総 説

合成糖脂質-加水分解酵素モデルとして

大 勝 靖 一

工学院大学 (〒163-91 東京都新宿区西新宿 1-24-2)

Synthetic Glycolipids-As Hydrolase Models

Yasukazu OHKATSU

Department of Applied Chemistry, Faculty of Engineering, Kogakuin University
(1-24-2 Nishishinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo, 〒163-91)

Abstract : Synthetic Glycolipids, which contain cyclic or acyclic sugar moieties connected, in some cases, with amino acid(s), have hydrolyzing abilities as hydrolase models. Characteristics of these models are made clear in comparison with those of other models, mainly histidine derivatives substituted with higher alkyl group(s), proposed so far. That is, synthetic glycolipids are distinguished by hydrolyzing activities that they do not need coexistence of amphiphilic substance(s) which are indispensable for other hydrolase models, that they can hydrolyze not only ester bonds, but amide and glycoside bonds which are too strong to be hydrolyzed by other models, and that, in addition to recognition of D,L-configuration of amino acids, they can recognize kinds of amino acids as well as α,β -glycoside bonds. The active site of glycolipids on hydrolyses and the effect of reaction fields on hydrolyzing activities of glycolipids are also discussed.

Key words : synthetic glycolipid, hydrolase model, hydrolysis, amino acid glycoside bond.

1 はじめに

糖類は緑色植物の光合成の産物であり、その多くはアミロース、セルロースとしてあるいはキチンとして動植物の栄養素または骨格形成体として貯蔵されている。一方で、糖類は複合糖質、すなわち糖タンパク質、糖脂質、プロテオグリカンとして生体内で重要な役割を演じていることが最近分かるようになってきた。現在明らかにされているこれらの複合糖質に結合する糖鎖の働きには2つある。その1つは、糖鎖自体が機能分子としては働かないが、それが結合するタンパク質や脂質を周囲の環境から保護し、安定化させる役割である。他は糖鎖自体が直接機能する場合で、情報の感知部位、また基質・環境識別部位として作用するものである。その一例を Fig. 1¹⁾ に示すが、この他にも糖鎖は ABO 血液型抗原に深くかわり、神経細胞にたいしても生理活性を示す²⁾。

酵素は多くの生体内反応を温和な条件下にスムーズに進行させる優れた触媒であり、多くはタンパク質からなる。しかしこれは分離の煩雑さ、異なる環境での不安定さ、高価格などの欠点を持っている。近年になって、これは一つの目的であるにすぎないが、酵素の示す欠点を

持たない酵素モデルの研究が活発化した。その一つに、 α -キモトリプシンを対象にする加水分解酵素のモデル化が盛んに行われている。一般に酵素モデル系を構築する場合、酵素モデルは、それを働かせる場、すなわちミ

Fig. 1 Substrates and Organisms Recognized by Sugar Chains in Biobody.

セルやベクシルのような分子集合体の作る反応場と組み合わせて使用される³⁾。

著者らは、糖質の持つ基質識別能と親水性とを利用して自己ミセル・ベシクル能を有する糖脂質を合成し、加水分解酵素モデルとして用いることを考えた^{4),5)}。もちろん当初は、 α -キモトリプシンの57ヒスチジンのイミダゾリル基が加水分解の活性点であるという事実に基づいて酵素モデルにもそれが必要であるとの考えが一般的であったから、糖脂質にもヒスチジン残基を導入し、これを自己ミセル・ベシクル形成酵素モデルとして分子設計し、使用した。後になって、加水分解にはヒスチジン基が必ずしも必要でないこと、またその存在しないほうが α -キモトリプシンにより良く似ることが分かり、ヒスチジン残基のない糖脂質に研究の中心が移った。本総説では、このような観点から、主に後者の糖脂質の持つ加水分解活性とその他の機能について記述したい。

2 糖脂質の合成

著者らの合成した糖脂質は、次のように分類され、Fig. 2に要約される。

1) アミノ酸残基を含む糖脂質

- a) 2-位にスパーサーを介して炭化水素基を含む環式糖脂質 (A)⁶⁾
- 2-位に炭化水素基を含む環式糖脂質 (B)⁷⁾
- 1-位に炭化水素基を含む環式糖脂質 (C)⁸⁾

b) 直鎖糖脂質 (C)

チアゾリジン環も含むモノアルキルアミン型糖脂質 (D)⁹⁾

チアゾリジン環のみを含むモノアルキルアミン型糖脂質 (E)⁹⁾

チアゾリジン環のみを含むジアルキルアミン型糖脂質 (F)⁹⁾

チアゾリジン環も含むモノアルキルアミン型糖脂質 (G)⁹⁾

2) アミノ酸残基を含まない直鎖糖脂質

ジアルキルアミン型糖脂質 (H)¹⁰⁾

これらの糖脂質の合成は、文献¹¹⁾に概述されているが、特に加水分解酵素モデルとして良く用いられている糖脂質の合成例を Scheme 1 および 2 に示す。

直鎖糖脂質 (G) の合成 (Scheme 1)¹²⁾ は、糖とステインとの反応から始まる。例えば、マンノースとステインを水中でピリジン存在下にかくはんすることによって中間体化合物を得る。続いてすべてのヒドロキシル基に対するアセチル化または第一級ヒドロキシル基のトリチル化により糖部分の保護を行う。いずれの保護でも同程度の結果が得られる。ついで第一または第二級アミンと反応させて炭化水素鎖を導入し、常法により脱保護基して目的の糖脂質を得る。さらにアミノ酸残基を導入したい場合には、第一級ヒドロキシル基をカルボキシル基に硝酸酸化し、これにアミノ酸を反応させれば良い。

チアゾリジン環を含まない直鎖糖脂質 (H) (Scheme

Fig. 2 Synthetic Glycolipids.

A : H, CH₃CO A₁ : OH, amino acid, CH₃O R₁, R₅, R₆ : H, higher alkyl

Scheme 1 Synthetic Route of Glycolipid (F)

Scheme 2 Synthetic Route of Glycolipid (H)

2)¹⁰⁾ は、例えば糖とアルキル化アミンをメタノールに溶解し、大気中で数日間還流させ、溶媒の除去後に得られる油状物をシリカゲルのカラムで精製して合成される。

3 糖脂質の加水分解活性

3・1 立体異性体 (D,L) の識別

過去に報告されている加水分解酵素モデルのほとんどすべては立体異性体の識別に関するものである³⁾。いくつかの酵素モデルを除けば、それは大きく2つに分類することができる。1つは活性モデル化合物を適当な反応場中に置いて、すなわちミセル・ベシクルを形成する両親媒性物質の存在下に用いて活性が発現されるモデル系である。これらの多くは高級炭化水素鎖にアミノ酸またはペプチドのついた化合物をヘキサデシルトリメチルアンモニウム=プロミド (CTAB) のようなミセル形成剤と共に使用するものである。中でもヒスチジン残基を含むジペプチド型触媒の場合、D,L-フェニルアラニン *p*-ニトロフェニルエステルの加水分解において 12.2 の不斉選択性が報告されている¹³⁾。しかし酵素モデル系と

しては、一般にミセル系よりもベシクル系のほうが高い不斉選択性が得られ、例えば長鎖アルキルアンモニウム=プロミドの存在下において同様のジペプチド触媒を用いる加水分解の場合 83.6 という D,L-選択性が得られている¹⁴⁾。

それ自身がミセルやベシクルを形成するモデル触媒も報告されている。例えばヒスチジン残基を含有するベシクル形成触媒によるアミノ酸エステルの加水分解において、4.4 の D/L 選択比が報告されている¹⁵⁾。このような不斉の場合を含む機能性界面活性剤型酵素モデルについては、筆者らの糖脂質モデルを除いて研究例が非常に少ない。

糖脂質モデルのうち、糖脂質 (G) および (H) 型のものは、D,L-アラニンアミドの加水分解において Glc-*d*-(Lau)₂ が 4.3 の、また D,L-フェニルアラニンアミドのそれで 2.2 の不斉選択比を示す程度である¹⁶⁾。しかしアミノ酸残基を含む糖脂質モデルはかなり高い選択比を示す場合のあることが示されている。その例を Table 1 に示す。この表からは多くのことを知ることができるが、直鎖型の糖脂質で、アミノ酸残基が末端位に付いて

Table 1 D,L-Recognition in Hydrolyses of Phenylalanines.

Run	Glycolipid	Rate constant (M ⁻¹ s ⁻¹)		$k_{2,L}/k_{2,D}$
		$k_{2,L}$	$K_{2,D}$	
1	(A) c(2)-GlcHisLau	28.5	10.5	2.69
2	(B) c(2)-GlcHisLau	31.8	4.2	7.56
3	(D) GlcHisLau	74.4	162.0	0.46
4	(D) ManHisLau	24.0	121.8	0.20
5	(D) GalHisLau	68.5	175.2	0.39
6	(E) HisManLau	428.1	65.7	6.51
7	(E) HisMan(Lau) ₂	438.9	7.2	61.05
8	(E) AlaHisManLau	583.9	44.4	13.15
9	(E) AlaHisMan(Lau) ₂	362.9	9.2	39.60

いて、しかもベシクルを形成するものがフェニルアラニン *p*-ニトロフェニルエステルの不斉識別も、加水分解速度も高いことが理解できる。特に興味の有ることに **Table 1** の実験 6-9 のモデル触媒系においてもミセル系よりもベシクル系のほうが高い不斉選択性が得られることが分かる。**Table 2** には、Run 7と9のモデル触媒をミセル形成糖脂質 ManLau の共存下を使用する混合ベシクル系での加水分解反応の結果を示す。モデル触媒とミセル形成糖脂質とが1:1で存在する場合には不斉選択比が非常に向上することが分かる。これらの選択比 96.2 及び 102 は従来報告されている特殊な系を除いたモデル触媒の中では最も高い選択比である。この系にコレステロールを添加すると選択比が更に向上する⁹⁾。一般に細胞膜中においてコレステロールは膜の安定化に寄与していると言われるが、この研究でもベシクルの安定性が選択比の向上・維持に必要であると報告されている。

特殊なモデル触媒系では酵素と同様の不斉識別能を示す場合がある。例えば、トリスで緩衝された3% アセトニトリルを含む水系において、ベシクル形成剤

と次の3つのミセル形成剤

のいずれか1つとのある割合での混合ベシクル系にモデ

Table 2 Stereoselective Hydrolyses Using Catalyst Systems of Vesicle-forming Catalysts and Man.Lau.

Catalyst system	(mol%)*	$k_2/\text{mol}^{-1}\cdot\text{dm}^3\cdot\text{s}^{-1}$		k_2^D/k_2^L
		L	D	
His.Man.(Lau) ₂ + Man.Lau	0	42.6	48.5	0.88
	25	173	10.1	17.1
	50	455	4.73	96.2
	75	283	5.69	49.7
Ala.His.Man.(Lau) ₂ + Man.Lau	100	484	7.19	61.0
	0	42.6	48.5	0.88
	25	162	2.44	66.2
	50	314	3.08	102
	75	148	1.63	90.9
	100	363	9.16	39.6

[Catalysts]= $1.67 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$

[Man.Lau]= $1.67 \times 10^{-4} - 3.34 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$

ル触媒

を用いて次のフェニルアラニンエステル誘導体

を加水分解した場合、L-体だけしか加水分解しない、すなわち選択比が無限大となることが報告されている^{17),18)}。

一方筆者らの糖脂質は、他の酵素モデルと異なって、エステルだけではなく、アミド結合をも加水分解することができる。トリスで緩衝された水系で行ったアラニンの *p*-ニトロアニリンアミドの加水分解におけるマンノース型の糖脂質の D,L-選択比は次ページ上図表のようである。しかし後者の2つの糖脂質を混合したベシクル系では Fig. 3 に示すような興味ある結果が得られる¹⁶⁾。この酵素モデル系は、上述した系に比べて非常に単純であるにもかかわらず、アミノ酸アニリドが親水性であればあるほど選択性が高く、アラニンアニリドではモデル触媒の 20~30% の存在において L-アラニンアニリドしか加水分解されない。このように親水性アミ

ノ酸に対して酵素類似の不斉識別が達成されたのは初めてのことである。この酵素モデル系でのD,L-選択はモデルの基質取り込み段階よりも、酵素-基質複合体の加水分解段階にあることが動力学的に確認されている¹⁶⁾。

3・2 グリコシド結合の識別

筆者らの合成した糖脂質は、炭水化物、例えばアミ

ロース、セルロース、キチン、キトサンの非常に強固なグリコシド結合も加水分解することができる^{19),20)}。しかも同時に α 、 β -グリコシド結合も識別する²⁰⁾。アミロースとセルロースの加水分解速度定数比をTable 3に要約する。これから分かるように、糖脂質モデルによっては弱い α 結合の方が優先的に加水分解されるわけで

Fig. 3 Stereoselective Hydrolyses Using Catalyst System Consisting of Man(Lau)₂-HisCOOMe and Man-Lau.

Table 3 Substrate Recognitions and Configurations of Sugar Residues.

Cat.	D-Xyl-(Lau) ₂	L-Ara-(Lau) ₂	D-Gal-(Lau) ₂	D-Glc-(Lau) ₂	
$\frac{k_{2cell}}{k_{2amy}}$	2.39	2.01	1.63	1.39	
Cat.	L-Rha-(Lau) ₂	D-Man-(Lau) ₂	D-Rib-(Lau) ₂	L-Fuc-(Lau) ₂	D-Ara-(Lau) ₂
$\frac{k_{2cell}}{k_{2amy}}$	1.07	0.98	0.95	0.80	0.71
					0.69

はなく、例えばキシロース、L-アラビノース、ガラクトース、グルコースなどは強い β 結合のセルロースをより選択的に加水分解する²¹⁾。

Table 3には選択比の大きい方から小さい方へ順に並べてあるが、この順序が脂質モデルの糖残基の立体配置と関係のあることが読み取れる。すなわち、糖の2, 3-位のヒドロキシル基の立体配置がL-トレオのときにはセルロースを優先的に、またD-トレオのときにはアミロースを優先的に加水分解し、エリトロでは結合の識別が行われない。現在この事実の解明は不充分であり、今後の検討を待たなければならない。

3・3 アミノ酸の種類の識別

従来報告されている加水分解酵素モデルの対象にした基質はほとんどがフェニルアラニンエステルであり、他のアミノ酸エステルの加水分解はほとんど検討されていない。Fig. 4には、糖脂質による各種アミノ酸エステルを加水分解した結果を示す²²⁾。縦軸は二次速度定数、また横軸はアミノ酸側鎖の疎水性パラメーターである。このパラメーターは右に行くにしたがって疎水性の度合いの大きくなることを示す。図から分かるように、糖脂質触媒による加水分解速度は、アミノ酸側鎖が疎水性であるほど高い。この傾向は、基準に示した α -キモトリプシンの触媒活性に対応していることが分かる。Fig. 4の直線部分の傾きについて、 α -キモトリプシンの勾配を1とした時の、糖脂質のそれをアミノ酸基質選択性として採用することができる。糖脂質の基質選択性0.2~0.04は α -キモトリプシンのそれより小さいが、今までアミノ酸の種類を識別する酵素モデルの報告のないことを考えると、糖脂質は α -キモトリプシンに最も近いモデルと言える。

Fig. 4 Relationship between Second Order Rate Constants and Hydrophobicity Parameters.

糖脂質は、アミノ酸アミドについても α -キモトリプシン類似の加水分解を行うことが報告されている。この場合の糖脂質の立体配置と基質選択性をTable 4に示す。先にこの立体配置とグリコシド結合の識別とは対応関係のあることを述べたが、この加水分解においても同様の対応関係が観察される²³⁾。すなわち、糖の2,3-位

Table 4 Recognition Ratios of Amino Acids by Glycolipids.

	$\begin{array}{c} \text{X} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{X} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{X} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{X} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{X} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Sugar	Gal	Glc	Man	L-Rha	L-Fcu
direct	0.33	0.29	0.24		
indirect	0.35	0.22	0.37	0.21	0.09
(-COOH)	0.44	0.35	0.48		

	$\begin{array}{c} \text{X} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{X} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{X} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{X} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{X} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$
Sugar	Xly	L-Ara	Rib	L-Xyl	Ara
direct	0.31		0.11	0.08	0.06
indirect	0.36	0.38	0.34	0.18	0.18

	$\begin{array}{c} \text{X} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{X} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{X} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$
Sugar	L-Thr	Ery	L-Ery
direct	0.37	0.30	0.19
indirect	0.36		

のヒドロキシル基の立体配置がL-トレオのときに識別能が高く、ついでエリトロ、D-トレオの順に基質識別能の低下することが分かる。言い換えると、糖の2,3-位のヒドロキシル基がアミノ酸の種類を識別していると推定することができる。

Table 5は、アミノ酸アミドの加水分解における動力学的パラメーターを要約する¹⁰⁾。表は基質選択性が二

Table 5 Substrates Recognition.

Catalysts	Relative ratio	$k_2 \times 10^{-1}$ ($\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	$K_m (10^{-2})$ M
α -Chymotrypsin	1.00	—	31.0
Man(Lau) ₂	0.35	117	2.44
Man(Lau) ₂ -COOH	0.48	158	2.27
Man-d-(Lau) ₂	0.24	82.6	8.33

Substrate=Z-L-Phe-p-NA

* N-Acetyl-L-phenylalanine amide

次速度定数よりも $1/K_m$ と関係のあることを示している。このことは、基質の識別がその取り込みの際に行われることを示しており、細胞表面上の糖残基の役割を推察する上に興味ある事実である。

4 糖脂質酵素モデルの加水分解活性発現

4.1 活性点の探求

糖脂質酵素モデルの活性点については、2つの対象を考えなければならない。その1つは加水分解活性そのものであり、他は立体・基質識別能である。

前者は上述したように糖残基の2,3-位の立体配置と関係がある。Fig.-5は各種糖脂質による基質選択性を縦軸に、また基質の代表としてフェニルアラニンアミドの加水分解の二次速度定数を横軸にプロットした図である²³⁾。他のアミノ酸についても同様の関係が得られている。これらの結果は、糖脂質の加水分解活性も糖残基の2,3-位の立体配置と対応していることが推定できる。これを更に確かめるために、2または3-デオキシテトロースの糖酸に由来する糖脂質を合成し、フェニルアラニンエステルの加水分解に応用した結果を Table 6

Fig. 5 Correlation between Substrate Recognition Ratios and Second-order Rate Constants in Hydrolyses of Phenylalanine Amide.

に示す²⁴⁾。基準になる 2,3-ジヒドロキシ型の糖脂質とデオキシ型のそれとの加水分解活性を比較すると理解できることではあるが、2-位のヒドロキシル基が3-位のヒドロキシル基よりも大きく活性に寄与していることが分かる。元来糖は中性と考えられているが、筆者らの糖脂質は水中において(ベシクル状態において)解離していることが確認されており、その中和 pH の高いほど活性が高い。また H₂O の代わりに D₂O を用いる加水分解反応では、分解活性の高い糖脂質ほど高い一次同位体効果が認められている (Table 7)。このことは、糖脂質が例えば

のように 2-位のヒドロキシル基プロトンが速やかに重水素化され、この解離が加水分解の律速段階になっていることを暗示している。以上の結果から、共役塩基の強いほど触媒活性が高いと判断でき、加水分解が Fig. 6 のようにして進行することが推定できる。

4.2 活性の発現

有機化合物が単分子でなくて、分子集合体を形成すると、単分子では示し得ない性質を持つようになることは良く知られている。しかしそれだけではなく、混合ベシクル系においては、加水分解に活性な糖脂質が均質に分布しているのか、適当な大きさのコロニーを作っているのか、またそれらが活性にどのように影響しているのか

Fig. 6 Hydrolysis Mechanism.

Table 6 Catalytic Activities of Deoxy-glycolipids.

Catalyst	Symbol	Catalytic activity $k_2(\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})^{2)}$
	D-Thr-d-(Lau) ₂ -COOH	1294
	3-Deoxy-D-Thr-d-(Lau) ₂ -COOH	1036
	2-Deoxy-D-Thr-d-(Lau) ₂ -COOH	618

$$\text{X} : \begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ \text{C} - \text{N} \begin{array}{l} \text{C}_{12}\text{H}_{25} \\ \text{C}_{12}\text{H}_{25} \end{array} \end{array}$$

1) in Tris-buffer solution
2) Substrate : Z-L-PheONp

Table 7 Acidity, Hydrolysis Activity, and Isotope Effect...

Catalyst	Acidity (pH)	Catalytic activity $k_2(\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})^{2)}$ (in H ₂ O)	$k_2(\text{in H}_2\text{O}) / k_2(\text{in D}_2\text{O})$
Xyl-d-(Lau) ₂	8.85	1,017	2.67
Rib-d-(Lau) ₂	7.39	742	2.19
Ara-(Lau) ₂	6.66	424	1.18

substrate : Z-L-Phe-ONp

が問題となるであろう。良く知られていることであるが、細胞膜を構成しているリン脂質成分は細胞の存在部位によって非常に異なっている。筆者はこの状態がいわゆる反応場として酵素の活性などに深くかかわっているものと考え、いくつかの検討を加えている。

反応場の酵素モデルに対する作用は、これで充分と考えてはいないが、今までの検討によれば次のように分類できる。

- 1) 希釈による分子集合体の大きさや形の制御¹⁶⁾
- 2) 相互作用による酵素モデル分子の活性制御²⁵⁾
- 3) 2分子膜の流動性の調節による酵素モデル分子の活性制御²⁶⁾

このような反応場と酵素モデルの相互作用が酵素モデルの機能発現に影響を与えているわけである。例えば、Fig. 3を見ると、D/L 識別能には2つの好ましい活性酵素モデル状態があると推定することができる。すなわ

Fig. 7 Effect of Phospholipids on Activity of Man(Lau)₂.

ち, Man(Lau)₂-HisCOOMe と ManLau の混合ベシクルにおいて, 前者が 25 % または 50 % 存在しているときに D/L 識別能の山が観察される。前の山は親水性のアミノ酸を見分けるのに, また後の山は疎水性のアミノ酸を見分けるのに好都合のように見える。このことは, 活性酵素モデルが ManLau で希釈されるにつれてその分子の集合状態を変えていることを示唆している。

Fig. 7 は Man(Lau)₂ のアミノ酸エステルの加水分解における反応場の影響を示す²⁵⁾。反応場としては, 静電的な, 主には希釈の効果があると考えられるホスファチジルコリン (PC) または酵素モデルと水素結合しうるホスファチジルグリセリン (PG) を使用した。図の縦軸は糖脂質モデルのみの活性を 100 とした相対活性を, 横軸は糖脂質モデル成分の存在割合を示している。反応基質としてアミノ酸側鎖が疎水性であるフェニルアラニンと親水性であるグリシンの 2 種類のエステルを用いた場合, 後者のエステルは PC または PG の存在下においてさほど影響を受けず加水分解された。しかし, フェニルアラニンのエステルは, PC の存在下において加水分解速度が向上し, PG の共存下には逆に著しく低下した。これは PC の希釈効果によって基質の取り込みが有利になったためであると考えられる一方, PG においては親水性部に水素結合しやすい基を持つため, 酵素モデルの活性点であるヒドロキシル基が抑えられたことによる失活, または基質の取り込み阻害が起こったものと

Fig. 8 Effect of Phospholipids on Activity of Man(Lau)₂.

思われる。

生体膜を構成するリン脂質はゲル-液晶相転移温度を示すが, 生命現象に重要な点は脂質がゲル状態にないということである。これは膜の流動性が生命維持に欠かせないことを意味している。Fig. 8 は異なる相転移温度を有する PC 型 (*N*-メチル化ホスファチジルエタノールアミン) の反応場を用い, 相転移温度以上または以下で加水分解を行った結果を示す。相転移温度以下での反応では, 酵素モデルの活性が極度に低下することが分かる²⁶⁾。一方相転移温度以上の場合には, 活性が著しく向上し, しかも相転移温度の低い反応場ほど活性を向上させている。このような事実は, 膜の流動性が生命維持に必要なことと関係があるのかもしれない。

以上述べてきたように, 糖脂質酵素モデルの活性発現は単に糖脂質の化学構造のみに帰せられるものではない。その糖脂質がいかなる大きさおよび形で, またいかなる環境, すなわち反応場で働くかを知ることも活性発現には非常に重要であることが理解されるであろう。

5 おわりに

糖脂質の生体内における働きについては, いまだに不明確な部分がかなり多い。筆者らの合成糖脂質を加水分解酵素モデルとして使用する一連の研究は, もちろん生体内で糖脂質が加水分解酵素として機能しているかもしれない可能性を暗示するために行っているのではない。

糖脂質の加水分解機能の発見はそれ自体重要なことではある。しかしながらこれらの研究は、別の視点に立って見た時、生体内の非常に複雑で巧妙な仕組みに対応して、モデル的に更なる知見を提供しているものと考えられる。その1つは、糖が一見中性であるように見えるが、実は酸・塩基の解離をするという事実である。他は糖残基が基質、化学結合などを認識する能力があるという点である。これは生体膜上での糖鎖がその細胞が近づく基質を識別しているという事実に対する最も簡単なモデルを提供したことに相当する。最後に酵素の活性発現と生体膜の諸性質との関連が充分検討されていない現状にあって、それらの相互作用の重要性を示唆したことである。いまだ不十分な部分が多いが、最近では糖質を用いるモデル的な分子認識の研究も行われるようになってきた。これらが総合されて、生体内での未解明な仕組みに関する解明の足掛かりになることを念じている。

(受付: 1995年9月6日; 受理: 1995年9月26日)

文 献

- 小嶋直也, 化学工業, 45, 449 (1994).
- 松尾義之 (構成・文), 日経サイエンス, 1993 (4), 16.
- 上岡龍一, 表面, 25 (5), 312 (1987).
- 大勝靖一, 化学工業, 55, 308 (1991).
- 大勝靖一, 化学工業, 45, 456 (1994).
- 草野 邁, 大勝靖一, 河口和雄, 小野泰史, 工学院大学研究報告, 60, 20 (1986).
- 河口和雄, 大勝靖一, 草野 邁, 工学院大学研究報告, 63, 96 (1987).
- 三好美覚, 河口和雄, 大勝靖一, 草野 邁, 工学院大学研究報告, 65, 96 (1988).
- K. Kawaguchi, K. Isobe, Y. Ohkatsu, T. Kusano, *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, 41, 458 (1992).
- Y. Ohkatsu, N. Nakamura, *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, 44, 30 (1955).
- 大勝靖一, ファインケミカル, 24 (11), 5 (1995).
- Y. Ohkatsu, K. Hamada, M. Saitoh, *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, 42, 359 (1993).
- Y. Ihara, N. Kunikiyo, T. Kunimasa, M. Nango, N. Kuroki, *Chem. Lett.*, 1981, 667.
- K. Ohkubo, N. Matsumoto, H. Ohta, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1992, 740.
- Y. Murakami, A. Nakano, A. Yoshimatsu, K. Fukuya, *J. Am. Chem. Soc.*, 103, 728 (1981).
- Y. Ohkatsu, M. Ozawa, Y. Numata, N. Nakamura, *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, 投稿中.
- R. Ueoka, Y. Matsumoto, T. Yoshino, T. Hirose, K. Omura, Y. Murakami, *Chem. Lett.*, 1986, 127.
- R. Ueoka, Y. Matsumoto, T. Yoshino, N. Watanabe, K. Omura, Y. Murakami, *Chem. Lett.*, 1986, 1743.
- Y. Ohkatsu, T. Sugino, K. Hamada, Y. Watanabe, *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, 40, 747 (1991).
- Y. Ohkatsu, K. Hamada, M. Saitoh, *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, 42, 359 (1993).
- Y. Ohkatsu, T. Kuba, *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, 44, 179 (1995).
- Y. Ohkatsu, T. Sueyoshi, *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, 43, 220 (1994).
- Y. Ohkatsu, N. Nakamura, *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, 投稿中.
- Y. Ohkatsu, J. Kubokoya, *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, 投稿準備中.
- Y. Ohkatsu, T. Sueyoshi, *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, 43, 1001 (1994).
- Y. Ohkatsu, K. Sasaki, *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, 印刷中.

日本油化学会誌本号掲載 論文要旨

[総説] 合成糖脂質—加水分解酵素モデルとして

大 勝 靖 一

工学院大学工学部 (〒163-91 東京都新宿区西新宿1-24-2)

アミノ酸基の結合した環式糖および鎖式糖残基を含む合成糖脂質は、加水分解活性を有し、加水分解酵素モデルとなる。この合成糖脂質モデルを他の多くの提案されている長鎖アルキル基置換アミノ酸型モデルと比較し、その特徴を明らかにしている。すなわち合成糖脂質は、それ自体がミセル・ベシクルを形成する両親媒性物質であるが故に他の多くのモデルと違って両親媒性物質を共存させなくても良いこと、エステル結合ばかりでなく、従来のモデルでは加水分解し得ないアミド結合やグリコシド結合も加水分解できること、また基質識別に関してはアミノ酸のD、L-識別のほかにアミノ酸の種類の識別、グリコシド結合の α 型と β 型の識別も行い得ることなどの特徴を有することが説明されている。その他、合成糖脂質の加水分解の活性点やその活性に及ぼす反応場の影響についても議論されている。

(連絡者：大勝靖一) Vol. 45, No. 1, 3, (1996).

[報文] イオン系および非イオン系界面活性剤
による合成香料の可溶化徳岡 由一^{※1, ※3}・内山 浩孝^{※1, ※4}・阿部 正彦^{※1, ※2}

※1 東京理科大学理工学部工業化学科 (〒278 千葉県野田市山崎2641)

※2 東京理科大学界面科学研究所 (〒161 東京都新宿区神楽坂1-3)

※3 現住所 エステー化学株式会社研究部 (〒161 東京都新宿区下落合1-4-10)

※4 現住所 フロクター・アブ・キャプトル・ファーマー・イースト・インク研究開発本部 (〒658 兵庫県神戸市東灘区向洋町中1-17)

イオン系界面活性剤であるドデシル硫酸ナトリウム(SDS)および塩化ドデシルトリメチルアンモニウム(DTAC)、さらに非イオン系界面活性剤であるポリオキシエチレンドデシルエーテル(C_{12} POE₂₀)による合成香料(オイゲール, リナロール, 酢酸ベンジル, α -ヨノン, α -ヘキシルシンナミックアルデヒドおよびd-リモネン)の可溶化能を測定したところ、d-リモネンを除いたすべての香料の可溶化能は C_{12} POE₂₀ > SDS > DTACであった。またd-リモネンの可溶化能は C_{12} POE₂₀ > DTAC > SDSであった。これらは、界面活性剤-香料間相互作用とミセル中における香料の可溶化領域の大きさのバランスによるものと考えられる。

(連絡者：徳岡 由一) Vol. 45, No. 1, 13, (1996).

[報文] 界面活性剤の光分解 (第18報) 酸化チタンを使用した界面活性剤の無機化におけるT O C測定

日高 久夫^{※1}・野原 香代^{※1}・堀越 智^{※1}・田中 伸明^{※1}・渡部 俊也^{※2}趙 進才^{※2, ※3}・ニック セルフォーン^{※4}

※1 明星大学理工学部 (〒191 日野市程久保2-1-1)

※2 東陶機器株式会社基礎研究所 (〒253 神奈川県茅ヶ崎市本村2-8-1)

※3 中国科学院, 感光化学研究所 (北京市德外北沙滩 100101, 中国)

※4 コンコーデア大学化学科(ド・メゾヌーブ通1455, ウェストモントリオール, ケベックH3G1M8, カナダ)

陰イオン系 (DBS), 陽イオン系 (CTAB, BTDAC, C_{12} -PC), 非イオン系 (C_{12} E₅, N-DHA) および両性系 (C_{12} -betaine, C_{12} -amidobetaine, C_{12} -HAA) 各界面活性剤が紫外線照射下, 半導体光触媒分散系中で光