

審査の結果の要旨

氏 名 宮川 淳

生体内における糖鎖の認識は高い特異性を有しているにもかかわらず相互作用が微弱であるが故に、診断用マーカー等としての利用が主であり、物質分画等に用いられている例は少ない。一方、病原体や毒素が糖鎖を特異的に認識することが知られており、機能性糖鎖分子の医療への応用が期待されている。本論文は、新規な多価リガンドとしての糖鎖高分子の開発とセルロース材料への固定化による医療分野への応用について述べたものであり、全7章により構成されている。

第1章は序論であり、バイオテクノロジーにおける糖鎖化学と糖鎖工学の位置付けを述べ、本研究のバックグラウンドとなるバクテリア・毒素・ウイルスによる糖鎖の認識、糖鎖高分子の合成法、バイオマテリアルの現状について紹介するとともに、糖鎖高分子を設計・合成し、それをを用いて医療分野に応用可能なデバイスを構築することの重要性を述べている。

第2章では、病原性大腸菌 O-157 が放出する志賀毒素（ベロ毒素）によって認識されるグロボ三糖（ガラクトシル (1-4)ガラクトシル (1-4)グルコース）を化学合成し、スパーサーを介してアクリルアミドに結合して重合すると、グロボ三糖を有する糖鎖高分子が得られると述べている。また、植物由来のタンパク質であるレクチンを吸着するための材料としてのマンノースやラクトースを有する糖鎖高分子の合成についても示している。さらに、機能性糖鎖を有するモノマー、糖鎖高分子を固定化する際の反応点となるアミノ基を有するモノマー、糖鎖高分子を検出するための蛍光物質を有するモノマー、水溶性ポリマー骨格を形成するためのアクリルアミドモノマーの4元共重合により官能基を有する糖鎖高分子が得られることを示している。

第3章では、ろ紙およびセルロース中空糸を活性化する際の反応条件について述べ、エポキシ基とカルボキシル基が導入可能であるとしている。また、エポキシ基を有するセルロース材料への糖鎖高分子の固定化が困難であるのに対して、カルボキシル基を有するセルロース材料へは縮合剤を用いる温和な反応で糖鎖高分子が容易に固定化できることを述べている。

第4章では、糖鎖高分子が固定化されたろ紙へのレクチンの特異的な吸着について述べている。マンノースを有する糖鎖高分子で修飾したろ紙にはコンカナバリンAが、ラクトースを有する糖鎖高分子で修飾した口紙にはRCA120がそれぞれ特異的に吸着することを報告している。特に、異なる糖鎖高分子で修飾した複数のろ紙を重

ね合わせて蛍光ラベルしたレクチンと相互作用させると、口紙の繊維が蛍光顕微鏡で直接観察でき、精度良くレクチンが分画されていることをモニタリングできるとしている。

第5章では、人工透析に用いる透析器内部の中空系にグロボ三糖を有する糖鎖高分子を固定化し、様々な条件における志賀毒素の吸着について詳細に報告している。実際に大腸菌 O-157 に感染した際に血液中に存在する志賀毒素の量が通常のタンパク質測定法では定量できないぐらいの極微量であるため、バイオアッセイ（細胞毒性）によって志賀毒素の量を調べる必要があるが、グロボ三糖を有する糖鎖高分子を固定化した人工透析器は極微量（40 ng/ml）の志賀毒素を100万分の1以下の量に減少させるとしている。比較のために未修飾の透析器を用いると毒素量が100分の1にしか減少しないことから、毒素はグロボ三糖を有する糖鎖高分子との特異的な相互作用によって吸着除去されたと結論している。また、他のタンパク質が多量に存在する系として仔ウシ血清中での同様の吸着実験を行っても毒素の濃度が100万分の1に低下するので、志賀毒素の吸着は他のタンパク質による非特異的な吸着にはほとんど阻害されないと述べている。さらに、糖鎖含量の低い糖鎖高分子では志賀毒素の吸着能力が極端に低下することから、糖鎖高分子の形も重要であるとしている。一方、透析器本来の機能である限外ろ過能力が糖鎖高分子の修飾によって低下しないことも示している。

第6章では、グロボ三糖を有する糖鎖高分子と志賀毒素との溶液状態における相互作用を調べる一つの系として、糖鎖高分子による志賀毒素の細胞毒性阻害について報告している。細胞毒性阻害効果は、糖鎖含量の低い高分子にも存在し、溶液中での相互作用と糖鎖高分子を固体表面に固定化した場合の相互作用には違いがあり、糖鎖含量に著しく影響されることを発見している。さらに、従来はグロボ三糖のうちの還元末端側の二糖（ラクトース）は志賀毒素と相互作用しないとされてきたが、糖鎖高分子を用いた細胞毒性阻害実験という測定系を用いると相互作用しているのが観察できると述べている。

第7章では、本論文の総括と展望を述べている。

以上のように、本論文では、機能性糖鎖を有する高分子の設計・合成およびセルロース材料への固定化技術開発について述べ、新しい医療機器として志賀毒素を吸着する透析器を製作し、その優れた性能を実証した。これらの成果は、生体高分子工学および糖鎖生命工学の発展に寄与するところが大きい。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。

「審査の結果の要旨」の概要