総説

セルロースの合成(1)

中 村 道 徳

1. はじめに

地球上のすべての有機化合物は、直接あるいは間接に緑色植物による光合成に由来するが、そのうち量的に最も多いものはセルロースであり、地球上の全有機化合物の約半分をしめるといわれている。セルロースはD-グルコース残基が β -(1 $\rightarrow$ 4)結合で連った直鎖高分子であり、グルコース残基がエネルギー的に最も安定なイス型のC1コンホメーションをとっているとすると、分子は全体として長く延びた形をとる。グルコース残基の3つの水酸基は、セルロース分子が平行にならぶと、強い水素結合を形成するから、多数のセルロース分子が集って繊維を形成し、多くの植物の細胞壁の主要構成成分として植物に強固さを与えている。われわれは日常生活で、この特有の性質を利用して、セルロースあるいはセルロースを含む多くの物を使用している。

セルロースは植物の細胞壁の主要な構成成分として植物界に広く分布しているが、そのほか微生物でセルロースを生産するものが知られており、今後のセルロース資源としてとりあげられている。セルロースは動物界にも存在し、たとえばホヤの外膜の成分であるtunicinはセルロースである。微量ではあるが哺乳動物の結締組織にもセルロース-蛋白質複合体が正常成分として存在するといわれている。

セルロースはわれわれの身近かに大量に存在し、われわれの日常生活に極めて有用で必要な物質であるから、その合成の機構は昔から多くの研究者の関心を集めてきた。セルロースはグルコースのポリマーであるから、基本単位であるグルコースが多数重合して合成されるのであろうが、生物体内の常温、常圧、ほぼ中性の水溶液中という条件下で、グルコースがどのようなしくみで脱水重合されていくのであろうか。本稿はセルロースの合成の機構に関する多くの研究者の成果をまとめたもの

Biosynthesis of Cellulose

MICHINORI NAKAMURA

Faculty of Agriculture, The University of Tokyo,
Bunkyo-ku, Tokyo, Japan

(東京大学農学部農芸化学科教授(農博))

であるが、具体的にセルロースの合成機構にはいる前に、生物が他の多糖やオリゴ糖の生合成にどのような方法を使っているのかを簡単に眺めてみたい。

2. 多糖類やオリゴ糖の生合成の機構

生物がグリコシド結合の生成に使っていると考えられている反応、あるいは可能と思われる反応がいくつか知られている。

(1) 加水分解酵素の逆反応

澱粉のアミラーゼによる加水分解、セルロースのセルラーゼによる加水分解反応はよく知られている。元来、酵素は可逆反応を接触するものであるから、グリコシド結合の加水分解も原則的には可逆的であるが、ふつうの条件では水が大過剰に存在するから、(1)式は右向きに進行する。

この反応を左向きに進行させる、すなわちグルコースからセルロースや澱粉を合成するためには、グルコースの濃度を高くし、水の濃度を低くする必要がある。実際、Hehre, 岡田ら¹⁾はアミラーゼと α -D-グルコースを用いてマルトースおよびマルトオリゴ糖の合成に成功している。反応がどの程度進行するかは

$$\Delta G'^{\circ} = -RT \ln K_{eq} = -RT \ln \frac{[R-OH][R'-OH]}{[R-O-R'][H_2O]} \quad (2)$$

から計算することができる^{*1}。セルロースの β -(1 $\rightarrow$ 4)結合の加水分解の $\Delta G'^{\circ}$ は約-4.4 kcal/moleであるから^{*2}、グルコースの濃度をA、セロビオースの濃度をB

^{*1} 希薄溶液で水が反応に関与する場合(たとえば加水分解反応)、ふつう水の濃度は1.0とするが、ここで今とりあげている逆反応では水の濃度が大きな問題であるから、これを無視することはできない。

^{*2} Cellodextrin phosphorylase 反応の平衡

$$K_{eq} = \frac{[Cellulose][G-1-P]}{[Cellotriose][P_i]} \approx 0.4 \text{ (pH 7.5)}^2$$

から、この反応の $\Delta G'^{\circ} \approx -0.65$ kcal/mole となる。G-1-Pの加水分解の $\Delta G'^{\circ}$ は-5.0 kcal/mole であるから、 β -(1 $\rightarrow$ 4)結合の加水分解の $\Delta G'^{\circ}$ は $-5.0 - (-0.65) = -4.35$ kcal/mole となる。

とすると(いづれもモル単位), (2)式は20°では

$$\begin{aligned} -4,400 &= -RT \ln \frac{[A][A]}{[B](H_2O)} \\ &= -1,363 \log \frac{[A]^2}{[B](H_2O)} \quad (2)' \end{aligned}$$

となる。大ざっぱな計算をしてみると, グルコース濃度が1M(すなわち18%溶液)から出発して, 平衡時のセロビオース濃度は $10^{-4} \sim 10^{-5}$ Mのオーダーである。従って, 加水分解酵素の逆反応で多糖を合成することは極めて困難であることがわかる。ただ(1)式からもわかる通り, グルコースの脱水重合によって生じた水をどんどん取り去ることができれば, 反応は左向きに進行するはずである。生物の細胞内は一般に水が大過剰に存在するが, 脂質-蛋白質複合体で構成される生体膜は疎水の環境を提供するから, このような反応が起る可能性も全くないとはいえない。しかし生理的な条件下でこのような逆反応が起っている証拠は今のところ得られていない。

(ii) ガリン酸分解反応の逆行

加水分解酵素が水分子の添加によりグリコンド結合を切るのに対し, ホスホリラーゼ(phosphorylase)はガリン酸分解反応によりグリコンド結合を切る。

(1)式と(3)式を比べれば明らかなように, 加水分解反応ではグリコンド結合のエネルギーは熱として失われるが, ガリン酸分解反応では糖-リン酸結合として保存される。従って反応は可逆的に進行し, グリコシル-リン酸から逆にグリコンド結合の生成を容易に行ないうる。Coriらがglycogen phosphorylaseを用いて α -D-glucosyl phosphate(α -D-glucose-1-phosphate; G-1-P)からグリコーゲン様多糖を試験管内で合成し, 生体ポリマーの生合成に始めて成功したのは有名である。

この反応で多糖鎖の長さは変化するが, 多糖鎖の非還元末端の数に変わりはないから, $\{(G)_n\} = \{(G)_{n-1}\}$ と置くことができる。従って(4)式の平衡は $K_{eq} = \{(G)_{n-1}\} [G-1-P] / \{(G)_n\} [Pi] = [G-1-P] / [Pi] \approx 0.3$ (pH 7.0)となり, 標準条件(反応に関与する物質の濃度がすべて1Mの場合)下では, 反応は左向き, すなわち多糖合成の方向に進行する。

セルロースでも同じような反応が知られていて,

標準条件下では(5)と(6)はいずれも左向きに進行し, 試験管内でセロデキストリンを合成することが可能であ

る。しかし実際の生体内ではPi濃度はG-1-P濃度より圧倒的に大きいから, たとえば(5)式の

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[G-1-P][G]}{[G_2][Pi]} \quad (7)$$

で反応物質の濃度に依存する第2項の影響が大きくなり, 生理的条件下では(4)~(6)式はいずれも右向きに進行し, 生体ではグリコーゲンの分解, あるいはセルロースのセルラーゼによる分解によって生じたセロデキストリンをさらに分解する役割を荷っているものと考えられている。

(iii) 既存のグリコンドの結合エネルギーの利用

グリコンド結合の生成に必要なエネルギーを(ii)ではグリコシル-リン酸結合から得たが, 既存のオリゴ糖, 多糖のグリコンド結合のエネルギーを利用することもできる。有名な例としてシ≡糖からデキストラン, レバンの合成がある。

(8)と(9)の反応が繰返されると高分子量のデキストラン($(G)_n-F$)やレバン($G-(F)_n$)が合成される。 α -G(1 $\rightarrow$ 6)Gおよび β -F(2 $\rightarrow$ 6)F結合の ΔG° は知られていないが, シ≡糖の ΔG° (-6.6 kcal/mole)は十分に大きいので, 反応はほぼ完全に右向きに進行し, 高分子量の生産物が生成される。シ≡糖から澱粉様多糖を合成する酵素(amylosucrase)も知られている。シ≡糖からセルロースを合成する酵素はまだ知られていない。

(iv) ヌクレオチド糖を糖供与体とする反応

Leloirらは酵母のガラクトース代謝を研究中, ウリジン-リン酸グルコース(およびガラクトース)(uridine diphosphate glucose & galactose; UDP-G & UDP-Gal)を見出し, このものがグルコース $\rightleftharpoons$ ガラ

クトースの相互変化に関与するほか, トレハロース, シ≡糖, グリコーゲン等の生合成のグルコシル基供与体となることを明らかにした。

ンを起して *L*-GulA になることがわかってきた。

Lin & Hassid¹⁰⁾によると、褐藻 *Fucus gardneri* は GDP-*D*-ManA, GDP-*L*-GulA と共に、マンノースから GDP-*D*-Man を経て GDP-*D*-ManA の合成に必要な酵素系と、GDP-*D*-ManA から poly-(*D*-ManA) を合成するのに必要な酵素系を含んでいる。

Hassid らはグルコース $\rightleftharpoons$ ガラクトースの相互変化がヌクレオチド糖として行なわれる (UDP-G $\rightleftharpoons$ UDP-Gal) のと同じように、*L*-GulA もヌクレオチド糖の形で GDP-*D*-ManA から生成し、この2つのヌクレオチド糖から次のようにしてアルギン酸が合成されるのであろうと考えた。

しかし Larsen と Haug^{11,12)} は *Azotobacter vinelandii* のグルコース-無機塩培地での polyuronide の生産は酢酸の添加で増大し、培地の Ca^{2+} 濃度が低いと *D*-ManA の多い生産物が得られるが、 Ca^{2+} 濃度を高くすると *L*-GulA の含量が多くなることを見出した。さらに彼等は *A. vinelandii* の酵素標品を Ca^{2+} の存在下で褐藻のアルギン酸に作用させるとポリマー鎖中の *D*-ManA 残基の一部が *L*-GulA に変り、 Ca^{2+} 濃度が高いほど *L*-GulA 残基の含量が多くなることを見出した。褐藻から調製した酵素標品を用いて同じ反応が確かめられている。従ってアルギン酸の生合成に当っては、一たん poly-(*D*-mannuronate) が合成され、次いで多糖鎖中の *D*-ManA 残基の一部が *L*-GulA 残基に変化してアルギン酸になるものと考えられる¹³⁾。ところで藻から GDP-*L*-GulA が分離されているが、上記の反応系列が正しいとすると、その役割がわからなくなる。上記の反応系列のほかに先に Hassid らが考えた経路も存在するのか、GDP-*L*-GulA はアルギン酸以外の他の藻体成分の合成の素材となるのか、あるいはポリマー中の *D*-ManA 残基に働く 5-epimerase がヌクレオチドレベルの *D*-ManA にも作用しうるのか、いろいろの可能性が考えられる。

また *Porphyra* 属の紅藻はほぼ等量ずつの *D*- および *L*-ガラクトースで構成される DL-ガラクトタン (porphyran) を含んでいる。*D*-Gal の一部は 6-O-メチル誘導体になっており、*L*-Gal は *L*-Gal-6-SO₃ または 3,6-anhydro-*L*-Gal の形で存在する。同一の糖の *D* 型と *L* 型を同時に含んでいる珍しい例である。Porphyran の生合成機構はまだ実験的に解明されていないが、Su & Hassid¹⁴⁾ は *Porphyra perforata* から UDP-*D*-Gal, GDP-*D*-Man, GDP-*L*-Gal を分離し、次のような経路を推定した。

このようなポリマーが合成された後で、その中の *D*-Gal の一部はメチル化されて 6-O-methyl-*D*-Gal になり、また *L*-Gal は硫酸化されて *L*-Gal-6-sulfate になり、さらにその一部は脱硫酸化されるとともに 3,6-anhydro-*L*-Gal になるものと推定されている。糖の水酸基のメチル化および硫酸化は他にいくつかの例がある。また *L*-Gal-6-sulfate はアルカリ性にするとき非酵素的に 3,6-anhydro-*L*-Gal になることが知られている。ここに述べた Porphyran 生合成経路はまだ全く推定の域を出ないが、生体内の反応の複雑さ、巧妙さを示唆して興味あるものである。

核酸や蛋白質でもポリマー鎖が形成された後で、その一部分が修飾される例が知られている。

5. 多糖生合成の開始と終結

試験管内における多糖の生合成では、ヌクレオチド糖を糖の供与体として既存のオリゴ糖あるいは多糖の非還元末端に糖を付加して糖鎖を延ばしていくことが多い。このように糖の受容体になるものを primer とよんでいる。ヌクレオチド糖あるいはグリコシルリン酸だけでグリコシド結合を新たに作り出すことはできない。Peptidoglycan や lipopolysaccharide の合成においても酵素標品中に混在している受容体が必要である。澱粉の生合成でマルトオリゴ糖の存在が必須であるとなると、そのマルトオリゴ糖はどこからくるのであろうかという疑問が生ずる。現在のところ生体内での多糖生合成の初期反応、特に primer に関してはよくわかっていない。最近グリコーゲンや澱粉の生合成で、蛋白質のセリンや

スレオニンの水酸基が糖の最初の受容体となり¹⁵⁻¹⁷⁾、そこから α -(1 $\rightarrow$ 4)グルカン鎖が延びていく証拠が得られている。しかしセルロース生合成の開始反応に関してはほとんど何もわかっていない。

同様に、生合成反応を終結させる機構に関しても、われわれは現在何も知らないといっても過言ではないであろう。

セルロースの生合成(2)は次号に掲載いたします。

文 献

- 1) 岡田敏太郎; 澱粉科学, 20, 76-92 (1973)
- 2) Sheth, K. and Alexander, J. K.: *J. Biol. Chem.*, 244, 457 (1969)
- 3) Kochetkov, N. K. and Shibaev, V. N.: *Adv. Carbohydrate Chem. & Biochem.*, 28, 307-379 (1973)
- 4) Nikaido, H. and Hassid, W. Z.: *Adv. Carbohydrate Chem. & Biochem.*, 26, 351-483 (1971)
- 5) Tanner, W. and Kandler, O.: *Eur. J. Biochem.*, 4, 233 (1968)
- 6) Lehre, L. and Tanner, W.: *Eur. J. Biochem.*, 38, 103 (1973)
- 7) Lennarz, W. J.: *Science*, 188, 986-991 (1975)
- 8) Lipmann, F.: *Essays in Biochemistry* (ed. by Campbell, P. N. and Greville, G. D.), vol. 4, pp. 1-23, Academic Press (1968)
- 9) 鈴木 旺; 化学と生物, 7, 637-646 (1969)
- 10) Lin, T. Y. and Hassid, W. Z.: *J. Biol. Chem.*, 241, 3283 (1966)
- 11) Larsen, B. and Haug, A.: *Carbohydrate Res.*, 17, 287 (1971); 20, 225 (1971)
- 12) Haug, A. and Larsen, B.: *Carbohydrate Res.*, 17, 297 (1971)
- 13) Pindar, A. and Bucke, C.: *Biochem. J.*, 152, 617 (1975)
- 14) Su, J. C. and Hassid, W. Z.: *Biochemistry*, 1, 474 (1962)
- 15) Lavintman, N., Tandecarz, J., Carceller, M., Mendiara, S. and Cardini, C. E.: *Eur. J. Biochem.*, 50, 145 (1974)
- 16) Tandecarz, J., Lavintman, N. and Cardini, C. E.: *Biochim. Biophys. Acta*, 399, 345 (1975)
- 17) Krisman, C. R. and Barengo, R.: *Eur. J. Biochem.*, 399, 345 (1975)

(昭和51年5月2日受理)

<技術ニュース>

リング糸とオープンエンド糸の改質

綿およびポリエステルリング糸、オープンエンド(OE)糸の改質を目的として、解燃-延伸-再燃処理を乾式、湿式の両方式のもとに行なった。また湿式紡績についても検討した。

糸の改良点を強伸度特性と表面形状におき、その指標に糸のらせんからはみ出し、からみ合う構成繊維の半径位置の変化を示すマイグレーション各指数(平均繊維位置、強度、偏差平方根、頻度数)と、ループ、曲がり、そしてからみ状態を示す、ステーブル平均長と糸中繊維の平均全長との比として定義した繊維長(fiber extent)とを考え、これら指標の媒介変数としての諸値から改質評価を行なった。

リング糸はSKF精紡機、OE糸はBD 200機で作られたもので、これら試料糸には、着色したビスコースをトレーサ繊維として0.1%混紡した。解燃、延伸には、インストロン試験機、SKF検燃機を使用し、各試料は標準状態、湿润の各状態で試験、比較した。

試料糸に45%燃解除、5%延伸を与え、糸中のトレーサ繊維のマイグレーション各指数の処理による違いは、乾式処理糸は多少の改良が見られたが、湿式処理糸では、ほとんど効果が見られない。糸中繊維のループと曲がり

については、解燃-延伸-再燃処理の効果がかなり見られ、乾式にくらべて湿式の方が効果は著しいことがわかった。

綿、ポリエステルの同番手、等燃係数のリング、OE糸について、同様処理を施し、各試料とも標準状態に戻して、性能試験を行ない結果を比較した。ポリエステルリング糸の場合、乾湿両処理の場合とも強伸度に改良効果は見られないが、OE糸ではわずかに強度で6~7%、伸度で3~5%の増加が見られた。糸むら等についてはほとんど改良点は見られない。綿糸の場合、リング、OE糸とも乾湿両処理によって強度はかなり増大するが、逆に伸度はリング糸乾式処理の場合を除いて、リング糸の湿式、OE糸の乾湿両処理の場合とも大きく減少する。この伸度の減少によって破壊仕事は相殺されて減少した。特に湿式処理のOE糸は、強度が30%も増加する注目すべき結果を示した。これは綿繊維の中に含まれる水溶性物質による天然の接着作用によるものと考えられる。

リング、OE精紡機による湿式紡績を行なった。粗糸はドラフト工程の前で、0.1% Triton X 100の界面活性剤の入った水槽を通したが、OE糸の湿式紡績は非常に困難であった。綿での両紡績糸の特徴点は、どちらも強度の増大にかなりの効果が見られる。また共通してなめらかで毛羽立ちの少ない糸が出来る。ポリエステル繊維の湿式紡績では有利な点が見られなかった。

[Text. Res. J., 10, 783 (1974)]

(小山敏夫)