

植物・海藻由来多糖類の構造改変による用途開発

(筑波大学生命環境系) 吉田 滋樹

TEL 029-853-6635 FAX 029-853-4605 e-mail yoshida.shigeki.gf@u.tsukuba.ac.jp

多糖類は地球上で最も豊富に存在するバイオマス資源であり、さまざまな形態で多くの生命体に存在するとともに、われわれの身近な生活の中で多種多様な多糖類が利用されている。特に増粘多糖類、あるいはゲル化多糖類と呼ばれるものは、増粘剤、接着剤、ゲル化剤として工業的にも多用されている。本稿では、これら多糖類の構造を酵素的・化学的処理によって改変することで粘度を調整したり、あるいは新規なゲル素材の開発に繋げる研究について、ガラクトマンナンとアルギン酸の例を中心として紹介する。

ガラクトマンナンの酵素的部分加水分解

ガラクトマンナンは、ココナツや豆類の胚乳に存在する多糖類であり、 β -1,4-D-マンノースが直鎖状に結合した主鎖に、 α -1,6-D-ガラクトースが側鎖として結合した構造を有している。主鎖のマンナンそのものは不溶性であり、ガラクトース側鎖の少ないココナツマンナンも不溶性である。一方、ガラクトース側鎖による分岐の頻度が高まると可溶性となり粘性を示す。食品工業ではローカスピーン由来のガラクトマンナンの粘度が広範囲の応用に向いているが市場価格が高く、原価の安いグアーナ由来のもので代替している。

このガラクトマンナンの酵素的粘度調節には、主鎖のマンナンをエンド型に加水分解する β -1,4-マンナナーゼが古くから用いられるが、多糖類の主鎖を切断した場合、急激に粘度が低下する。そこで、側鎖のガラクトースを切断することで粘度調節することが試みられたが、一般的な α -ガラクトシダーゼは、アグリコンの小さいオリゴ糖や配糖体には作用するが多糖類には作用しない。そこで多糖類にも作用する酵素をスクリーニングした結果、糸状菌 *Mortierella vinacea* の生産する α -ガラクトシダーゼ¹⁾が多糖類にも作用し、ガラクトースを遊離することで粘度調節が可能であることが明らかとなった。

アルギン酸分解酵素処理によるアルギン酸のブロック構造の調製

アルギン酸は、昆布やワカメなどの褐藻に含まれる多糖類であり、 β -D-マンヌロン酸(ManA)と α -L-グルロン酸(GulA)の2種のウロン酸から構成された直鎖状多糖である。その構造は図1 (A)に示す様に3種類のブロック構造、ManAだけで構成されたホモマンヌロン酸ブロック、GulAだけで構成されたホモグルロン酸ブロック、そして ManA と GulA がランダムに配列しているヘテロウロン酸ブロックである。アルギン酸は2価の金属イオンと結合してゲルを形成することから、人口イクラの皮膜としてカルシウムゲルが使用され、また医療用でも傷の被覆剤としても使用される。このカルシウムなどの2価イオンによるゲルの形成には、ホモグルロン酸ブロックが大きく関与し、図1 (B)のようなエッグボックス構造を分子内あるいは分子間に形成する。グルロン酸含量がゲルの強度に関与するものの、天然物であるアルギン酸は海藻の種類や産地、採取時期によって含量は大きく変化する。そこでアルギン酸分解酵素を利用して、ホモグルロン酸ブロックの調製方法の確立するための研究を行った。この、ブロックの調製が可能となれば、新たなゲル化剤の開発につながる。そこでまずアルギン酸分解酵素生産菌のスクリーニングを行った。

アルギン酸分解酵素であるアルギン酸リアーゼ（脱離酵素、アルギン酸の加水分解酵素は未だ発見されていない）は、基質特異性に基づいて従来 2 つに分類されており、ホモマンヌロン酸ブロックを優先的に分解する poly(ManA) リアーゼ²⁾、ホモグルロン酸ブロックを優先的に分解する poly(GulA) リアーゼ³⁾である。これらの酵素のうち、Poly(GulA) リアーゼをアルギン酸に作用させることで ホモマンヌロン酸ブロックの調製が可能であった。一方、poly(ManA) リアーゼを作用させても poly(GulA) の調製はできなかった。その理由は Poly(ManA) リアーゼは基質特異性が高く、ヘテロウロン酸ブロックを分解しないためであった。

この問題を解決するために、今までの分類に当てはまらないヘテロウロン酸ブロックを優先的に分解する poly(ManA/GulA) リアーゼが存在しないのかスクリーニングを行った。その結果、ヘテロウロン酸ブロックに優先的に作用する poly(ManA/GulA) リアーゼ生産菌 *Streptomyces violaceoruber* を見出した（未発表）。同菌は poly(GulA) リアーゼと poly(ManA/GulA) リアーゼを生産するため、酵素の精製を行いアルギン酸に作用させた結果、ヘテロウロン酸ブロックのみを分解するため、ホモグルロン酸ブロックとホモマンヌロン酸ブロックが生成する。これらの酸性溶液での溶解性の差を利用することで 2 つのブロックの調製が同時に可能となった。

現在、デキストランやヒアルロン酸などの水溶性多糖類や PEG などの水溶性ポリマーを骨格として調製したホモグルロン酸ブロックを結合させることで、カルシウムでゲル化氏し、かつゲルのポアサイズ（透過性）などを制御できる素材の開発を行なっている。

。

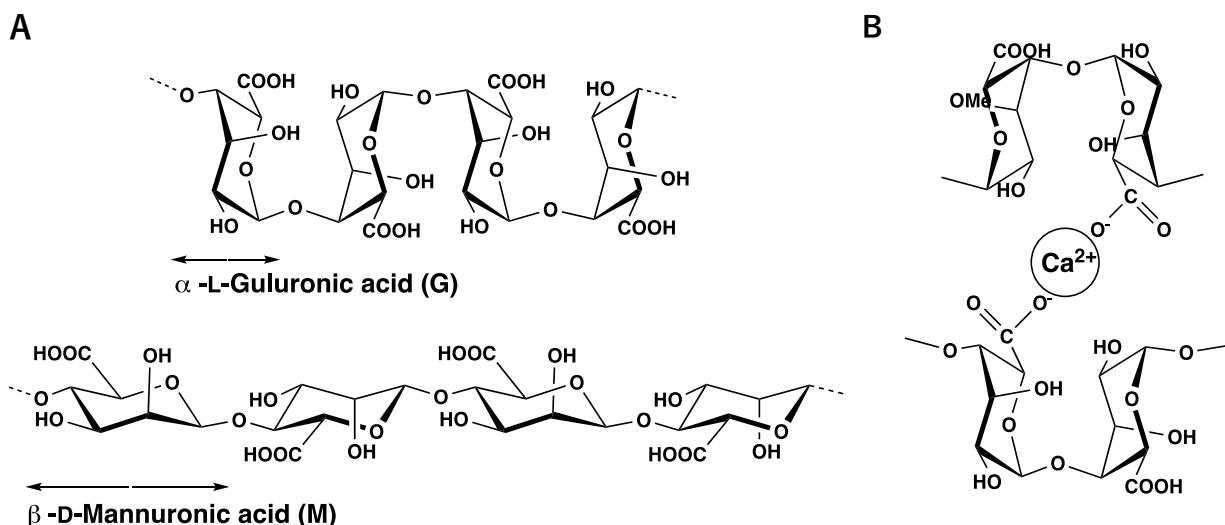


図 1. アルギン酸の部分構造 (A) とカルシウムゲルのエッグボックス構造 (B)

参考文献

- 1) Shibuya, H. et al., Purification and characterization, and cDNA cloning of a novel α -galactosidase from *Mortierella vinacea*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **61**, 592 (1997).
- 2) Shimokawa, S. et al., Purification and characterization of extracellular poly(β -D-1,4-mannuronide) lyase from *Dendryphiella salina* IF0 32139. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **61**, 636 (1997).
- 3) Shimokawa, T. et al., Some properties and action mode of (1 \rightarrow 4)- α -L-guluronan lyase from *Enterobacter cloacae* M-1. *Carbohydr. Res.* **304**, 125 (1997).