

氏名	趙海所
授与した学位	博士
専攻分野の名称	農学
学位授与番号	博甲第3913号
学位授与の日付	平成21年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科 バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	疎水性置換基を持つ糖質誘導体に対する CGTase の作用—糖鎖延長反応—
論文審査委員	教授 馬場 直道 教授 中島 修平 教授 神崎 浩

### 学位論文内容の要旨

糖の脂肪酸エステル、脂肪鎖アルコール配糖体などの非イオン性界面活性剤は、食品、化粧品および医療品等で広い応用性を持っていて産業的用途は極めて広い。その目的・用途に応じてそれらの親水性/親油性バランスを調節する事は重要である。そのため化学合成によって疎水性部分と親水性部分を種々組み合わせるという方法が行われている。CGTase は、親水性の高いグリコシル基受容体を良い基質とするが疎水性の高い置換基を有する化合物が基質になり難いと言われている。本研究では、糖受容体特異性の低い *B. stearothermophilus* 由来の CGTase は、疎水性の高い物質においても、配糖体化していれば、その糖部分を認識して糖転移を触媒する可能性があると考えた。本方法が、非イオン性界面活性剤の低環境負荷型生産に利用される事が期待される。

スクロースの脂肪酸エステルが CGTase の基質になるかどうかの検討では、Monolauroysucrose の混合物及び純粋な 2-O-Lauroysucrose を糖受容体として用いて CGTase によるグリコシル化反応を行った。その結果、1~3 グルコース残基が付加した生成物を得た。6-O-Monolauroysucrose が反応せず、2-O-Lauroysucrose の反応ではグリコシル化産物の収率が比較的低い事から反応位置の近くに結合している疎水性置換基が CGTase を用いるグリコシル化反応の収率を低下させる事が判かった。また、合成した脂肪鎖アルコール配糖体 Butyl, Octyl, Lauryl, Stearyl maltoside とエーテル型糖脂質を糖受容体として用いて、CGTase による糖鎖延長反応を行ったところ、Butyl, Octyl, Lauryl maltoside とエーテル型糖脂質が CGTase の基質になり、それぞれ 1~2 のグルコース残基付加した産物を得られた。収率は炭素鎖が長くなるほど低下し、Stearyl maltoside の場合、反応は進行しなかった。しかし、このようなステアシル基とマルトースの間にグリセロールを有する場合、CGTase の基質となり、糖鎖付加する事が判かった。シンナミルアルコール等の香料は、必要な時に香りを発生させるという事ができれば、新たな利用価値がある。そのため香気配糖体の合成が行われている。また、界面活性剤の親水性/疎水性バランスを変える方法として、CGTase による糖鎖延長が利用できる可能性がある。これらの香料の糖鎖誘導体を合成する事が出来れば、非イオン性中性界面活性剤としての性質を示す事が予想され、香料をベースにした新規界面活性剤となり、これをグルコシダーゼ等により加水分解すれば、香気配糖体からアグリコンが遊離し、香りが発生するので、別の利用法が考えられる。本研究では、先ずアルコール性香料をアセチルグルコースと三フッ化ホウ素に作用させ、水酸化ナトリウムで脱アセチル化してアルコール性香気配糖体を得た。続いて、得られた単糖配糖体に  $\beta$ -グリコシダーゼを作用させたところ、加水分解しアグリコンが遊離した事が判かった。CGTase の反応から得られた二、三糖配糖体は  $\beta$ -グリコシダーゼにより加水分解しなかったが、 $\alpha$ -、 $\beta$ -グリコシダーゼを同時に用いた場合、アグリコンを遊離する事が判かった。

## 論文審査結果の要旨

糖脂質を基本骨格とするバイオサーファクタントは低環境負荷型界面活性剤として近年注目されている。構造の異なる多様なバイオサーファクタントが開発されているが、それらが全て応用的に有効であるとは限らない。従って、それらの目的に応じた機能改変が重要な課題となっている。本研究ではこのような背景の基に、幾つかの脂肪酸、短鎖・長鎖アルコールのマルトース配糖体を化学的に合成し、これらの分子内の糖鎖に Cyclomaltoextrin glucanotransferase (CGTase) を作用させることによってその糖鎖を延長する方法について検討したものである。微生物が生産する CGTase は澱粉からシクロデキストリンの生成や加水分解に加えてグルコースやスクロースへのグリコシル基転移反応を触媒する。しかし、一般に本酵素は、基質に疎水性の高い置換期が結合すると触媒作用が減少すると言われている。そこで趙海□氏はこの事を確認するために長さの異なる脂肪アルコール (C4, C8, C12, C18) の各種マルトース配糖体を化学的に合成し、これに対して、糖鎖供与体としてのオリゴ糖の存在下、CGTase を作用させたところ、それらの糖鎖に 1 - 2 個のグルコース残基が付加する事を明らかにした。それらの構造確認を  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR 及び ESIMS で行っている。この実験の結果、アルコールの炭素鎖が長くなる程、収率は低下し、C18 のステアリルアルコールでは反応は殆ど進行しない事が判明した。この結果は、基質に疎水性の高い置換期が結合すると CGTase の触媒作用が減少するという説を裏付けたものとなった。興味ある事にステアリルアルコールと糖鎖が分子内でグリセロールによって分離されている場合は基質になる事も明らかにした。このように糖鎖に疎水性置換期が結合しているものでも CGTase の基質になる事が明らかになったので、趙海□氏は幾つかのアルコール性の香料の配糖体を合成し、これに対して CGTase を作用させる事によって糖鎖を延長する事に成功した。これらの物質は香りを呈さないが、glucoamylase,  $\alpha$ -glucosidase,  $\beta$ -glucosidase を同時に作用させると加水分解が起こり再び香りを発する事を明らかにした。以上の研究結果はバイオサーファクタントを含む糖脂質の物理化学的性質を変える一つの方法として意義が深く、今後の幅広い応用が期待される。

従って、以上のような研究成果は博士（農学）の学位に十分値するものと判断した。