

| | | | |
|---------|---|-------|--|
| 氏名 | BAI YUTING | | |
| 授与学位 | 博士(工学) | | |
| 学位記番号 | 博甲第131号 | | |
| 学位授与年月日 | 平成25年9月6日 | | |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項 | | |
| 学位論文題目 | Elucidation of interaction mechanism between lacquer polysaccharides and proteins (漆糖鎖とペプチド間の相互作用メカニズムの解明) | | |
| 論文審査委員 | 主査 教授 | 吉田 孝 | |
| | 教授 | 星 雅之 | |
| | 准教授 | 佐藤 利次 | |
| | 教授 | 青山 政和 | |
| | 准教授 | 服部 和幸 | |

学位論文内容の要旨

漆糖鎖は1,3-β構造のガラクトースを主鎖として複雑な分枝を持ち、分枝先端にグルクロン酸などの酸性糖が結合している。しかし、漆糖鎖の構造は未解明な部分も多い。本研究では初めに漆糖鎖の構造について詳細に検討した。高分解能 NMR 装置や表面プラズモン共鳴装置 (SPR) などを用い相互作用を解析し、漆糖鎖のカルボキシル基とアミノ基との静電的相互作用によるものと推定した。さらに硫酸化した硫酸化糖鎖の相互作用についても合わせて解析を行った。

樹液中の漆糖鎖は単一の分子量 (約 10 万) を示すが、採取後に約 3 万と 10 万の2つの分画に分かれ会合していると推定した。セファデックスカラムを用いて2つの分画を単離し、NMR 測定では分子量による構造の差異は見られず会合構造を支持していると考えた。IR スペクトルでは 1612 cm^{-1} に COO^- に由来する吸収が現れるが、イオン交換樹脂で処理するとその吸収は消失し 1736 cm^{-1} に COOH に由来する吸収が現れた。塩化第二鉄 (FeCl_3) 水溶液を加えたと沈殿が生じ鉄を介して会合が再現されたと考えた。

糖鎖とタンパク質間との相互作用は静電的相互作用によるものと推定されている。モデル化合物としてポリリジンの相互作用を SPR で解析した。種々の濃度、分子量の漆糖鎖との相互作用は弱く、解離速度定数 $k_d = 3.54 \times 10^{-4}$ [1/s]、結合速度定数 $k_a = 4.99 \times 10^2$ [1/Ms]、結合定数 $K_D = 7.10 \times 10^{-7}$ [M] となり、硫酸化した漆糖鎖の値、 $k_d = 1.74 \times 10^{-4}$ [1/s]、 $k_a = 4.31 \times 10^4$ [1/Ms]、 $K_D = 4.04 \times 10^{-9}$ [M] と比較して小さい。漆糖鎖のカルボキシル基は、カルボキシル基とポリリジンのアミノ基間との相互作用は硫酸基と比べて弱いことを示し、漆糖鎖の生理活性は弱い相互作用によるものと考えた。

種々の硫酸化糖鎖とポリリジンおよびモデルペプチドとの相互作用も SPR で検討した。デキストラン硫酸 (DS) は硫酸基の増大に伴って k_a が最大 2.17×10^6 [1/Ms] まで増加し、 k_d は硫酸化度に関わらず $1.37 \sim 2.79 \times 10^{-4}$ [1/s] であり、硫酸基割合の影響は見られなかった。高分子量の DS やアルギン酸 Na では $4.29 \sim 9.70 \times 10^{-5}$ [1/s] ま

で低下した。ヘパリンでは高い結合速度定数を示し、硫酸基以外にグルクロン酸やイズロン酸に由来するカルボキシル基によりアニオン性が増したと考えた。これらの結果から糖鎖の硫酸化度は結合速度に、分子量は結合の安定性に影響すると考えた。

本研究は漆糖鎖とモデルペプチドとの相互作用を SPR で定量的に明らかにした。今後はウイルスタンパク質など種々のタンパク質との相互作用の解析も行い、漆糖鎖などの構造と生理活性との関係を解明する研究を展開して行く。

論文審査結果の要旨

漆糖鎖は1,3- β 構造のガラクトースを主鎖として複雑な分枝を持ち、分枝先端にグルクロン酸などの酸性糖が結合している。しかし、漆糖鎖の構造は未解明な部分も多い。本研究では初めに漆糖鎖の構造について詳細に検討した。漆糖鎖は2つの分子量分画を持つことが知られていたが、申請者は各分画をセファデックスカラムを用いて単離し、各分画について高分解能NMR装置、IR、比旋光度などを解析し、各分画は低分子量の糖鎖がいくつか金属イオンや水素結合などによって会合している構造であることを初めて明らかにした。さらに漆糖鎖の特異な生理活性について高分解能NMR装置や表面プラズモン共鳴装置 (SPR) などを用い相互作用を解析し、漆糖鎖のカルボキシル基とタンパク質中の塩基性アミノ酸のアミノ基との静電的相互作用によるものと推定した。さらに硫酸化した硫酸化糖鎖の相互作用についても合わせて解析を行った。これらの研究は、漆糖鎖の抗腫瘍性や血液凝固促進作用、硫酸化した硫酸化糖鎖の抗ウイルス性や抗凝血作用などの特異な生理活性の発現メカニズムを定量的に解明した研究である。

これらの成果は、国際専門学術誌に総合論文として掲載決定され、かつ国際会議、高分子学会等でも発表されている。本研究の成果は博士論文として必要な事項をすべて満たし、かつ研究の発展性も期待できる。よって、申請者は北見工業大学博士 (工学) の学位を授与される資格があると審査委員会は認めた。