

(別紙様式第3号)

学 位 論 文 要 旨

氏名: 吉清恵介

題目: Spectroscopic Studies on the Inclusion Behavior of Cyclodextrins (シクロデキストリンの包接挙動に関する分光学的研究)

シクロデキストリン (CD) は α -D-グルコピラノース基からなる環状オリゴ糖で、重合度が6のものを α -CD、7のものを β -CD、8のものを γ -CDと呼んでいる。CDは分子中央に疎水的な空洞を持ち、空洞の大きさに適合する様々なイオンや分子の全体、又はその一部を包接する。さらにCDの包接能を高度化するために様々な化学修飾が試みられ、それらの包接能や触媒能に関する研究が、活発に進められている。

本研究では、NMR分光法、円偏光二色性分光法、蛍光分光法等の分光学的手法により得られる多くの情報をもとに、CD及び化学修飾体の包接錯体について、その化学量論、分子構造、ゲスト分子の構造変化等を明らかにすることを目的とした。本論文は以下の3章からなる。

1) NMR Spectroscopy on the Complexation of 3,6-Anhydro- β -Cyclodextrin with 2,6-Naphthalenedicarboxylate Ion

(核磁気共鳴分光法による3,6-アンヒドロ- β -シクロデキストリンと2,6-ナフタレンジカルボン酸イオンの包接錯体形成に関する研究)

CDのグルコピラノース基の一つを他の糖に変換し、CDのマクロ環に化学的に歪みを持たせたCD誘導体が報告されている。本研究では、そのようなCD誘導体として3,6-Anhydro- β -CD (**1**)を用い、2,6-Naphthalenedicarboxylate ion (2,6-NDC)との包接錯体形成について、 ^1H NMR法を駆使して調べた。重水溶液中での**1**自体と、2,6-NDCとの包接錯体の ^1H NMRシグナルを、様々な二次元NMR法を利用し帰属した。**1**の分子空洞内に位置するC(3)-H、C(5)-Hに由来する ^1H NMRシグナルは、2,6-NDCとの包接錯体形成において、グルコース基ごとで異なる方向へシフトすることが分かった(異方性環電流効果)。また、**1**と2,6-NDCとの包接錯体形成に伴うエントロピー変化量は、未修飾 β -CDとの包接錯体形成の際の場合よりも減少していることが判明した。

これらの結果により、**1**に包接された2,6-NDCは、その分子空洞内により密に包接され、空洞での分子回転運動が制限されていることが明らかになった。

2) Complexation of a Disulfide Linked α -Cyclodextrin Dimer with 1-Alkanols

(ジスルフィド結合 α -シクロデキストリン二量体と1-アルカノール類との包接錯体形成)

架橋剤により結合されたCD二量体は、分子内に存在する2つのCD空洞で直線的な形状を持つゲストを協同的に包接することにより、特定のゲストに対して未修飾CDを圧倒する結合力を持つことが報告されている。しかし、比較的小さなゲストとの相互作用について

での報告はあまりされていない。本研究では、CD 二量体とアルキル鎖長の異なる直鎖アルカノール類との包接平衡の化学量論と結合定数を明らかにするために、¹H NMR 滴定実験を行った。

その結果、ジスルフィド結合により架橋した α -CD 二量体は、直鎖アルカノール類と二段階の包接平衡を経て、CD 二量体の両方の CD 環にゲストを包接した 1:2 型 (ホスト:ゲスト) 包接錯体を形成することが明らかになった。さらに、比較的アルキル鎖の短いエタノールや 1-プロパノールでは、一段階目の平衡で CD 二量体の一方の CD 環に包接されるが、アルキル鎖の長い 1-ペンタノールでは一段階目の平衡において両方の CD 環に協同的に包接されることが明らかになった。

3) The Effects of Cyclodextrins on the Thermal Denaturation and Renaturation Processes of Bovine Pancreatic Ribonuclease A in an Aqueous Solution Studied by Circular Dichroism and Fluorescence Spectroscopy

(ウシ膵臓リボヌクレアーゼ A の水溶液中での熱変性、再生過程へのシクロデキストリンの影響に関する円偏光二色性スペクトル及び蛍光分光法による研究)

タンパク質水溶液に糖類を添加した場合、通常タンパク質の熱安定性が上昇する。しかし、包接能を持つ CD を大量に添加した場合には、タンパク質の変性温度が低下することが知られている。この様な研究は鶏卵白リゾチームを試料に用いて頻繁に行われており、それらによると鶏卵白リゾチームのトリプトファン残基側鎖の CD による包接が、変性温度の低下に関与しているとされている。

しかしながら、トリプトファン以外のアミノ酸残基側鎖と CD との相互作用に関しては明らかではない。本研究では、トリプトファンを持たず、他の芳香族アミノ酸 (チロシン、フェニルアラニン) を有する試料としてウシ膵臓リボヌクレアーゼ A (RNase A) を用い、水溶液中での熱安定性に及ぼす CD 添加の影響を調べた。

RNase A の円偏光二色性、及び蛍光スペクトルの温度依存性に与える CD 添加の影響を調べた結果、CD がチロシン残基側鎖を包接し、その影響でタンパク質の熱安定性が減少することが明らかになった。

以上に述べた様に、本研究では溶液中での分子状態を鋭敏に反映する ¹H NMR 測定法を駆使して得られた情報をもとに、歪んだ CD 環に包接されたゲスト分子の運動状態を解明し、また、2カ所の包接部位を持つ CD 二量体とゲスト分子の錯体形成における化学量論と結合定数を明らかにした。

さらに、これまで対象にしてきたゲストよりもはるかに大きな分子量を有するゲストと CD の相互作用を研究するために、水溶液中でのタンパク質と CD の相互作用をタンパク質の構造変化に鋭敏な円偏光二色性スペクトル、及び蛍光分光法を用いて調べ、CD がタンパク質の芳香族アミノ酸残基側鎖と相互作用することによって、タンパク質の熱安定性を低下させることを明らかにした。