

## セルロース系糖質の生理作用と酵素による誘導體化

京都大学 木質科学研究所  
バイオマス変換研究分野 渡辺隆司

樹木は、大気中の炭酸ガス、根などから吸収した水やミネラルなどを原料にし、太陽の光エネルギーを使って、多糖類やリグニンなど多種類の物質を作ることができる。樹木が生産するこれらの物質のうち、セルロースはグルコースが直鎖状に $\beta$ -1,4-結合した多糖類であり、その生産量は地球上で生産される全合成ポリマーの総量より多い。しかし、構造多糖であるセルロースを利用する試みは、ポリマーとしての特性を利用するものと、加水分解後にアルコール発酵してエネルギーに変換するものが中心であり、 $\beta$ -1,4-結合の特質を活かしたオリゴマーレベルの利用法は少ない。

本研究では、難消化性オリゴ糖としてのセロビオースの機能特性に着目し、セロビオースの連続生産とその生理作用を明らかにするとともに、森林から得られるセルロース系糖質の変換に有用な酵素反応を紹介する。

### 1. セロビオースの生理特性

食物として摂取したセルロース系オリゴ糖は、唾液、胃液、膵液、小腸の膜消化酵素による分解をほとんど受けずに大腸に達し、大腸の腸内細菌の働きによって部分的に短鎖脂肪酸、炭酸ガス、水素等に代謝されることが予想される。このことから、セルロース系オリゴ糖には、インスリン分泌節約効果、大腸や小腸の粘膜上皮細胞の活性化作用などが期待されるが、その生理作用は十分検討されていない。この原因の一つとして、経済性の高いセルロースの部分分解法が確立されていないことが挙げられる。そこで本研究では、不均一反応に専用設計したバイオリクターを用いてセルロースを部分加水分解し、生産されたセロビオースのラットおよびヒトに対する生理作用を検討した。

#### 1.1 バイオリクターによるセロビオースの連続生産

セルロースの部分加水分解に関しては、これまで数多くの方法が報告されている。しかしながら、セルロースの難分解性が障害となり大規模プラントによる連続生産は行われていない。本研究では、不均一反応を定常状態で進め、なおかつ低分子分解物を速やかに反応系外へ除くため、ポリスルホン製限外濾過

膜、遠心分離器、濾過装置付反応層を備えた膜分離型バイオリアクターを専用設計し、 $\beta$ -グルコシダーゼ活性の低い*Trichoderma*属起源のセルラーゼを用いて、サルファイトパルプからセロピオースを連続的に生産した。生成したセロピオースは有機溶媒のみにより結晶化した。

## 1.2 ラットに対する生理機能

バイオリアクターで生産したセロピオースの消化性を、*in vitro* で調べた。その結果、セロピオースは唾液、人工胃液、膵液によって分解されないが、ラット小腸粘膜酵素によって部分的に分解されることが明らかになった。そこで、次にラットによる耐糖能試験を行った。即ち、生後8週齢のSD系雄性ラットを16時間絶食後、Kg体重あたり1.5gの糖を経口投与し、投与後経時的に無麻酔下に外頸静脈より採血し、血糖値ならびにインスリンを測定した。その結果、セロピオースを経口投与すると、消化性オリゴ糖より値は低いものの、血糖値の増加が認められた。また、セロピオースを投与した場合、血糖値の増大値に比べ、インスリンの増大値が低いことが明らかとなった。

一方、セロピオースのラット盲腸内容物による発酵性試験を行ったところ、セロピオースは酪酸を主生成物として生産し、その値はマルチトールより高いことが明らかとなった。酪酸は、全身のエネルギープールに入る前に腸粘膜のエネルギー源として利用されることが示されている。このことから、腸内細菌による発酵生成物として酪酸を多量に生成するセロピオースは、腸粘膜の新陳代謝に有効であることが示唆された。<sup>1)</sup>

## 1.3 ヒトに対する生理機能

セロピオース50gを12時間絶食した成人男子および女子に対して経口投与した。その結果、ヒトに対する経口投与ではラットの場合と異なり血糖値およびインスリンの増加が全く認めらず、セロピオースは難消化性オリゴ糖として優れた性質を持つことが明らかとなった。耐糖能試験におけるヒトとラットの顕著な違いは、小腸粘膜におけるセロピオース加水分解活性の違いに基づくものと予想され、哺乳類の食性とも密接に関係しているものと思われる。

## 2. デンプンとセルロースの構造を合わせ持つオリゴ糖の酵素合成

セルロースが加水分解されにくい構造多糖であるのに対し、デンプンは分解されることを前提とする貯蔵性多糖である。この2つの多糖類は、同じグル

コースから作られているが、結合様式の違いによりその性質は大きく異なり、これまで全く別の用途に用いられてきた。本研究では、両者の特長を合わせ持つ糖鎖生み出すことを目的として、シクロデキストリングルカノトランスフェラーゼ (CGTase) をデンプンとセロビオースに反応させることにより分子内に  $\alpha$ -1,4-グルコシド結合と  $\beta$ -1,4-グルコシド結合を合わせ持つオリゴ糖を合成した。合成に使用したCGTaseは *Bacillus macerans* 由来のものと、温泉などの熱源から新たに分離した *B. searothermophilus* SOP-152株由来のものを使用した。合成されたオリゴ糖はさわやかな甘味を持ち、セロオリゴ糖に比べ水に対する溶解性が高い。本オリゴ糖は、食品分野のみでなく機能性高分子の合成前駆体など化学分野への応用も可能であると考えられる。

### 3. グリコシダーゼの糖転移反応

グリコシダーゼは糖鎖のグリコシド結合をエキソ型に加水分解して単糖を生成する酵素であるが、酵素反応時に生成する酵素-基質複合体に水ではなく、受容体となる糖やアルコールの水酸基が結合することにより糖転移反応を触媒するものがある。ここでは、アフィニティークロマトグラフィーによって精製した *Aspergillus niger*  $\beta$ -グルコシダーゼのセロビオースへの糖転移反応の反応性を示すとともに、<sup>2)</sup> 不老長寿の薬として名高い冬虫夏草からも糖転移活性を持つグリコシダーゼ生産菌をスクリーニングしたので紹介する。

### 4. リパーゼおよびプロテアーゼのエステル交換反応を利用した糖エステルの合成

糖エステルは、界面活性剤、生理活性配糖体、重合性単量体、食品添加剤として脚光を浴びている。リパーゼおよびプロテアーゼは脂肪酸エステルと蛋白質を加水分解する酵素であるが、エステル合成反応も触媒する。本研究では、動物、植物、微生物起源の様々なリパーゼおよびプロテアーゼを酢酸ビニル、トリクロロエチルプロピオネート、安息香酸ビニルとピリジン中で反応させて、転移活性の高い酵素を選別した。次に、選択した酵素を用いて、グルコースを23種類のアシル供与体と反応させ、酵素の基質特異性を考察した。本研究の結果、重合性単量体である6-0-メタクリロイルグルコースを酵素反応によって収率83%で合成した<sup>1)</sup>

- 1) T. Watanabe *et al.*, *Proc. '94 Cellulose R & D*, 81-86 (1994).
- 2) T. Watanabe *et al.*, *Eur. J. Biochem.*, 209, 651-659 (1992).
- 3) T. Watanabe *et al.*, *Carbohydr. Res.*, in press (1995).