<総 説>

(受理：平成 29 年 3 月 13 日)

アミロース-ポリ乳酸包接超分子ポリマーの化学-酵素合成 Chemo-Enzymatic Synthesis of Amylose-Poly lactide Inclusion Supramolecular Polymers

田中 知成*・門川 淳一**

Tomonari TANAKA, Jun-ichi KADOKAWA

1. はじめに

酵素を触媒とするグリコシル化反応は、温和な条件下で位置および立体選択的にグリコシド結合を構築できる非常に有用な合成法である。グリコシド結合の形成に用いられる酵素は主に、糖転移酵素（トランスフェラーゼ）、加水分解酵素（グリコシダーゼ）、加リン酸分解酵素（ホスホリラーゼ）に大別される¹⁻⁶⁾。ホスホリラーゼは、無機リン酸存在下、糖鎖の非還元末端側のグリコシド結合を加リン酸分解し、単糖の 1-リン酸エステルと重合度のひとつ小さい糖鎖を生成する反応を触媒する酵素である⁷⁾。種々のホスホリラーゼの中で α -グルカンホスホリラーゼ (E.C. 2.4.1.1, グリコーゲンホスホリラーゼあるいはスターチホスホリラーゼとも呼ばれる。以降、単にホスホリラーゼと記す。) は、動植物や微生物中に広く存在し、最も研究されているもののひとつである。本酵素は、無機リン酸存在下、グリコーゲンやデンプンなどの α -1,4-グルカン非還元末端側から加リン酸分解し、 α -D-グルコース 1-リン酸 (G-1-P) を生成する反応を触媒する (スキーム 1a)。生成するリン酸エステルの結合エネルギーがグリコシド結合のエネルギーと同等であるため、この反応は可逆的であり、逆反応のグリコシル化反応もホスホリラーゼ

によって触媒される (スキーム 1b)。すなわち、G-1-P がグリコシル供与体となり、グリコシル受容体の非還元末端に位置および立体選択的にグルコースが転移する。本グリコシル化反応の位置および立体特異性は極めて厳密であるため、ホスホリラーゼを触媒としたグリコシル化反応は構造明確なオリゴ糖および多糖合成において非常に重要な合成法である。グリコシル受容体に対して過剰の G-1-P 存在下においては、グリコシル受容体の非還元末端へのグルコースの転移反応が連続的に進行することでホスホリラーゼによる酵素触媒重合反応となり、グルコースが α -1,4 結合でつながった多糖であるアミロースが生成する⁸⁻¹⁰⁾。

田 中 知 成

略歴：2009年 東北大学大学院工学研究科バイオ工学専攻博士後期課程修了。2009年-2010年 日本学術振興会特別研究員。2010年 京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科助教。この間、2015年6月から1年間、オックスフォード大学化学科客員研究員。博士（工学）
専門：合成化学，高分子化学，糖鎖工学

門 川 淳 一

略歴：1992年 東北大学大学院工学研究科材料化学専攻博士後期課程修了。1992年 山形大学工学部助手，1999年 山形大学工学部助教授，2002年 東北大学大学院工学研究科助教授，2004年 鹿児島大学大学院理工学研究科教授。この間、1996年-1997年 マックスプランク高分子研究所客員研究員。博士（工学）
専門：多糖化学，高分子集合体

* 京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科

京都市左京区松ヶ崎橋上町 1 番地 〒 606-8585

Department of Biobased Materials Science, Graduate School of Science and Technology, Kyoto Institute of Technology Matsugashikamicho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8585, Japan

** 鹿児島大学大学院理工学研究科

鹿児島市郡元 1-21-40 〒 890-0065

Department of Chemistry, Biotechnology and Chemical Engineering, Graduate School of Science and Engineering, Kagoshima University 1-21-40, Korimoto, Kagoshima 860-0065, Japan

スキーム 1 ホスホリラーゼによる (a) 加リン酸分解と (b) グリコシル化

図 1 つる巻き重合によるアミロース包接錯体の合成

これにより得られるアミロースの分子量分布は狭く、分子量は G-1-P とグリコシル受容体の仕込比によってある程度制御できる¹¹⁾。アミロースは、自然界でエネルギー貯蔵物質として働くデンプンの一成分であるが、もう一つの成分であるアミロペクチンとの完全な分離は困難であることから、この酵素触媒重合は純粋なアミロースを得る有力な手法である。

アミロースはらせん状多糖であり、らせん内部の疎水性空間に比較的低分子量の疎水性化合物を包接することが知

られている。しかし、アミロースによる高分子化合物の包接は、疎水性相互作用のみがドライビングフォースであるため非常に困難であり、その報告例は多くない^{12~22)}。著者らは、ホスホリラーゼを触媒とするアミロースの酵素合成反応において、疎水性高分子（ゲストポリマー）を共存させると、グリコシル受容体であるマルトオリゴ糖の非還元末端から伸長するアミロース鎖がゲストポリマーに巻きつき、アミロースのらせん内部にゲストポリマーが取り込まれた包接錯体が生成することを報告した（図 1）。この

ホスホリラーゼを触媒、G-1-P をモノマー、マルトヘプタオース (G_7) をプライマーとする酵素触媒重合反応は、植物のつるが棒に巻きつくさまに似ていることから、“つる巻き重合”と名付けた^{23,24)}。本反応において、ポリテトラヒドロフラン (PTHF) などのポリエーテル、ポリ (δ -バレロラクトン) (PVL) やポリ (ϵ -カプロラクトン) (PCL)、ポリグリコール酸と PCL の共重合体 (P(GA-co-CL)) などのポリエステル、ポリテトラメチレンカーボネートなど、さまざまなゲストポリマーをアミロースらせん内部に包接することができることを報告し、アミロースによる高分子の包接を架橋点として利用したマテリアル開発へと展開した^{25~36)}。同様にポリ-L-乳酸 (PLLA) をゲストポリマーとした場合にはアミロース-PLLA 包接錯体が生成するが、ポリ-D-乳酸 (PDLA) およびポリ-DL-乳酸 (PDLLA) の場合には包接錯体は生成しなかった³⁷⁾。これは、アミロースのらせん内部の疎水性空間がゲストポリマーであるポリ乳酸のキラリティを認識したことを意味している。

これらの知見を基に、著者らは近年、つる巻き重合におけるゲストポリマーの末端にプライマーの G_7 を結合したプライマー-ゲストポリマー複合体を化学合成し、これを用いてつる巻き重合を行うと、アミロースとゲストポリマーから構成される新奇な高分子の集合体 (超分子ポリマー) が合成できることを見いだした。本総説では、PLLA の末端に G_7 を有するプライマー-ゲストポリマー複合体の化学合成と、これらを用いたつる巻き重合によるアミロース-PLLA 包接超分子ポリマーの合成、および得られた超分子ポリマーのマテリアル化について概説する。

2. 新奇アミロース-ポリ乳酸包接超分子ポリマーの合成

つる巻き重合によるアミロース包接錯体の合成に基づい

て、ゲストポリマーの末端にプライマーの G_7 を結合したプライマー-ゲストポリマー複合体を用いてつる巻き重合を行えば、 G_7 から伸長するアミロース鎖が他のプライマー-ゲストポリマー複合体分子のポリマー鎖部分を包接し、さらに包接されたゲストポリマー末端の G_7 からアミロース鎖が伸長して別の分子のポリマー鎖部分を包接することが繰り返されることで、アミロースと合成高分子からなる新奇な包接超分子ポリマーを合成することができると考えた。そこで、無保護の G_7 を原料として 2-クロロ-1,3-ジメチルイミダゾリニウムクロリド (DMC) を用いるアノマー位の直接アジド化反応によって β -マルトヘプタオシルアジド (G_7-N_3) を合成した後、末端にアルキン基を有する PLLA ($M_n(PLLA) = 2.1 \times 10^3$, 1H NMR による算出) との銅 (I) 触媒によるアジド-アルキン環化付加反応 (CuAAC) に供することで、PLLA の末端に G_7 を有するプライマー-ゲストポリマー複合体 (G_7 -PLLA) を得た (スキーム 2)³⁸⁾。合成した G_7 -PLLA を酢酸ナトリウム緩衝液 (0.2 M, pH 6.2) に分散させ、G-1-P および *Aquifex aeolicus* VF5 由来ホスホリラーゼ存在下、40–45°C で 48 時間激しく攪拌して、つる巻き重合を行った (図 2)³⁹⁾。反応終了後、ろ過により回収した固体を、水、アセトン、クロロホルムで洗浄して未反応原料などを除去した後、減圧下、室温で乾燥することで白色固体が得られた。得られた生成物は、ジメチルスルホキシド (DMSO) のみにわずかに溶解したのに対して、 G_7 と PLLA を用いた既往のつる巻き重合により得られた包接錯体は DMSO に可溶であったことから、 G_7 -PLLA を用いたつる巻き重合による生成物は、従来のつる巻き重合生成物である包接錯体とは明らかに DMSO への溶解性が異なるものであり、より大きな分子量の化合物であることが推測された。生成物の XRD パターンは、 $2\theta = 12^\circ$ と 19° にブロードな回折ピークが観測された (図 3a)。これらの回折ピークはアミロー

スキーム 2 G_7 -PLLA の合成

図2 つる巻き重合によるアミロース-PLLA 包接超分子ポリマーの合成³⁹⁾ 図3 (a) G_7 -PLLA, (b) G_7 と PLLA (G_7 /PLLA=1/15), (c) G_7 と PLLA (G_7 /PLLA=1/1) を用いたつる巻き重合生成物, および (d) アミロース, (e) G_7 -PLLA, (f) PLLA の XRD パターン³⁹⁾

ス, G_7 -PLLA, PLLA とは異なり, G_7 と PLLA を用いた既往のつる巻き重合 (G_7 /PLLA=1/15 (mol/mol)) による包接錯体生成物の回折ピークと一致した (図 3b, d-f)。さらに, ^1H NMR スペクトルでは, 5.1 ppm と 3.6–3.2 ppm にアミロース, 5.2 ppm と 1.5 ppm に PLLA のシグナルが観測された (図 4)。また, 生成物のアミロース部分のヒドロキシ基をアセチル化して GPC 分析を行ったところ, M_n は 5.4×10^5 (スタンダード: ポリスチレン) であり, 原料の G_7 -PLLA に比べて分子量が大きく増大していることを確認した⁴⁰⁾。G-1-P の G_7 -PLLA に対する原料仕込モル比 G-1-P/ G_7 -PLLA を 250/1 とした場合, 生成物中のアミロース部分の重合度は約 100 であり, G-1-P/ G_7 -PLLA を 1000/1 まで増加しても変化しなかった。一方, G_7 プライマーと PLLA ゲストポリマーを用いた既往のつる巻き重合の場合, G-1-P/PLLA の増加とともに生成物中のアミロース部分の重合度は増加した。 G_7 -PLLA を用いた場合には, アミロース鎖の伸長が PLLA 末端の G_7 によって停止するためと考えられる。これらの結果から, G_7 -PLLA を用いたつる巻き重合によって, アミロ-

スによる PLLA の包接が連続的に繰り返された構造 (図 2) から成る新奇なアミロース-PLLA 包接超分子ポリマーの合成を確認した。

通常, G_7 プライマーと PLLA ゲストポリマーを用いた既往のつる巻き重合による包接錯体合成では, G_7 に対して過剰量 (15 倍モル以上) の PLLA を必要とする。 G_7 と PLLA の原料仕込モル比が等量の場合には, 包接錯体の生成を示す回折ピークは観測されず, アミロースの回折ピークのみが観測される (図 3c)。 G_7 -PLLA を用いたつる巻き重合においては, ゲストポリマーとなる PLLA の末端に G_7 が結合して一分子となっているため, G_7 と PLLA のモル比は等量であり, PLLA が過剰に存在しないにもかかわらず, アミロースによる PLLA の包接が確認された。動的光散乱法により水中で G_7 -PLLA を分析したところ, 50–110 nm の凝集体の存在が確認された。水中において G_7 -PLLA は, 疎水性の PLLA がコア, 親水性の G_7 がシェルを形成して凝集していると考えられる。この水中での G_7 -PLLA の凝集体形成により, G_7 周辺の PLLA 濃度が局所的に高くなり, G_7 に対する PLLA の原料モル

図4 G₇-PLLA を用いたつる巻き重合生成物の ¹H NMR スペクトル (DMSO-*d*₆)³⁹⁾

比が過剰ではないにもかかわらず、G₇-PLLA を用いたつる巻き重合においてアミロースによる PLLA の包接が進行し、前述のアミロース-PLLA 包接超分子ポリマーが合成できたと考えられる。

つる巻き重合による超分子ポリマーの合成において、ゲストポリマー部分を PTHF に替えたプライマー-ゲストポリマー複合体 G₇-PTHF ($M_{n(\text{PTHF})} = 1.6 \times 10^3$, ¹H NMR による算出) を合成して用いた場合には、G₇-PLLA の場合と同様に、アミロースと PTHF から成るアミロース-PTHF 包接超分子ポリマーが得られた⁴¹⁾。

3. アミロースによるポリ乳酸包接挙動の解明

ポリ乳酸をゲストポリマーとした既往のつる巻き重合において、PLL A を用いた場合には包接錯体が生成するが、PDLA および PDLLA の場合には包接錯体は生成しない³⁷⁾。これはアミロースのらせん内部構造がポリ乳酸のキラリティを識別可能であることを示唆しており、アミロースと PLLA のらせん構造がともに左巻きらせん構造であるためと考察される。しかし、アミロースによるポリ乳酸の包接において、互いの分子鎖方向と包接の関係を示す知見はこれまでなかった。ホスホリラーゼを触媒とするアミロースの酵素合成において、アミロース鎖は還元末端側から非還元末端側に伸長する。その際、包接される PLLA の分子鎖はカルボキシ基末端がアミロースの非還元末端側に来る場合と、逆に、PLL A のヒドロキシ基末端がアミロース

の非還元末端側に来る場合の2通りが考えられる。アミロースによるポリ乳酸の包接において、伸長するアミロース鎖とゲストポリマーであるポリ乳酸の分子鎖方向の関係を明らかにすることを目的として、4種類のプライマー-ポリ乳酸複合体を用いてつる巻き重合を行い、その生成物を解析した⁴²⁾。先に合成した PLLA のカルボキシ基末端に G₇ を結合した G₇-PLL A の他に、PLL A のヒドロキシ基末端に G₇ を結合した PLLA-G₇、PDLA のカルボキシ基末端およびヒドロキシ基末端に G₇ を結合した G₇-PDLA、PDLA-G₇ をそれぞれ化学合成し、つる巻き重合のプライマー-ゲストポリマー複合体とした。G₇-PDLA ($M_{n(\text{PDLA})} = 2.1 \times 10^3$, ¹H NMR による算出) はカルボキシ基末端にアルキンを有する PDLA と G₇-N₃ を CuAAC に供することで、G₇-PLL A と同様の方法で合成した。一方、ポリ乳酸のヒドロキシ基末端に G₇ を有する PLLA-G₇ ($M_{n(\text{PLL A})} = 1.9 \times 10^3$, ¹H NMR による算出) と PDLA-G₇ ($M_{n(\text{PDLA})} = 1.9 \times 10^3$, ¹H NMR による算出) は、メタノールを開始剤としたラクチドの開環重合により得た MeO-PLL A および MeO-PDLA を N,N'-カルボニルジイミダゾールと反応することでポリ乳酸のヒドロキシ基末端を活性エステル化、続いて、N-プロパルギルアミンを作用させてプロパルギルアミド化した後、G₇-N₃ との CuAAC に供することで合成した(スキーム3)。

合成した4種類のプライマー-ゲストポリマー複合体(G₇-PLL A, PLLA-G₇, G₇-PDLA, PDLA-G₇)を用

スキーム 3 PLLA-G₇ と PDLA-G₇ の合成 図 5 G₇-ポリ乳酸複合体を用いたホスホリラーゼによる酵素重合反応⁴²⁾

いて、つる巻き重合条件下にてホスホリラーゼを触媒とする反応を行った (図 5)。PLLA-G₇ を用いた場合には、G₇-PLLA のときと同様に $2\theta = 12^\circ$ と 19° にブロードな XRD 回折ピークが観測され、¹H NMR スペクトルでもアミロースと PLLA のシグナルが確認されたため、包接超分子ポリマーの生成が示唆された。一方、G₇-PDLA ま

たは PDLA-G₇ を用いた場合には、アミロースによる包接の形成に由来する回折ピークは観測されず、アミロースのみに由来する回折ピークが観測された。¹H NMR スペクトルでは、G₇-PDLA および PDLA-G₇ いずれの場合にもアミロースと PDLA のシグナルが確認されたため、PDLA 末端の G₇ からアミロース鎖の伸長は進行したもの

の、PDLA 鎖を包接していないことが示唆された。また、各生成物の DMSO 可溶部、およびそれらを 1 M NaOH 水溶液で処理することでポリ乳酸部分を加水分解して得られたアミロース部分を GPC 分析した。 G_7 -PLLA および PLLA- G_7 から得られた生成物の場合には、NaOH 水溶液処理後の分子量が大きく低下したのに対して (G_7 -PLLA: $M_n=1.6 \times 10^5 \rightarrow 2.5 \times 10^4$, PLLA- G_7 : $M_n=1.2 \times 10^5 \rightarrow 2.8 \times 10^4$), G_7 -PDLA および PDLA- G_7 の場合には、分子量の低下はわずかであった (G_7 -PDLA: $M_n=4.7 \times 10^4 \rightarrow 4.1 \times 10^4$, PDLA- G_7 : $M_n=6.6 \times 10^4 \rightarrow 5.8 \times 10^4$)。これらの結果からも、 G_7 -PLLA および PLLA- G_7 の場合には伸長するアミロース鎖による PLLA の包接が進行して包接超分子ポリマーが生成する一方、 G_7 -PDLA および PDLA- G_7 の場合にはアミロース鎖が伸長するのみで、PDLA 鎖を包接しないことが示唆された。以上の結果より、ホスホリラーゼを触媒とするアミロースの酵素合成反応場において、アミロースは PLLA を包接するが PDLA は包接しない、即ち、ポリ乳酸のキラリティを識別可能であること、さらに PLLA を包接するときには、PLLA の分子鎖方向は影響せず、PLLA のどちらの分子鎖方向からもアミロースが PLLA を包接可能なことが明らかとなった。

4. ハイパーブランチ型アミロース-ポリ乳酸包接超分子ポリマーの合成

G_7 -PLLA を用いたつる巻き重合によって直鎖状のアミロース-PLLA 包接超分子ポリマーが得られたことを基に、

分子内に 2 つの PLLA 鎖を有するプライマー-PLLA 複合体を用いてつる巻き重合を行えば、伸長したアミロースによる PLLA の包接がネットワーク状に進行し、ハイパーブランチ型の包接超分子ポリマーが合成できると考えた。5-ヒドロキシメチル-2,2,5-トリメチル-1,3-ジオキサンから 2 工程で合成した 2 つのヒドロキシ基を有する 2,2-ビス (ヒドロキシメチル)-1-(2-プロピン-1-イルオキシ) プロパンを開始剤とした L-ラクチドの開環重合により、1 つの末端アルキン基を有する二分岐 PLLA を合成した後、 G_7 -N₃ との CuAAC に供することで、分子内に 2 つの PLLA 鎖を有するプライマー-ゲストポリマー複合体 (G_7 -PLLA₂) を合成した ($M_{n(PLLA)}=2.0 \times 10^3$, ¹H NMR による算出) (スキーム 4)。合成した G_7 -PLLA₂ を用いてつる巻き重合を行った (図 6)⁴³⁾。 G_7 -1-P/ G_7 -PLLA₂ の原料仕込モル比を 50/1 とした場合、得られた生成物の XRD パターンは、 $2\theta=12^\circ$ と 19° にブロードな回折ピークが観測され、 G_7 と PLLA を用いた既往のつる巻き重合による包接錯体生成物、および G_7 -PLLA を用いたつる巻き重合による直鎖状の包接超分子ポリマーの回折パターンと一致した。また、¹H NMR スペクトルでもアミロースと PLLA のシグナルが確認された。これらの結果より、 G_7 -PLLA₂ を用いたつる巻き重合によって、 G_7 から伸長したアミロース鎖による PLLA 鎖の包接がネットワーク状に広がったハイパーブランチ型のアミロース-PLLA 包接超分子ポリマーが合成できたことを確認した。一方、 G_7 -1-P/ G_7 -PLLA₂ の原料仕込モル比を 250/1 とした場合、

スキーム 4 G_7 -PLLA₂ の合成

図6 つる巻き重合によるハイパーブランチ型アミロース-PLLA 包接超分子ポリマーの合成とゲル作製⁴³⁾

アミロースによる PLLA の包接を示す回折ピークに加えて、アミロースのみに由来する回折ピークもわずかに観測されたため、G-1-P 過剰の条件下では、PLLA 鎖を包接していないアミロース鎖が一部存在するハイパーブランチ型超分子ポリマーが生成することが明らかとなった。

$G_7\text{-PLLA}_2$ をプライマー-ゲストポリマー複合体として用いたつる巻き重合により得られたハイパーブランチ型アミロース-PLLA 包接超分子ポリマーは、アミロースを溶解するイオン液体 1-ブチル-3-メチルイミダゾリウムクロリド (BMIMCl) と 60℃で混合して溶解した後、室温にするとイオンゲルを形成した (図6)。 $G_7\text{-PLLA}$ から得られた直鎖状のアミロース-PLLA 包接超分子ポリマーは、BMIMCl と混合してもイオンゲルは得られなかったことから、ハイパーブランチ型超分子ポリマーのネットワーク構造がイオンゲルの形成に寄与していることが示唆された。さらに、得られたイオンゲルを水に浸して溶媒を水へと置換することで、ハイドロゲルが得られた。これらのイオンゲルおよびハイドロゲルの動的粘弾性を測定すると、いずれの場合においても貯蔵弾性率 (G') は損失弾性率 (G'') よりも高い値を示したことから、ゲルの形成が確認できた。さらに、得られたハイドロゲルを凍結乾燥することで、クライオゲルが作製できた。以上の結果より、 $G_7\text{-PLLA}_2$ を用いたつる巻き重合によって、アミロースによる PLLA の包接を利用したネットワーク構造を構築することができ、イオンゲル、ハイドロゲル、クライオゲルを形成するハイパーブランチ型アミロース-PLLA 包接超分子ポリマーが創製できた。

5. おわりに

本総説では、ホスホリラーゼを触媒としたつる巻き重合

によるアミロース包接化合物の合成において、プライマーの G_7 をゲストポリマー末端に結合したプライマー-ゲストポリマー複合体を用いた新奇的なアミロース包接超分子ポリマーの合成と、そのゲル形成について概説した。このようなアミロースによる高分子の包接を基盤とした超分子ポリマーの合成はこれまでに例が無く、化学合成と酵素合成を組み合わせることによって創製された新しい化合物である。これら一連の研究は、プライマー-ゲストポリマー複合体を自在に設計できる有機合成化学と、ホスホリラーゼを触媒とするアミロースの酵素合成を巧みに組み合わせることで達成された。エネルギー多糖であるアミロースは力学的に脆弱なため、セルロースなどの構造多糖と比べてマテリアルとしての利用は限られているのが現状である。本手法は、アミロースとポリ乳酸の融合に留まらず、他の疎水性ポリマーへの適用も可能であるため、アミロースのらせん内部にさまざまな高分子鎖を包接させることでアミロースの物性に与える影響を理解するとともに、より有用なアミロース包接超分子マテリアルの創製へと発展させることによって、アミロースのマテリアルとしての利用価値が高まることが期待される。また、有機合成化学と酵素工学を効果的に組み合わせた化学-酵素合成法が、高分子化学をはじめとするさまざまな研究分野において幅広く利用され、新規マテリアルの創製や新規合成法の開発へとつながることを強く望む。

謝辞

本研究は、科学研究費助成事業、泉科学技術振興財団研究助成、マツダ財団マツダ研究助成の支援を受けて実施したものであり、ここに感謝の意を表す。また、ホスホリラーゼは江崎グリコ株式会社からご提供いただいた。謝意を表す。

文 献

- 1) S. Shoda, H. Uyama, J. Kadokawa, S. Kimura, S. Kobayashi, *Chem. Rev.*, **116**, 2307 (2016).
- 2) J. Seibel, H.-J. Jördening, K. Buchholz, *Biocat. Biotrans.*, **24**, 311 (2006).
- 3) T. Murata, T. Usui, *Trends Glycosci. Glycotechnol.*, **12**, 161 (2000).
- 4) S. Shoda, "Enzymatic glycosylation" in *Glycoscience*, Vol. II, p.1465, Springer, New York (2001).
- 5) J. Thiem, "Enzymatic glycosylation by hydrolases" in *Glycoscience*, Vol. II, p. 1387, Springer, New York (2008).
- 6) P. Bojarová, V. Křen, *Trends Biotechnol.*, **27**, 199 (2009).
- 7) M. Kitaoka, K. Hayashi, *Trends Glycosci. Glycotechnol.*, **14**, 35 (2002).
- 8) M. Yanase, T. Takaha, T. Kuriki, *J. Sci. Food Agric.*, **86**, 1631 (2006).
- 9) G. Ziegast, B. Pfannemüller, *Carbohydr. Res.*, **160**, 185 (1987).
- 10) K. Fujii, H. Takata, M. Yanase, Y. Terada, K. Ohdan, T. Takaha, S. Okada, T. Kuriki, *Biocat. Biotrans.*, **21**, 167 (2003).
- 11) H. Takata, T. Takaha, S. Okada, M. Takagi, T. Imanaka, *J. Ferment. Bioeng.*, **85**, 156 (1998).
- 12) R. L. Shogren, R. V. Greene, Y. V. Wu, *J. Appl. Polym. Sci.*, **42**, 1701 (1991).
- 13) R. L. Shogren, *Carbohydr. Polym.*, **22**, 93 (1993).
- 14) A. Star, D. W. Steuerman, J. R. Heath, J. F. Stoddart, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **41**, 2508 (2002).
- 15) M. Ikeda, Y. Furusho, K. Okoshi, S. Tanahara, K. Maeda, S. Nishino, T. Mori, E. Yashima, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 6491 (2006).
- 16) T. Kida, T. Minabe, S. Okabe, M. Akashi, *Chem. Commun.*, 1559 (2007).
- 17) Y. Kaneko, T. Kyutoku, N. Shimomura, J. Kadokawa, *Chem. Lett.*, **40**, 31 (2011).
- 18) R. Rachmawati, A. J. J. Woortman, K. Loos, *Biomacromolecules*, **14**, 575 (2013).
- 19) K. Kumar, A. J. J. Woortman, K. Loos, *Biomacromolecules*, **14**, 1955 (2013).
- 20) R. Rachmawati, A. J. J. Woortman, K. Loos, *Macromol. Biosci.*, **13**, 767 (2013).
- 21) R. Rachmawati, A. J. J. Woortman, K. Loos, *Macromol. Biosci.*, **14**, 56 (2014).
- 22) S. A.-Abhari, A. J. J. Woortman, A. A. C. M. (L.) Oudhuis, R. J. Hamer, K. Loos, *Starch-Stärke*, **66**, 251 (2014).
- 23) J. Kadokawa, *Polymers*, **4**, 116 (2012).
- 24) J. Kadokawa, *Biomolecules*, **3**, 369 (2013).
- 25) J. Kadokawa, Y. Kaneko, H. Tagaya, K. Chiba, *Chem. Commun.*, 449 (2001).
- 26) J. Kadokawa, Y. Kaneko, A. Nakaya, H. Tagaya, *Macromolecules*, **34**, 6536 (2001).
- 27) J. Kadokawa, Y. Kaneko, S. Nagase, T. Takahashi, H. Tagaya, *Chem. Eur. J.*, **8**, 3321 (2002).
- 28) J. Kadokawa, A. Nakaya, Y. Kaneko, H. Tagaya, *Macromol. Chem. Phys.*, **204**, 1451 (2003).
- 29) Y. Kaneko, K. Beppu, J. Kadokawa, *Biomacromolecules*, **8**, 2983 (2007).
- 30) Y. Kaneko, K. Beppu, J. Kadokawa, *Macromol. Chem. Phys.*, **209**, 1037 (2008).
- 31) Y. Kaneko, Y. Saito, A. Nakaya, J. Kadokawa, H. Tagaya, *Macromolecules*, **41**, 5665 (2008).
- 32) Y. Kaneko, K. Beppu, T. Kyutoku, J. Kadokawa, *Polym. J.*, **41**, 279 (2009).
- 33) Y. Kaneko, K. Beppu, J. Kadokawa, *Polym. J.*, **41**, 792 (2009).
- 34) Y. Kaneko, K. Fujisaki, T. Kyutoku, H. Furukawa, J. Kadokawa, *Chem. Asian J.*, **5**, 1627 (2010).
- 35) S. Nomura, T. Kyutoku, N. Shimomura, Y. Kaneko, J. Kadokawa, *Polym. J.*, **43**, 971 (2011).
- 36) J. Kadokawa, S. Nomura, D. Hatanaka, K. Yamamoto, *Carbohydr. Polym.*, **98**, 611 (2013).
- 37) Y. Kaneko, K. Ueno, T. Yui, K. Nakahara, J. Kadokawa, *Macromol. Biosci.*, **11**, 1407 (2011).
- 38) T. Tanaka, H. Fukuhara, S. Shoda, Y. Kimura, *Chem. Lett.*, **42**, 197 (2013).
- 39) T. Tanaka, S. Sasayama, S. Nomura, K. Yamamoto, Y. Kimura, J. Kadokawa, *Macromol. Chem. Phys.*, **214**, 2829 (2013).
- 40) T. Tanaka, A. Tsutsui, K. Tanaka, K. Yamamoto, J. Kadokawa, *Biomolecules*, In press.
- 41) T. Tanaka, A. Tsutsui, R. Gotanda, S. Sasayama, K. Yamamoto, J. Kadokawa, *J. Appl. Glycosci.*, **62**, 135 (2015).
- 42) T. Tanaka, S. Sasayama, K. Yamamoto, Y. Kimura, J. Kadokawa, *Macromol. Chem. Phys.*, **216**, 794 (2015).
- 43) T. Tanaka, R. Gotanda, A. Tsutsui, S. Sasayama, K. Yamamoto, Y. Kimura, J. Kadokawa, *Polymer*, **73**, 9 (2015).