

利用することにより、染色体に凝縮阻害を起こさせ、培養細胞から解像度の高い染色体を作製する方法に応用した。ICRF193 によるヒト HL60 細胞の短時間処理により平均約 2 倍の長さの染色体標本を得ることが出来る簡便な方法を開発し、さらに、他の細胞でもその有効性を示し、この方法が、培養細胞由来の凝縮度の高い染色体の解析に有効であることを示した。

以上のように本研究では、動物細胞ゲノムの新しい複製機構の発見、ならびに、インプリント遺伝子の発現制御機構や染色体の凝縮制御による標本作製法の改良などゲノムを理解するための数多くの基本的な知見を示した。今後、本研究により得られた新規知見が、動物資源の利用の基盤となる情報として利用されていくことを期待している。

## 生物機能応用科学専攻

|           |                                     |
|-----------|-------------------------------------|
| 氏名        | 永松ゆきこ                               |
| 学位記番号     | 生博 甲第 108 号                         |
| 学位記授与の日付け | 平成 13 年 3 月 26 日                    |
| 学位論文題目    | 機能性リグニン系ポリマーの設計と合成                  |
| 論文審査委員    | 主査 教授・船岡 正光<br>教授・徳田 迪夫<br>教授・武田 明正 |

### 要 旨

植物は二酸化炭素を直接有機物へと固定化、蓄積することのできる唯一の生命体であり、その営みは生態系における物質循環の源である。また、炭素循環系において最終段階に位置する化石資源は我々の生活を支えている。しかし、その化石資源の枯渇を目前に控えた今、初期固定化炭素資源である植物系バイオマスを次世代の主要資源として人類の経済活動に直接導入し、長期間循環活用し得るシステムを早期に確立する必要がある。

本研究では、酸水溶液とフェノール誘導体を機能環境媒体とする相分離系変換システムをキーステップとして、セルロースに次ぐ存在量を誇る天然リグニンより機能性リグニン系ポリマー（リグノフェノール）を誘導、そのカスケード型循環活用システムについて検討した。すなわち、リグノフェノール分子内に各種構造を有する 1,1-ビスアリールプロパン型ユニットを高頻度に構築し、これを分子内機能変換素子とした多段階機能変換システムについて考究した。

ユニット構成 C1 フェノール核として、リグニンとの結合位置に対して常にオルト位にフェノール性水酸基を有するパラ置換フェノールを、必要時に C2 炭素を攻撃し、リグノフェノール素材の機能を二次的に制御するスイッチング素子として活用した。一方、立体的に C2 位攻撃が困難な 2,6-ジメチルフェノールをスイッチング

素子の分子内構築頻度を制御するコントロール素子として活用した。

立体障害が小さく、芳香核塩基性の高い 2,6-ジメチルフェノールは天然リグニンに高頻度でハイブリット化された。一方、アルキル置換基が立体的に大きい高疎水性フェノール誘導体は、合成時、濃酸の攻撃に対するリグニンのバリア効果が高く、結果としてハイブリット化率の低下、リグノフェノールの収率低下および分子量増加を引き起こした。

素子の構造とそのスイッチング効果について検討した結果、スイッチング素子導入頻度とその効果との間に高い相関が認められた。さらに、そのアルキル側鎖がかさ高い p-n-プロピルフェノールはスイッチング効果が小さく、素子の効果は、芳香核塩基性よりもむしろ立体因子によって影響されることが示された。

スイッチング素子頻度およびその効果がほぼ等しいリグノ-p-クレゾール、リグノ-2,4-ジメチルフェノールにおいて、前者が主鎖末端リグニンフェノール性芳香核とハイブリッド化クレゾール核上に活性ポイントを有し、総体として高活性であるのに対して、後者は末端のみに活性を有するため比較的安定である。したがって、両リグノフェノールにメチロール (HM) 基を導入し、これを活性プレポリマーとした高分子構造制御システムについて検討した。その結果、リグノ-p-クレゾールはほぼ

全ての活性ポイントに HM 基が導入され、重合によりネットワーク高次構造を形成した。一方、リグノ-2,4-ジメチルフェノールは末端における重合によってリニア型高分子構造を形成した。さらに、誘導したリグニン系高分子素材の分子内スイッチング機能により、その高次構造を高レベルに解放することが可能であった。特に、スイッチング素子が架橋に関与しない HM-リグノ-2,4-ジメチルフェノール熱架橋体は、オリジナル素材と同等のスイッチング効果を有した。一方、HM-リグノ-p-クレゾール熱架橋体は、クレゾール核間での架橋によりその自由度が低下し、スイッチング機能化効果は低下した。

上記知見を応用し、リグノフェノールをマトリクスとするセルロースとの複合材料を創製した。HM-リグノ-p-クレゾール複合素材は高密度で高強度、さらに耐水性に優れ、マトリクス素材であるリグノフェノールの架橋密度、分子サイズ、疎水特性等の制御によって、様々な

特性を有する材料が誘導できることが示された。さらに、リグノフェノールの分子内スイッチング効果発現により、複合素材の再分離が可能であった。特に、HM-リグノ-2,4-ジメチルフェノール複合素材はほぼ定量的な再分離効果を示した。一方、高度に架橋複合を形成した HM-リグノ-p-クレゾール複合素材は、再分離により高いエネルギーが必要であることが示唆された。したがって、両素材のアロイ化、あるいはハイブリッド化 p-クレゾールおよび 2,4-ジメチルフェノールの頻度制御により、素材の循環特性を制御可能であると考えられる。

リグノフェノールは、特性の分野でのみ機能させるべく誘導するのではなく、基本元素の集合体と見なし、地球全体における物質循環バランスを考慮した材料設計に基づいている。したがって、その循環特性を精密制御することにより、様々な分野に活用できるだけでなく、植物バイオマスの過剰な採取を抑制できると考えられる。

## 生物機能応用科学専攻

|          |   |
|----------|---|
| 氏名       | ムシェダ カツン アリ   |
| 学位記番号    | 生博 甲第 109 号   |
| 学位記授与の日付 | 平成 13 年 3 月 26 日  |
| 学位論文題目   | Studies on a multidomain Xylanase Xyn10B of <i>Clostridium stercorarium</i><br>( <i>Clostridium stercorarium</i> 由来のマルチドメインキシラナーゼ Xyn10 に関する研究) |
| 論文審査委員   | 主査 教授・大宮 雄<br>教授・古市 幸生<br>教授・荒木 利芳<br>助教授・粟冠 和郎<br>助教授・木村 哲哉<br>大阪府立大学大学院 教授・荒井 基夫  |

## 要 旨

The nucleotide sequence of the *Clostridium stercorarium* F-9 xyn10B gene, encoding a xylanase Xyn10B, consists of 3,093 bp and encodes a 1,031-amino acids with a molecular weight of 115,322. Xyn10B is a multidomain enzyme composed of N-terminal signal peptide and six domains in the following order: two thermostabilizing domains, a family 10 xylanase domain, a family IX

carbohydrate-binding module, and two S-layer homologous domains. Immunological analysis indicated the presence of Xyn10B in the culture supernatant of *C. stercorarium* F-9 and in the cells, most likely on the cell surface. Xyn10B purified from a recombinant *E. coli* was highly active toward xylan and slightly active toward p-nitrophenyl-b-D-xylopyranoside, p-nitrophenyl-b-D-cellobioside, p-nitrophenyl-b-D-glucopyranoside,