭素がある、(3)水素結合による分子ネットワークを誘発する多くの水酸基を持っている。従って分子鎖は分子内水素結合により安定化し、さらに分子間でも水素結合を形成し特徴的な結晶構造を有している。特に(1)においてはグルコース環の水酸基の立体的位置により、平板リボン状構造の表面は疎水性であり、側面は親水性であることが分かっている。分子間においては両側面の水酸基を介した水素結合によって強固に結晶化し不溶性を示す。これまでセルロース等の不溶性の多糖類は結晶化しており、熱可塑性も持たないことから研究や材料設計を困難とした。そのため糖鎖の化学的な変換を行う研究が多くなされ、その剛直性棒状分子であることから液晶などの高次構造を形成することが知られている。本研究では超臨界流体等の手法によって機能性分子などを挿入し、糖鎖の分子間距離を制御するためのスペーサーとして機能させ、糖鎖分子自身の変換を行うことなく糖鎖分子による分子性マトリックスを創製するといった新しい構造体の創製を提案する。天然セルロースの結晶構造はリボン状分子鎖が並んで水素結合により結合し、全体として層構造をなし、それらが多層にスタックしている。この層間は疎水性結合を有していることから、この空間に疎水性分子を導入することを検討する。超臨界流体二酸化炭素を用いることによりこれまで不溶であった多糖類マトリックス中に様々な分子の導入法が開発されれば、新しい研究や応用が期待できる。この研究により糖鎖分子による新規なナノホールを多く有する包接化合物をつくること期待できる。分子を包接させたり分子を認識させることができるであろう。

### 研究計画の概要

研究の趣旨・目的を達成するため、(1)多糖類分子集合体内への機能性分子挿入法、(2)糖鎖ナノ構造体の構造解析、(3)機能性ナノ構造体の設計・構築の項目に従って研究を実施する。まず新規多糖類集合体へ機能性分子の挿入の方法を開発するために、超臨界流体による反応システムを設計し、導入する。超臨界流体は二酸化炭素などを臨界圧力、臨界温度以上にすることによりつくりだされ、その性質は気体のような高い拡散性と液体程度の密度を有している。この特性を利用することにより、超臨界流体に低分子を溶かし、多糖類集合体へ拡散させることにより新規な集合体への変換を計画している。従って反応システムは温度、圧力が精密に制御可能なものとし、反応条件を様々な設定できるものを導入する。また超臨界流体における実験対象は、セルロース系のものを対象とするが、比較試料、モデル試料となりうる試料は積極的に取り組み、研究を進める。さらに糖鎖ナノ構造体の構造解析であるが、X線回折法、X線散乱法、NMR、IRなどの各種分光法などの手法により解析を行う。実際に低分子が多糖類集合体内へどのように導入されているか、集合体はどのようなナノ構造をとっているのかなどの解析はある程度独自に開発していく。ナノレベルでの構造制御を行うためには構造解析法は必須であり、糖鎖に関しては特に水溶液中で構造形成をしたりゲルを形成するものが多く存在する。これらのナノ構造を主としてシンクロトン放射光を用いた小角X線散乱法により調べることにより、その構造情報を蓄積し、糖鎖の構造特性を調べ上げ、新規な構造体の設計、創製に役立てる。さらに測定手法だけではなく、計算機による糖鎖分子のモデリングや分子動力学法による糖鎖間の水素結合などの相互作用の解明を通してナノレベルでの詳細な糖鎖の構造解析や設計手法を構築する。最終的に包接機能、分子分離機能をもった新規な機能性糖鎖分子ナノ構造体を設計し、創製することを計画している。

研究計画の詳細報告

(単位:百万円)

研究項目	所要経費					
	13年度	14年度	15年度	16年度	17年度	合計
1. 多糖類集合体内への機能性分子挿入法	19	12	5			36
(1)合成装置の設計と導入	15					15
(2)挿入実験の予備実験	4					4
(3)新規多糖類集合体の合成		12	5			17
2. 糖鎖ナノ構造体の構造解析		7	12			19
(1)ナノ構造体の構造解析法の開発		7	6			13
(2)新規多糖類集合体のナノ構造解析			6			6
3. 機能性糖鎖ナノ構造体の設計構築						
(1) 機能性糖鎖ナノ構造体の設計						
(2) 機能性糖鎖ナノ構造体の構築						
所要経費(合計) (間接経費を含む)	19	19	17			55

## .研究成果の概要

### 研究成果の概要

超臨界二酸化炭素による多糖類集合体内への低分子挿入実験をおこなうために、超臨界二酸化炭素反応システムの設計、導入を行った。システムは最大 150 °C、35MPa までの温度、圧力の範囲を精度良く設定することができるシステムである(二酸化炭素の臨界温度 :31 °C、臨界圧力 :7.4MPa)。また観察窓付きのセルを備え、反応状態を直接観察できるようにした。まずセルロースの粉末をいくつかの低分子を用いて、超臨界処理したが、X線回折などの結果からは、分子集合体内への挿入は確認できなかった。様々な圧力、温度、極性溶媒などの共溶媒の付加などの条件下で処理を行ったが、変化はみられなかった。これはセルロースの結晶構造が強固であることによるものと考えられる。あるいは超臨界流体は一端、脱気すると気化してしまうために、そのままセルロース糖鎖内へ低分子が保持せず脱着された可能性や未反応成分の割合が多いために検出されなかったかの判別が困難であった。セルロースにはこのような不確定な要素が多いため、包接糖鎖分子として、よく用いられている環状糖鎖シクロデキストリンを用いたモデル実験を行うこととした。これは 1,4結合したグルコースが6糖から8糖の環状糖鎖で重合度の低い順に  $\alpha$ -シクロデキストリン、 $\beta$ -シクロデキストリン、 $\gamma$ -シクロデキストリンと呼ばれている。水溶液中ではその環内が外側に比べて疎水性であるために、分子を包接する特性を持っている。超臨界流体でのシクロデキストリンの色素分子包接挙動をしらべることにした。その処理した試料は熱測定、NMR、赤外吸収スペクトル(IR)、X線回折(XRD)を測定し、包接しているかの確認法と包接状態を議論した。これらの結果から色素分子としてアゾベンゼンを用いた場合、現段階では  $\alpha$ -シクロデキストリンは包接されず、 $\beta$ -シクロデキストリンは包接されているという結果を得た。これはアゾベンゼンがシクロデキストリンの空孔サイズに依存して包接することが明らかとなった。これらのシクロデキストリンの結果をモデル物質として、セルロース系への適用指針とした。

また溶液中における環状糖鎖シクロデキストリンの包接構造についても調べた。界面活性剤を水溶液中で包接させ、放射光を利用した小角X線散乱法により包接構造をとっているかどうかの判別をすることができた。濃度比により包接体の化学量論比が変化することが分かった。またゼランガムやカラゲナンといったイオン基をもった多糖類はハイドロゲルを形成するが、このゲル構造についても小角X線散乱法により調べた。さらにセルロース骨格を有するキシログルカン多糖についても様々なゲル化機構を有しておりそのゲルの構造についても小角X線散乱法によりナノ構造を明らかにした。これらの構造情報により糖鎖の会合特性などを考察し、実際の構造設計の指針とする。

### 波及効果、発展方向、改善点等

発案当初はセルロースの研究の歴史は長いにも関わらず、セルロースに対する結晶構造変換の新しい試みとして、出発し、その困難さは予想されていたが、挑戦的なテーマとして目標が達成できれば、学界のみならず、バイオマス資源の利用技術として産業界にも大きなインパクトを与え、波及効果は大きいことが予想されている。セルロースのみならず糖鎖をナノレベルで構造制御することを目的とする研究は広がりがつつある。これは生態系において多糖類は構造体としての役割を持っているものが多くあり実際にナノテクノロジーにより人工的に制御できれば優れた材料の開発につながる可能性を十分に有しているからと解釈できる。従来化学においては原子レベルで構造を考えている限りすでにナノスケールを議論しているのであるが、超分子の概念がでてきたように少し大きなスケールを含めてナノ構造を議論することが新しい部分であろう。その中で本研究は糖鎖分子においていち早くナノレベルでの分子設計の考え方を意識し、スタートさせた。すでに放射光小角X線散乱などによる糖鎖の会合構造などのナノ構造の解析技術については十分な成果をあげておりそれらの成果を基にした構造構築による材料設計のシーズが特許出願にあるように徐々に現れ始めている。今後はさらに研究をすすめて、環状糖鎖をモデル物質として実験した結果を十分にふまえて、直鎖状でありセルロースの構造解析、構造変換へと進める計画である。それと同時に分子動力学法等による計算機シミュレーションなどを行い複雑で扱いにくかった糖鎖の構造解析や構造制御を具体的な形にしていき、研究を展開していく

## .研究成果発表等の状況

### (1) 研究発表件数

	原著論文による発表	左記以外の誌上発表	口頭発表	合計
国内	1件	1件	8件	10件
国際	5件	0件	5件	10件
合計	6件	1件	13件	20件

### (2) 特許等出願件数

1件 (うち国内1件、国外0件)

### (3) 受賞等

1件 (うち国内1件、国外0件)

- セルロース学会奨励賞：「小角 X 線散乱法による糖鎖類の構造解析に関する研究」, 2003.7.17

### (4) 主な原著論文による発表の内訳

\* 発表者氏名；発表題目,文献名,巻(号),頁,(掲載年)の順

国内誌 (国内英文誌を含む)

- (1) 家入大輔、河村幸伸、三村充、浦川宏、湯口宜明、梶原莞爾：「種子由来キシログルカン多糖の溶液構造」,繊維学会誌,59,93-98, (2003)

国外誌

1. Y. Yuguchi, H. Urakawa, and K. Kajiwara : 「The effect of potassium salt on the structural characterization of gellan gum gels」, Food Hydrocolloids, 16, 191-195, (2002)
2. T. T. T. Thuy, Y. Yuguchi, M. Mimura, H. Yasunaga, R. Takano, H. Urakawa, and K. Kajiwara : 「Molecular characteristics and gelling properties of carrageenan family 1. Preparation of novel carrageenans and dilute solution properties」, Macromolecular Chemistry and Physics, 203, 15-23, (2002)
3. Y. Yuguchi, T. T. T. Thuy, H. Urakawa, and K. Kajiwara : 「Structural characteristics of carrageenan gels: Temperature and concentration dependence」, Food Hydrocolloids, 16, 515-522, (2002)
4. H. Fukada, K. Takahashi, S. Kitamura, Y. Yuguchi, H. Urakawa, and K. Kajiwara : 「Thermodynamics and structural aspect of the gelling process in the gellan gum/metal salt aqueous solutions」, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 17, 797-806, (2002)
5. Y. Yuguchi, H. Urakawa, and K. Kajiwara : 「Structural characteristics of carrageenan gels: Various types of counter ions」, Food Hydrocolloids, 17,481-485, (2003)

⑤)主要雑誌への研究成果発表

Journal	Impact Factor
Food Hydrocolloids	1.577
Macromolecular Chemistry and Physics	1.359
Journal of Thermal Analysis and Calorimetry	0.598
繊維学会誌	0.151

# 糖鎖分子ナノアーキテクチャーの研究

