

Study on Structures, Physical Properties, and Functions of Various Polysaccharides

(Received November 10, 2006)

Makoto Hisamatsu^{1,*}

¹Graduate School of Bioresources, Mie University
 (1577, Kurima-machiya-cho, Tsu 514-8750, Japan)

Abstract: There are many kinds of polysaccharides composed of glucose, mannose, galactose, xylose, arabinose, glucosamine and so on. It is not so easy to follow their functions; however, it is possible to suggest them through some information on the physiology and/or ecology of microorganisms and plants. Generally, original skills, abilities, discoveries and ideas are also necessary in order to take large steps in research. I would like to introduce some attractive matters in the science of polysaccharides in addition to an explanation of the polysaccharides (succinoglycan, β -1,2-glucan, chitin, xyloglucan, β -1,3-glucan, amylopectin) examined. Furthermore, the utilization of biomass has been anticipated as a solution to the problem of the environment and polysaccharides are the main materials of biomass. A technique for the saccharification of polysaccharides to monosaccharides and a technique for fermenting monomers to useful materials like bioethanol should be studied.

Key words: succinoglycan, xyloglucan, chitin, β -1,3-glucan, amylopectin

各種多糖類の構造, 物性, 機能に関する研究**

久松 眞^{1,*}

¹三重大学大学院生物資源学研究所 (514-8507 津市栗真町屋町 1577)

グルコース, マンノース, ガラクトース, キシロース, アラビノース, グルコサミンなどの単糖から構成される多糖類の種類はたくさんある。それらの役割を理解することは容易でないが, 微生物や植物などの生理・生態を学ぶことから, 多糖類の役割を推察できることがある。一般的に, 研究を飛躍的に進展させるには独自の技術, 能力, 発見, ひらめきも必要である。これまでの研究で報告することができた各種多糖類の説明に加え, 新しい事実遭遇することができた経緯も織り交ぜ多糖類科学の魅力を紹介したい。

1. 細胞外水溶性多糖類 (サクシノグリカン)

土壌微生物で Ti プラスミドをもつ細菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) は傷口などから植物に感染しクラウンゴール (植物がん) を作る。このプラスミドは植物の DNA に組込まれる性質があるため植物の遺伝子組換えに利用されている。*Agrobacterium radiobacter* はこの Ti プラスミドが細胞から抜けたものと考えられる。いずれも細胞外に高い粘性の水溶性多糖類を生産する。また, 窒素固定で知られる豆科植物の根に共生する根粒菌も類似の多糖類を生産する。根粒菌の場合は宿主特異性が非常に高く, マメ科植物ごと

に根粒菌が異なり細胞外多糖類の構造も少しずつ異なる。そのような中で, 牧草であるアルファルファと共生する根粒菌 (*Rhizobium meliloti*) はアグロバクテリウムと同じ構造の水溶性多糖類を生産する。

エチレングリコールを唯一の炭素源として資化でき粘性の高い水溶性多糖類を生産する珍しい微生物が土壌から分離された¹⁾。この多糖類は, おもな構成糖がグルコースで有機酸としてコハク酸を含むことからサクシノグルカンと命名された²⁾。この株は *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* 10 C 3 の名で長く親しまれたが, 後に *Agrobacterium biosp.* に改名された。現在は遺伝子解析で微生物の同定はかなり正確になったが, 以前は根粒やクラウンゴールから分離されたことだけで菌の同定がなされていたので, それらの組織からこぼれ土壌圏で生育している微生物の同定は容易でなかった。

土壌から分離された *Xanthomonas campestris* もユニークな粘性を示すヘミセルロース様の水溶性多糖類ザンサンガム (Xanthan gum) を生産する。この多糖類の完全な構造の報告³⁾は 1975 年のことで, この年を境に微生物多糖類の 1 次構造の報告が増える。ザンサンガムは, 塩が少し多くても, pH が酸性側やアルカリ性側に大きくふれても, また温度が少々高くなっても粘性は極端に低くならない特性があるため, 粘性を強化したい調味料等に利用されているが, もともとは岩盤の隙間を塞ぎ水蒸気を加圧して油田を

* Corresponding author (Tel.+81-59-231-9614, Fax.+81-59-231-9613, E-mail: hisamats@bio.mie-u.ac.jp).

** 平成 18 年度日本応用糖質科学会学会賞受賞講演

くみ上げやすくする目的から研究・開発された多糖類である。この粘度はアグロバクテリウムや根粒菌の多糖類と比べると低いので、石油関連企業はさらに高品質の微生物多糖類の探索に力を注いだ時期があった。

サクシノグルカンはグルコースとガラクトースが7対1の割合で構成されているが、マイナーなガラクトース残基は生合成される最初の糖であり、何かしらの意味があると考え後にサクシノグリカンと改名された。この構造は、アルファルファ根粒菌の水溶性多糖類を研究したスウェーデンのグループが化学分析法だけで最初に報告した⁴⁾。この解析方法とは別に、われわれはサクシノグリカンを唯一の炭素源として生育できる微生物 (*Flavobacterium* M 64) で誘導した菌体外酵素と菌体内酵素を順次作用させ、八糖からなる繰返し単位のオリゴ糖とそれを丁度真ん中で加水分解し2種類の四糖を調製し^{5,6)}、それらのオリゴ糖を化学分析しサクシノグリカンの構造を解析する手法 (Fig. 1) を

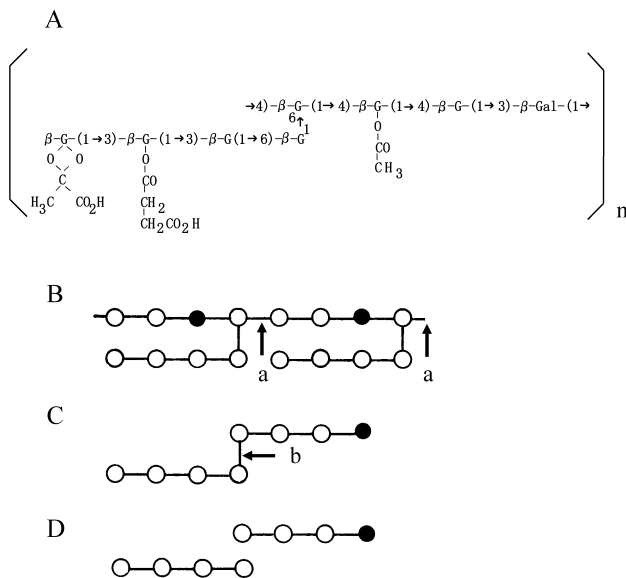


Fig. 1. Structure of succinoglycan and fragmentation of succinoglycan by specific β -glycanase.

The structure of succinoglycan (A) was elucidated from chemical analyses of octasaccharide (C) corresponding to the repeating unit of succinoglycan and two tetrasaccharides (D) obtained by successive fragmentation of deacylated succinoglycan (B) with extracellular succinoglycan depolymerase (arrow a) and intracellular endo- β -glucanase (arrow b) of *Flavobacterium* M 64. ○, glucose; ●, galactose.

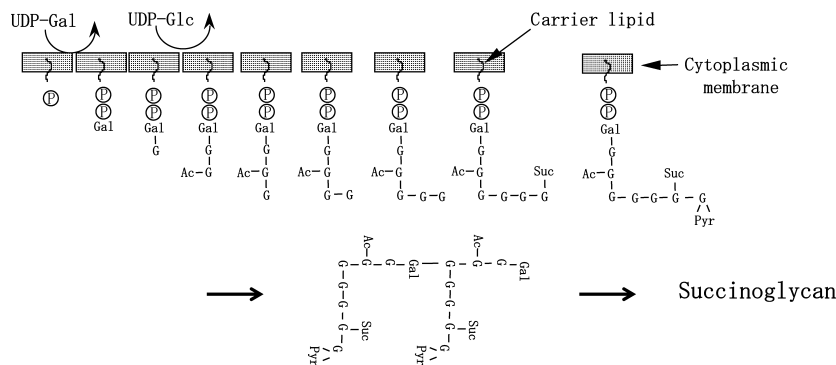


Fig. 2. Arranged model of succinoglycan biosynthetic pathway proposed by Reuber and Walker.⁸⁾

G, glucose; Gal, galactose; Suc, succinic acid; Ac, acetic acid; Pyr, pyruvic acid; P, phosphate.

開発した⁷⁾。この方法のメリットは、酵素の特異的作用を利用できるため複数の水溶性多糖類を一度に解析できることである。その結果、アグロバクテリウムの水溶性多糖類の構造解析はわれわれが最初となった⁷⁾。

米国のグループは、アルファルファ根粒菌の水溶性多糖類の変異株を多数取得し、八糖の繰返し単位オリゴ糖が順次成長して高分子となる生合成系を証明した (Fig. 2)。同時にそれぞれの変異株の根粒形成能を調べた結果、コハク酸残基を有しない水溶性多糖類を生産する変異株は窒素固定能がある根粒形成まで至らないことを明らかにし⁸⁾、初めてサクシノグリカンの機能が証明された。

アグロバクアテリウムでは長期保存して細胞が死滅するところに水溶性多糖類の生産能力が減少し、 β -1,3-グルカンである水不溶性多糖類 (カードラン) の生産性が増加する自然変異現象が観察される⁹⁾。これらの自然変異株の中でカードラン生産菌として利用されている 10C3K 株はサクシノグリカンを生産しないことから究極の変異株といえる。

2. 環状 β -1,2-グルカン

アグロバクアテリウムや根粒菌の培養液中には、メチル化分析で1,2-結合が約80%を占める分子量3000程度のグルカンの存在が知られていた。サクシノグリカンの繰返し単位である酸性の八糖を研究していたことから、20%程度のマイナーな複数のメチル化糖のピークは、コハク酸とピルビン酸が結合した酸性オリゴ糖であると直感した。大部分の β -1,2-グルカンにはそのような有機酸がないことが幸いして両者はイオンクロマトで分けることができた^{10,11)}。このような環状グルカンは植物に感染する多くの微生物が作るようである。また、アグロバクアテリウムの方が根粒菌よりその生産量は5-10倍ほど高い¹²⁾。

当時はHPLCが普及しはじめたころで装置もカラムも高価で、分析技術も手探りの状態であった。しかし、 β -1,2-グルカンの部分加水分解物を下降法のペーパークロマトで溶媒を変えながら複数回展開すれば重合度20程度のもは確認できそうなこと、部分加水分解して得られる1,2-結合のオリゴ糖は極端に還元力が弱いが、クロマト後ペーパー上に分離された糖を優先的に過ヨウ素酸酸化した

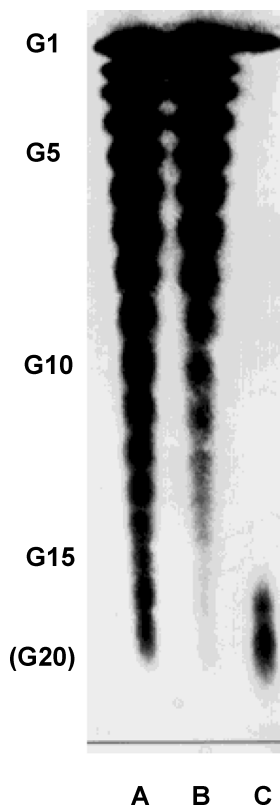


Fig. 3. Paper chromatography of partial hydrolysates of β -1,2-glucan and native β -1,2-glucan.

The oligomers were prepared by hydrolysis of native β -1,2-glucan with 0.1 M-TFA at 100°C for 120 min (A) or 150 min (B). C was mixed with glucose and native β -1,2-glucan. G1, G5, G10, G15, and G20 indicate the position of glucose and respective glucose oligomers.

あと硝酸銀法でスポットを出させる特殊な発色が行えたことで、ペーパークロマトを徹底的に行った。ほぼすべてのオリゴ糖が検出できるようになったとき、コントロールとして供した未分解の β -1,2-グルカンに複数のスポットが検出された (Fig. 3)¹⁰。その後ペーパークロマトと HPLC で純化し¹³C-NMR で測定すると 6 本の炭素シグナルのみが検出され、初めて重合度が異なる環状 β -1,2-グルカンの存在を証明することができた¹³。

3. 部分的脱アセチル化キチン (PDAC)

1980年代は、細胞融合、固定化酵素、バイオリクター、遺伝子組換えなどを扱うバイオテクノロジーが新しいサイエンスとして注目され始めたころである。キチンやキトサンを酵素固定化担体として利用する報文も多く、どちらの担体が優れているのか、アミノ基がアセチル化されているキチンにタンパクがどうして固定されるのか疑問を抱いたことがきっかけとなって研究を始めた。また、酵素の固定化量が多いキトサンは酸性側の緩衝液で長期間使用すると担体が溶解してなくなることも不思議であった。そこで、酸性条件下でも溶け出さなくて酵素固定化量も多い担体を作るため、キチン粉末の表面はキトサン構造で中心部はキチン構造をとる部分的脱アセチル化キチン (PDAC) の調製法を研究した。一般に、キトサンはキチン粉末を濃硝酸等で処理して結晶構造を崩壊させたのち、強アルカリ

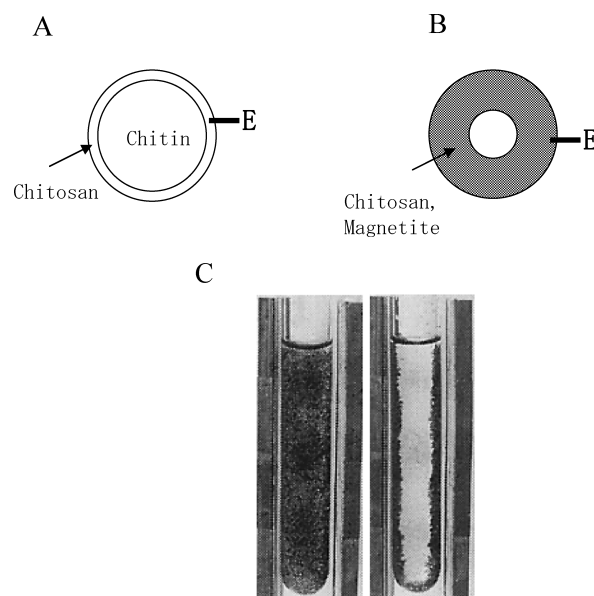


Fig. 4. Partially deacetylated chitins and response of magnetic support in a magnetic field.

Partially deacetylated chitins (PDAC) were prepared by boiling under the heterogeneous hydrolysis with 16.7% NaOH (A) and 37.5% NaOH (B), respectively. B type PDAC was steeped in 100 mM acetic acid to expand chitosan chains located in the outer part of the PDAC, mixed with magnetite after adjusting to pH 5.5 and then treated with glutaraldehyde. The magnetic support prepared had the ability to move rapidly in a magnetic field and immobilized enzyme (E).

溶液中で煮沸してアセチル基を外す。これに対してキチン粉末を前処理なしで懸濁させながら強アルカリ処理すると表面から順次脱アセチルされる¹⁴。また、さまざまな脱アセチル化度を有する PDAC は、アルカリ濃度を変えて煮沸すると得られることもわかった。

キチン粉末の中心近くまで脱アセチル化を行い、酢酸処理して不溶なものを回収し、粉末の表面から中心部の間に強磁性体であるマグネタイト (普通の磁石の粉末で酸化鉄) を包埋すると磁力感受性の酵素固定化担体ができた (Fig. 4)¹⁵。市販の超微粒の磁性化担体と比べるとお粗末なものであるが安価で大量に作成できる。この磁性化担体はコバルト磁石などの磁場におくと短時間で集められる。

4. キシログルカン

植物は、セルロース、ヘミセルロース、リグニンが高度に絡み合った繊維質の集合体である。針葉樹と広葉樹で構成が若干異なるがこれらはハードバイオマスとも呼ばれ、サトウキビやトウモロコシのような一年草の場合はソフトバイオマスとも呼ばれる。植物の単細胞はセルロースで覆われているが、集合体を形成するには細胞間を連結する材料が必要となる。ヘミセルロースとリグニンはそのような機能を担っている。

ヘミセルロースの代表格であるキシログルカンはセルロースに吸着でき、その主鎖は β -1,4結合したグルコースの糖鎖である。その4個のグルコース残基に連続して α -結合のキシロースが3個結合した七糖が基本ユニットである。残りの1個のグルコース残基に置換基がないところ

キシログルカンの一つの機能がデザインされている。キシログルカンは植物細胞壁のセルロースと絡まっているので、細胞分裂して成長するときにはキシログルカンの一部は切断され縛りが緩まなければならない。そのため、 α -キシロースが結合していないグルコース残基の結合が内生のセルラーゼ系酵素で切れる。さらによくできている点は、この加水分解酵素の量が適正値を超えると七糖にフコシルガラクトース残基が結合した九糖のオリゴ糖が増え、これが生長を抑制する情報伝達を担う。また、七糖と九糖が結合した十六糖 (Fig. 5A) の矢印 a のグルコシド結合は、七糖と十一糖が結合した十八糖 (Fig. 5B) の矢印 b のグルコシド結合より 100 倍ほど酵素作用を受けやすい。九糖にフコシルガラクトース残基がさらに 1 個結合した十一糖¹⁶⁾は九糖よりさらに強い生長抑制に関する情報伝達を担っていると推測している。高価なフコシルガラクトース残基には、酵素が主鎖のグルコシド結合に吸着して作用することの強弱をコントロールしているような機能が考えられる。また、Fig. 5C のように α -結合のアラビノース残基がつく

と矢印 C の結合は全く切れない^{17,18)}。キシログルカンの構造には多様な機能が満載されている。

5. β -1,3-グルカン

多糖類もタンパク質同様 1 次構造と高次構造の把握が必要であるが、両者の機能の違いを明確にすることが難しいため多糖類の高次構造に関する研究は少ない。また、デンプンの糊化と老化は 1 次構造と高次構造の可逆・不可逆の複合的な反応と考えられる。主成分のアミロペクチンの 1 次構造が、分子内と分子間で相互作用が同時に進行する観点から物性を研究する必要があるがこの作業は相当複雑で難しい。ところで、 β -1,3-グルカンは条件を整えばダイナミックに 3 本鎖の高次構造 (トリプルヘリックス構造) を形成する特性があり、さまざまな多糖類の高次構造の形成過程を理解するのに多少は役立つと考える。

1 本鎖の β -1,3-グルカンは、3 本鎖構造をとり、さらに 3 本鎖同士が束となってフィブリルを形成し繊維となる。病原性を示す微生物にはカビや酵母が多いが、これらの微生物

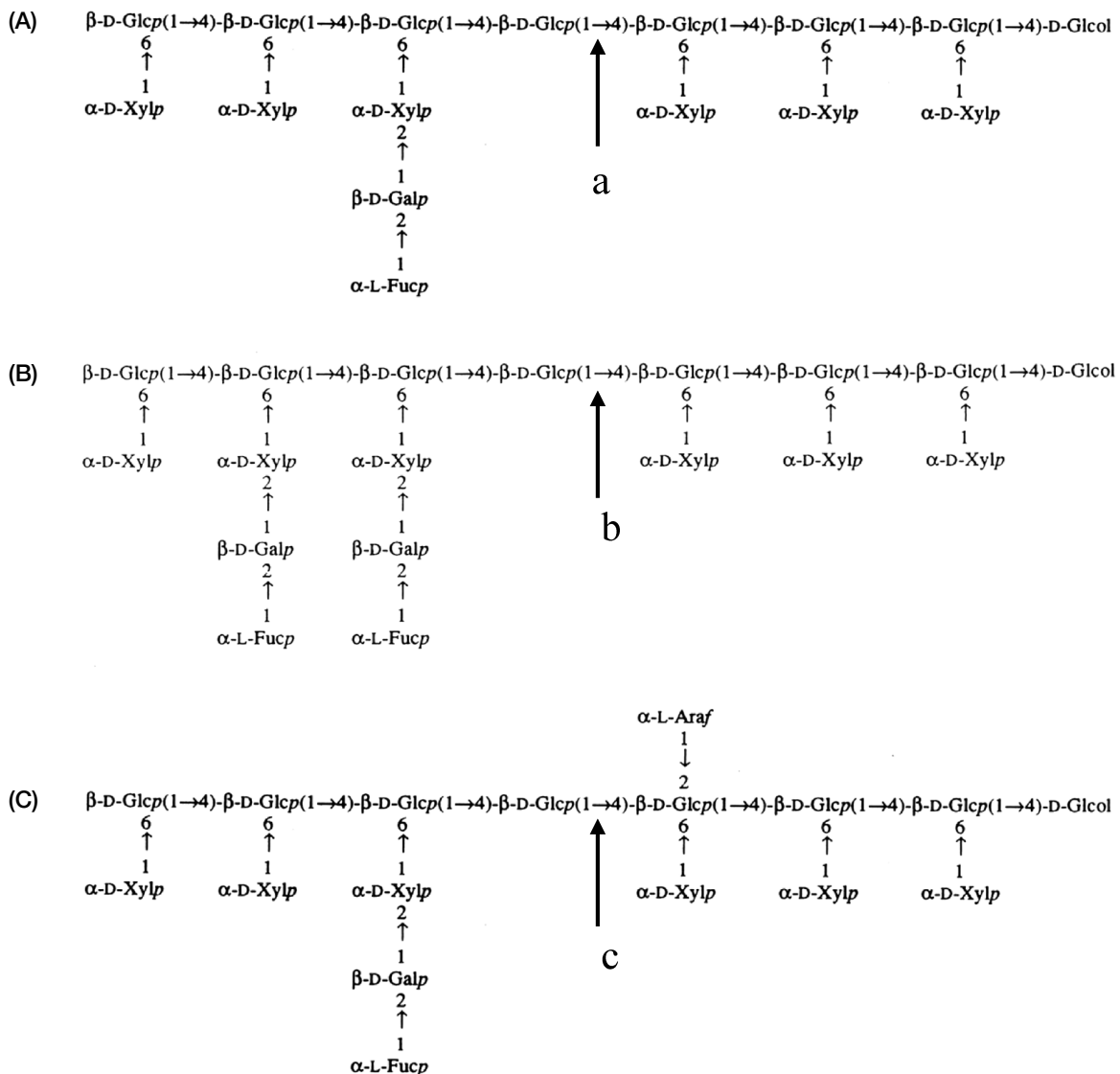


Fig. 5. Unit structures (A, B and C) of xyloglucan and the sensitivity of cellulase to the glucosyl linkages of arrow a, arrow b and arrow c in the three units.

Arrow c is not digested by cellulase. The rate of hydrolysis of arrow b is much slower than that of arrow a.

物は細胞壁に β -1,3-グルカンの繊維を利用しているものが多い。植物や動物などの高等生物は、これらの微生物の細胞壁から得られる情報をもとに危険因子の存在性をつかみ反応していると考えられる。植物の病原菌を認識するオリゴ糖の情報伝達機能はエリター活性として知られている。また、動物の場合は免疫の機能を活性化する過程で類似の情報伝達システムがあると考えられると理解しやすい。

酵母細胞壁の主役は β -1,3-グルカン系多糖類であり、細胞融合するときはこの細胞壁を削除したプロトプラスト細胞で行う。バイオテクノロジーが盛んになりはじめたころは細胞融合と遺伝子組換えは同等に興味ある研究対象であったが、細胞融合にはファジーな部分が多く基礎的な技術の蓄積を優先するサイエンスにはなじめなかった。このファジーな部分とは、プロトプラスト細胞の遺伝子的不安定性が大きな要因といわれた。一方、植物病理の分野では、カビ等の菌糸が植物細胞の表面を溶解して進入すると細胞内ではエリター活性で誘発される抗菌性物質(フィトアレキシン)の生合成や溶解された細胞壁の修復に関係する生合成で細胞内は大混乱していることがわかってきた。細胞壁を溶解された細胞は、その補修や予防対策に追われさまざまな遺伝子が立ち上がっている。そのような状態で有用遺伝子のみをうまく組み込ませることを期待する方が厚かましい。実際、酵母プロトプラストを再生するとかなりの細胞は死滅し復帰できない。そこで、細胞壁を溶解したのであるからそれに変わる多糖類を一時的にあてがいプロトプラスト細胞を少し安定化させる基礎実験を試みた。これまでに扱ってきた身近な水溶性多糖類(キシログルカン、キサントガム、サクシノグリカン、シゾフィランなど)を使用して酵母プロトプラストの再生率を調べた結果、 β -1,3-グルカンのシゾフィランだけが飛びぬけて高い再生率(約千倍)を示した¹⁹⁾。また、 β -1,3-グルカンのこのような効果は上述した高次構造と関係があるかどうかを確かめるためシゾフィランの低分子化を試みた。

デンプンなどの多糖類を部分加水分解する普通の条件でシゾフィランを作用させたが全く低分子化しなかった。加水分解の条件を強くして低分子化を試みると、極端に小さなオリゴ糖になり、高次構造を形成する能力を有した低分子化物は得られなかった。これは酵母細胞壁溶解酵素であるザイモリエース(β -1,3-グルカナーゼ)でも同じであった。結論として、トリプルヘリックス構造の状態では部分加水分解は難しく、1本鎖にしてから部分加水分解する必要のあることを学んだ²⁰⁾。いろいろな水-DMSO溶液中でシゾフィランを0.01 M 硫酸 100°Cで5時間加水分解し、蒸留水で透析してDMSOを除き凍結乾燥試料を調製した。この試料をToyoparl HW-55 Fカラムでゲルクロマトグラフィーを行った結果、70% DMSOまでは低分子化されず80% DMSOで低分子化されることがわかった。この実験はシゾフィラン20 mgで行った結果であるが、処理量を500 mgにスケールアップすると同じ条件でも低分子化できずDMSO濃度を85%に上げた。北村らの報告²¹⁾による

と、80% DMSOに溶解したシゾフィランは100°Cの条件ではほぼ3本鎖と1本鎖の境界線上にあり、わずかな条件の変化で高次構造が変化する。さまざまな低分子化シゾフィランについて酵母プロトプラストの再生率を調べた結果、高次構造をとれないほど低分子化した試料については酵母プロトプラストの再生率向上効果は認められなかった²²⁾。

主鎖が β -1,4-グルカンであるキシログルカンはセルロースに吸着できる。同じように考え、シゾフィランが水不溶性の β -1,3-グルカンであるカードランゲルに吸着するかどうか実験した。予想したとおりシゾフィランおよび高次構造をとりうる低分子化シゾフィランはガードランゲルに吸着した²³⁾。また、シゾフィランは天然型の結晶セルロース(セルロース I)には吸着するが、非結晶性のセルロース IIには吸着しないこともわかった²³⁾。酵母プロトプラストの再生率がシゾフィランを利用すると著しく向上した理由として、プロトプラスト細胞上に再生された、あるいは残っていた β -1,3-グルカンとシゾフィランが吸着しプロトプラスト細胞を安定化した結果ではないかと推察した。

6. アミロペクチン

デンプンを加工する現場では、わずかな物性変化でも製造ラインにトラブルが生じたり、製品となったときのサイズや食感に影響する。デンプンの物性と構造に関する多くの研究は品種が異なるデンプンの比較であるのに対し、食品工場では同一品種間のわずかな差が問題となっている。この場合は明確なデータを取りにくいことから研究が少ない。現状では職人の経験と勘に頼っているといても過言ではない。しかし、職人の高齢化が進み技術の継承が危惧されている。一方、流通は国際化し品質と価格の両面から農産物も自由競争の場に置かれているため、品種改良された植物の栽培が以前と比べると驚くほど速い。そのような理由から、伝統食品の製造ではこれまでと同じ原料を入手することは難しくなっている。

デンプンの主成分であるアミロペクチンの1次構造、特にユニット構造をイメージするためには、French-貝沼モデルから檜作モデルの範囲で十分である。物性と関連する微細構造の情報や、ユニット構造がどのように高分子化されているのか、さらにそれを収めているデンプン粒の特性と食品加工での役割などを明らかにしていく作業が残された。

一般の高分子科学の物性試験で使用する試料濃度は0.1%から1%、デンプン科学の粘性試験でも10%程度までである。パンや麺では50%レベルでデンプンが加工される。煎餅やスナック菓子はそのような生地をさらに高温で乾燥させる。加水量が制限されているのでデンプン分子は加水されるが、どろどろの糊にはならない。その結果、デンプン粒の崩壊は少ない。そのため、デンプン粒のサイズ、加熱時のデンプン粒の膨潤、デンプン粒内での糊化と老化、デンプン粒から溶出した一部の糊成分の作用などに

焦点を絞った研究が現場の問題解決に役立つと思われる。

デンプンの物性をアミロペクチンだけで考えることは間違っているが、お米のようにアミロース含量が少ない場合は、主成分のアミロペクチンがデンプン物性に影響する割合は高くなっている。そして、高濃度下で食品加工に役立つ構造情報を抽出する場合は、まずは影響力の大きい部分の構造研究が必要である。分子間相互作用は外側に位置する構造部位で行われると考え、アミロペクチン分子の外部構造を優先的に抽出する研究を進めた。

上述した部分的脱アセチル化キチンにマグネタイトを包埋した磁性担体に枝切り酵素であるイソアミラーゼを固定化してアミロペクチンの部分加水分解の研究を行った²³⁾。どの程度の枝切り反応がアミロペクチン分子の外側に位置する枝の情報を収集することができるかどうか検討した。反応初期であればあるほどその条件を満たすが、切出された短鎖アミロースを分析する量も十分に得なければならない。その結果、30 mg の試料から大体 10-15% 程度の枝切り反応で A 鎖に相当する短鎖アミロースの特徴を分析できると判断した (Fig. 6)。酵素を固定化する煩わしさと固定化することによって酵素活性が 1 割以下に低下し予算的な問題も無視できない。そこで、フリーなプルラーゼを作用させるだけでも大体のアミロペクチンの外側の短鎖アミロース情報は得られること²⁴⁾、また多数のデンプン

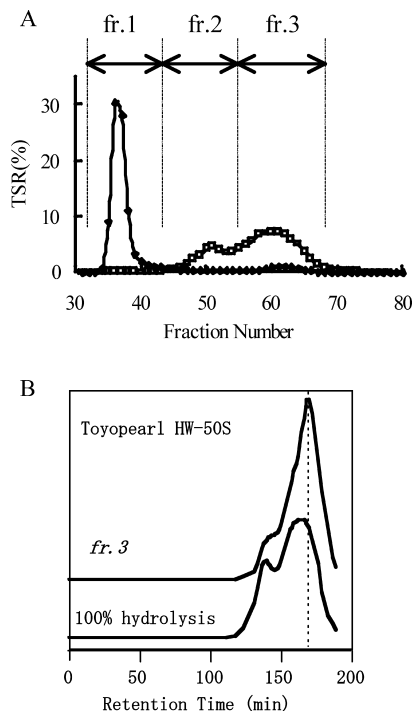


Fig. 6. Gel permeation chromatography of partial hydrolysate and complete hydrolysate of waxy starch on a column of Toyopearl HW-50 S.

The elution curves of A were drawn with total saccharide ratios. The partial hydrolysate (about 15% hydrolysis) of waxy starch was fractionated into three fractions (fr. 1, fr. 2 and fr. 3) and the short-amylose chains derived mainly from the outer portion of amylopectin were collected in fr. 3. The elution pattern of short-amylose chains located on outer portion of the amylopectin molecule was compared with that of short-amylose chains derived from complete hydrolysis by RI detector (B).

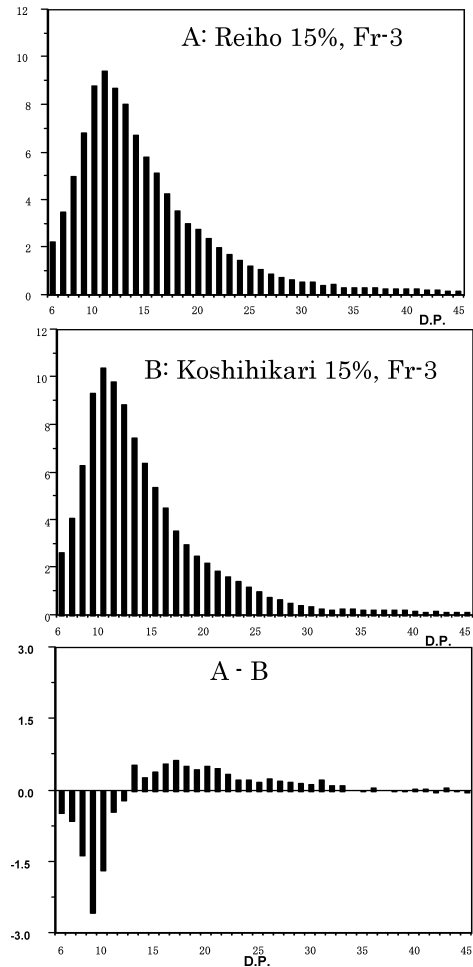


Fig. 7. Difference in short side-chains between Fr. 3 of Reiho amylopectin and Fr. 3. of Koshihikari amylopectin.

It was found that the outer portion of Reiho amylopectin is composed of longer chains than that of Koshihikari amylopectin. The result agreed broadly with physico-chemical properties that the starch of Koshihikari gelatinizes more quickly and is more resistant to retrogradation than that of Reiho.

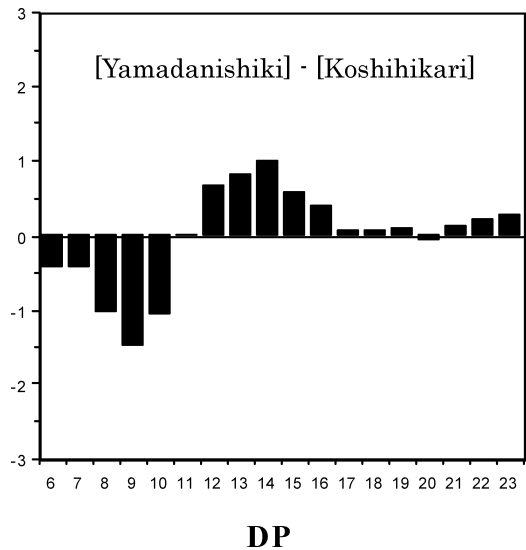
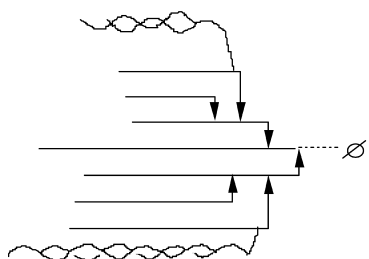


Fig. 8. Difference in short side-chains between fr. 3 of Sake-rice amylopectin and fr. 3. of Koshihikari starch.

It was found that the outer portion of Sake-rice (Yamadanishiki) amylopectin is composed of longer chains than that of Koshihikari amylopectin. It could be suggested that rice starch with amylopectin susceptible to retrogradation is adequate for Sake-rice.

Plentiful shortish chains on the outer layer of the amylopectin molecule
(Resistant to retrogradation)



Plentiful longish chains on the outer layer of the amylopectin molecule
(Sensitive to retrogradation)

Fig. 9. Proposed models of the outer portion of the amylopectin molecule suggesting physical properties concerned with properties sensitive and resistant to retrogradation.

パン試料の中からアミロペクチンの構造特性を絞り込むスクリーニングとして利用する場合はアミロースとアミロペクチンを分ける煩雑な作業はできるだけ避けたい。そのような意図から、ウルチデンプンを直接作用させても上記のアミロペクチンに関するおおよその構造情報が得られることを証明した²⁵⁾。食味評価の違う米 (Fig. 7)²⁶⁾、普通の米と酒米 (Fig. 8)²⁷⁾、物性の異なるモチデンプン²⁸⁾を例に比較研究したところ Fig. 9 に示した結論になる。

7. バイオエタノール

デンプン、水あめ、砂糖を利用している食品業界では毎日かなりの廃棄物を出している。これらの一部は家畜の飼料として利用されるが大部分は産業廃棄物として処分される。また、サツマイモ、ジャガイモ、キャッサバ等の芋類からデンプンを取った残り (皮部分) にも無視できない程度のデンプンが未回収で残っている。また、赤道に近い東南アジアでは幹にデンプンを蓄えるサゴヤシがある。この場合も根茎デンプンと同様未回収のデンプンを利用する技術開発が求められる。また、保蔵や流通過程で傷や腐敗を受け価値のなくなった農産物の利用も同様である。

未利用デンプンを使用する場合には、品質的に粗悪な生デンプン、商品となって加工され調味料や油脂等と混煉されたデンプン、煎餅のように焼きあげたデンプンと多種多様なバイオマスが存在するので、高品質の生デンプンを酵素糖化する技術をそのまま利用することは難しい。そのような理由から、利用できる場所は酵素糖化で、難しいところは酸糖化で行く両糖化技術が実用的と考え研究を進めている。一方、強酸性下でよく生育する酵母の研究を進めてきた関係で^{29,30)}、pH2でも高いアルコール生産ができる酸塩耐性のアルコール発酵性酵母をみつけた³¹⁾。この酵母は複数の因子に対して耐性が強いので培養条件などを工夫すると雑菌汚染はまず起こらない。

ブラジルや米国のような大規模生産の報道が伝わると、バイオ燃料の国内生産はとてまかなわないと思込んでしまいが、日本の食文化で世界に誇れる発酵技術でエタノー

ルが造れることを思い起こさなければならない。生活している地域の環境を保全するためには物質循環を活性化させる意識が重要である。また、バイオマスとバイオ燃料を長距離運搬することは経費の無駄である。ある一定の地域圏でバイオマスの生産からバイオ燃料の生産まで一貫して行い、地域で消費するエネルギーは地域で生産したバイオ燃料で少しでも多くまかなう地産地消の概念も加味して総合的な物質循環を目指す考えが必要である。この高い理想を可能にするにはバイオマスの糖化に関する技術がカギと考える。日本応用糖質学会の会員が得意とする分野である。いきなり難しいところに挑戦しなくても、サイクロデキストリン、転化糖、難消化性オリゴ糖、ノンカロリー甘味料、水飴などの製造過程で生まれる副産物や残りものをバイオ燃料に変換する考えも取り入れて、食品産業からエネルギー産業の分野にも拡大していく方向性が出てくることを期待する。

おわりに

最も身近な天然有機化合物である糖は、マス量が多いにも関わらず機能性としてのインパクトが弱い。そのマイナーな点を少しでもカバーしたいとの思いで、多糖類の研究を通じて学んだ経験や知識をまとめた。これまでの研究成果をまとめて報告するまたとない機会が与えられたことに感謝するとともに、日本応用糖質学会の名誉ある学会賞受賞にご推薦いただきました碓氷泰市中部支部長はじめご選考いただきました会員の皆さまに厚くお礼申し上げます。

本研究は、1975年より大阪大学産業科学研究所の (故) 原田篤也教授の研究室で9年間研究してきたこと、その後は三重大学農学部 (現、三重大学大学院生物資源学研究所) に移って20年ほど研究してきたことを中心にまとめた。また、1989-1990年の1年間であったが研究活動の中間点で米国のジョージア大学にある複合糖質研究センター (CCRC: Complex Carbohydrate Research Center) に留学した。所長はピーター・アルバーシャイム教授と彼の愛弟子アラン・ダービル教授が二人三脚で運営している。サクシノグルカンや β -1,2-グルカンの研究ではライバル関係にあったが、手紙でポストドクを伺ってみたら快諾され驚いた。行ったら Fig. 5 に示したキシログルカンのオリゴ糖研究の課題が力試しとばかりに提案され驚きを通り超え、如才なく回避する英語が出てこなく引き受けてしまった。ここで思い出したのが β -1,2-グルカンの分離分析で共同研究をしながら HPLC のノウハウを教えていただいた武庫川女子大学薬学部の (故) 小泉京子教授の言葉である。

「HPLCではよく溶媒を濃度勾配にかけるが糖はだめ。NH₂もいいが ODS はもっとすばらしい。」である。この言葉を信じて GPC (1次分画)、NH₂ (2次分画)、ODS (3次分画) の順番で計画的に仕事をこなした。その結果、1年

後には6個のオリゴ糖をそれぞれ数mg分離し構造解明もできた¹⁸⁾。最低のノルマが1個のオリゴ糖1mgであったので気持ちよく帰国できた。

最後になりましたが、阪大時代では、(故)原田篤也先生、三崎旭先生、雨村明倫先生、室岡義勝先生、(故)小泉京子先生、三重大では、(故)滝基次先生、赤木盛郎先生、山田哲也先生には種々ご指導を賜り心より感謝申し上げます。また、産研時代の原田研究室の皆様、三重大大学の食品化学と食品資源工学の研究室で研究をともにしてきた学生の方々に心からお礼申し上げます。

文 献

- 1) T. Harada, T. Yoshimura, H. Hidaka and A. Koreeda: Production of a new acidic polysaccharide, succinoglucan by *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes*. *Agric. Biol. Chem.*, **29**, 757-762 (1965).
- 2) T. Harada: Succinoglucan 10 C 3: A new acidic polysaccharide of *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes*. *Arch. Biochem. Biophys.*, **112**, 65-69 (1965).
- 3) P.-E. Jansson, L. Kenne and B. Lindberg: Structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*. *Carbohydr. Res.*, **45**, 275-282 (1975).
- 4) P.-E. Jansson, L. Kenne, B. Lindberg, H. Ljunggren, J. Lonngren, U. Ruden and S. Svensson: Demonstration of an octasaccharide repeating unit in the extracellular polysaccharide of *Rhizobium meliloti* by sequential degradation. *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 3812-3815 (1977).
- 5) A. Amemura, K. Mouri and T. Harada: Purification and properties of a specific, inducible β -glucanase, succinoglucan depolymerase from *Flavobacterium*. *Biochim. Biophys. Acta*, **334**, 398-409 (1974).
- 6) J. Abe, A. Amemura and T. Harada: An endo-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucanase of *Flavobacterium* M 64 hydrolyzing the octasaccharide repeating unit of succinoglycan to two tetrasaccharides. *Agric. Biol. Chem.*, **44**, 1877-1884 (1980).
- 7) M. Hisamatsu, J. Abe, A. Amemura and T. Harada: Structural elucidation on succinoglycan and related polysaccharides from *Agrobacterium* and *Rhizobium* by fragmentation with two special β -D-glycanases and methylation analysis. *Agric. Biol. Chem.*, **44**, 1049-1055 (1980).
- 8) T.L. Reuber and G.C. Walker: Biosynthesis of succinoglycan, a symbiotically important exopolysaccharide of *Rhizobium meliloti*. *Cell*, **74**, 269-280 (1993).
- 9) M. Hisamatsu, I. Ott, A. Amemura and T. Harada: Change in ability of *Agrobacterium* to produce water-soluble and water-insoluble β -glucans. *J. Gen. Microbiol.*, **103**, 375-379 (1977).
- 10) M. Hisamatsu, A. Amemura, T. Matsuo, H. Matsuda and T. Harada: Cyclic(1 \rightarrow 2)- β -D-glucan and the octasaccharide repeating-unit of succinoglycan produced by *Agrobacterium*. *J. Gen. Microbiol.*, **128**, 1873-1879 (1982).
- 11) 久松 眞, 雨村明倫, 原田篤也, 小泉京子, 宇多村敏子, 岡田安代: *Agrobacterium* と *Rhizobium* の生産する環状(1 \rightarrow 2)- β -D-グルカン—構造と分子量分布について. *澱粉科学*, **31**, 117-123 (1984).
- 12) M. Hisamatsu: Cyclic(1 \rightarrow 2)- β -D-glucans (cyclophorans) produced by *Agrobacterium* and *Rhizobium* species. *Carbohydr. Res.*, **231**, 137-146 (1992).
- 13) M. Hisamatsu, A. Amemura, K. Koizumi, T. Utamura and Y. Okada: Structural studies on cyclic(1 \rightarrow 2)- β -D-glucans (cyclophorans) produced by *Agrobacterium* and *Rhizobium*. *Carbohydr. Res.*, **121**, 31-40 (1983).
- 14) M. Hisamatsu and T. Yamada: Partially deacetylated chitin as an acid-stable support for enzyme immobilization. *J. Ferment. Bioeng.*, **67**, 219-220 (1989).
- 15) M. Hisamatsu, M. Hirata, K. Teranishi and T. Yamada: Magnetic support from partially deacetylated chitin for enzyme immobilization. *J. Ferment. Bioeng.*, **76**, 342-343 (1993).
- 16) M. Hisamatsu, G. Impallomeni, W.S. York, P. Albersheim and A.G. Darvill: A new undecasaccharide subunit of xyloglucans with two α -L-fucosyl residues. *Carbohydr. Res.*, **211**, 117-129 (1991).
- 17) M. Hisamatsu, W.S. York, A.G. Darvill and P. Albersheim: Characterization of seven xyloglucan oligosaccharides containing from seventeen to twenty glycosyl residues. *Carbohydr. Res.*, **227**, 45-71 (1992).
- 18) 久松 眞, W.S. York: NMR と FAB-MS によるオリゴ糖の構造解析—キシログルカン由来オリゴ糖を中心に—. *化学と生物*, **30**, 649-655 (1992).
- 19) M. Hisamatsu, Y. Miyamoto, S. Koseko, T. Hayano, T. Yamada, K. Nakashima, W. Itoh and K. Tabata: Effects of schizophyllan on regeneration of protoplast cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **57**, 484-485 (1993).
- 20) M. Hisamatsu, M. Hayano, T. Mishima, K. Teranishi and T. Yamada: Effects of degraded schizophyllans on regeneration of protoplast cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **59**, 2307-2308 (1995).
- 21) S. Kitamura: A differential scanning calorimetric study of the conformational transitions of schizophyllan in mixtures of water and dimethylsulfoxide. *Biopolymers*, **28**, 639-654 (1989).
- 22) M. Hisamatsu, T. Mishima, K. Teranishi and T. Yamada: The correlation between adhesion of schizophyllan to yeast glucan and its effect on regeneration of yeast protoplast. *Carbohydr. Res.*, **298**, 117-121 (1997).
- 23) M. Hisamatsu, M. Hirata, A. Sakamoto, K. Teranishi and T. Yamada: Partial hydrolysis of waxy maize amylopectin by isoamylase immobilized on magnetic support. *Starch/Stärke*, **48**, 6-9 (1996).
- 24) T.C. Sunarti, T. Nunome, N. Yoshio and M. Hisamatsu: Study on outer chains released from amylopectin between immobilized and free debranching enzymes. *J. Appl. Glycosci.*, **48**, 1-10 (2001).
- 25) T.C. Sunarti, N. Yoshio and M. Hisamatsu: Direct analysis of chains on outer layer of amylopectin through partial hydrolysis of normal starch by isoamylase. *J. Appl. Glycosci.*, **48**, 123-130 (2001).
- 26) N. Yoshio, Q. Lin, M. Hisamatsu, K. Teranishi, T. Yamada and I. Maeda: Comparative study on amylopectin molecules of Koshihikari and Reiho (*Oryza sativa* L. japonica). *Oyo Toshitsu Kagaku (J. Appl. Glycosci.)*, **44**, 169-173 (1997).
- 27) J. Chen, Y. Nishida and M. Hisamatsu: Structural properties of amylopectins corresponding to physical properties of rice starches appropriate for Sake. *J. Appl. Glycosci.*, **50**, 127-131 (2003).
- 28) J. Chen, M. Watanabe, T. Nakamori and M. Hisamatsu: Relationship between physical properties and amylopectin structure of waxy rice starch. *J. Appl. Glycosci.*, **50**, 133-137 (2003).
- 29) V.A.T. Nguyen, K. Senoo, T. Mishima and M. Hisamatsu: Multiple tolerance of *Rhodotorula glutinis* R-1 to acid, aluminum ion and manganese ion, and its unusual ability of neutralizing acidic medium. *J. Biosci. Bioeng.*, **92**, 366-371 (2001).
- 30) V.A.T. Nguyen, A. Tokuda, T. Mishima, Y. Nishida and M. Hisamatsu: Isolation and identification of new acid-tolerant and starch-degradable yeasts. *J. Appl. Glycosci.*, **49**, 153-157 (2002).
- 31) M. Hisamatsu, T. Furubayashi, S. Karita, T. Mishima and N. Isono: Isolation and identification of a novel yeast fermenting ethanol under acidic conditions. *J. Appl. Glycosci.*, **53**, 111-113 (2006).

各種多糖類の構造, 物性, 機能に関する研究久松 真¹¹三重大学大学院生物資源学研究科

(514-8507 津市栗真町屋町 1577)

グルコース, マンノース, ガラクトース, キシロース, アラビノース, グルコサミンなどの単糖から構成される多糖類の種類はたくさんある. それらの役割を理解することは容易でないが, 微生物や植物などの生理・生態を学ぶことから, 多糖類の役割を推察できることがある. 一般的に, 研究を飛躍的に進展させるには独自の技術, 能力, 発見, ひらめきも必要である. これまでの研究で報告することができた各種多糖類の説明に加え, 新しい事実に遭遇することができた経緯も織り交ぜ多糖類科学の魅力を紹介したい.