オリゴ糖の機能と生産に関する 研究の最近の潮流

オリゴ糖は、以前は甘味・栄養物質としての認識しかなかったが、フラクトオリゴ糖にビフィズス菌増殖効果が見いだされて以来、オリゴ糖の機能性研究が急速に進展してきた。本稿では、種々のオリゴ糖の機能性をはじめ、その物理的・化学的特性から食品工業への実用例、さらに微生物の持つ多糖分解酵素による機能性オリゴ糖の生産に関して、筆者らの研究例を中心に解説していただいた。機能性オリゴ糖の利用が醸造食品の幅を広げる可能性が大きい。

横 田 篤・富 田 房 男

は じ め に

オリゴ糖は単糖が2～10個程度脱水縮合した化合物であるが、その構成糖の種類や結合様式の違いによって様々な種類のオリゴ糖が存在する。以前は甘味・栄養物質としての認識しかなかったが、フラクトオリゴ糖にビフィズス菌増殖効果が見いだされて以来、オリゴ糖の機能性研究が急速に進展した。現在では人間や動物の健康維持だけでなく、植物の生長、防御反応のシグナルとしても機能していることが分かってきた。また、広く動物細胞表面膜の糖タンパク質や、微生物細胞表層の糖鎖などが細胞間の認識過程に深く関与していることが明らかにされ、糖鎖の生物学的機能を研究する糖鎖生物学あるいは糖鎖工学と呼ばれる新しい分野が生まれている。また、オリゴ糖そのものの物理的・化学的特性の解明も進んでいる。一方、これらと並行してオリゴ糖の生産研究も我が国の研究者が主体となって急速に進展し、いくつかのオリゴ糖については実用化されている。いまやオリゴ糖の生産技術は、醸造やアミノ酸・核酸発酵と並んで我が国が世界に誇るべきバイオテクノロジーとなっている。

本稿では、オリゴ糖の機能性と生産の研究の最近の進歩を中心に述べることにする。

1. オリゴ糖の機能性

これまでオリゴ糖の様々な機能性が明らかにされてきたが、これらは(1)動物に対する生理的機能特性、(2)植物に対する機能特性、(3)物理的・化学的機能特性に分類することができる^{1,2)}。ここではオリゴ糖の生産を考える上で、構造と機能性の対応が明らかにされてい

るものを中心に概説する。

(1) 動物に機能性を示すオリゴ糖

オリゴ糖の生理機能性研究の先導的役割を果たしたフラクトオリゴ糖の機能性は、ヒトの消化酵素では利用されない難消化性糖であることと、腸内有用菌であるビフィズス菌によく利用される選択利用性である。したがって、低カロリーであり肥満の防止に役立つほか、血糖値や血中のインシュリン濃度の上昇に寄与せず、糖尿病の予防に役立つ。また、ビフィズス菌の優先的増殖によって腸内に短鎖脂肪酸が生成され、腸のぜん動運動の促進による便秘改善、コレステロール生合成阻害による高脂血症改善など様々な生理的機能特性を発揮する。さらに甘味はショ糖の約半分であるが、う食原因菌による不溶性グルカンの生成がなく、乳酸生成量がショ糖に比べて少ないことから虫歯になりにくい低う食性甘味料である。このように、フラクトオリゴ糖はショ糖の過剰摂取による虫歯、肥満、糖尿病などの疾病を予防する優れた甘味物質であることが分かってきた³⁾。フラクトオリゴ糖にはショ糖にフラクトースが β -2,1結合で1～3個結合した1-kestose、nystose、フラクトシルnystoseが含まれる。そのほかビフィズス菌の選択利用性を持つオリゴ糖としてはガラクトオリゴ糖、分岐オリゴ糖、乳果オリゴ糖、大豆オリゴ糖、ラフィノース、キシロオリゴ糖、などが開発されている。低あるいは抗う食性オリゴ糖としてはカップリングシュガー、パラチノース、トレハロース⁴⁾、キシロシル・フラクトシド、イソマルトシル・フラクトシドなどがある。これらのいくつかのオリゴ糖の構造と機能性について第1表にまとめた⁵⁾。

The Recent Advances in the Study of Function and Production of Oligosaccharides
Atsushi YOKOTA and Fusao TOMITA (Laboratory of Applied Microbiology, Faculty of Agriculture,
Hokkaido University)

第1表 動物に機能性を示すオリゴ糖⁵⁾

オリゴ糖	構 造	機 能 性
フラクトオリゴ糖		ビフィズス菌選択利用性
1-kestose	Glcα1-β 2 Frul-β 2 Fru	
niostose	Glcα1-β 2 Frul-β 2 Frul-β 2 Fru	
fructosyl niostose	Glcα1-β 2 Frul-β 2 Frul-β 2 Frul-β 2 Fru	
分岐オリゴ糖		ビフィズス菌選択利用性
isomaltose	Glcα 1-6 Glc	
isomaltotriose	Glcα 1-6 Glcα 1-6 Glc	
raffinose	Galα 1-6 Glcα 1-β 2 Fru	ビフィズス菌選択利用性
大豆オリゴ糖		ビフィズス菌選択利用性
stachyose	Galα 1-6 Galα 1-6 Glcα 1-β 2 Fru	
raffinose	Galα 1-6 Glcα 1-β 2 Fru	
キシロオリゴ糖		ビフィズス菌選択利用性
xylobiose	Xylβ 1-4 Xyl	
harringtonose	Glcα 1-6 Fru	抗う食性
trihaloarabinose	Glcα 1-1 Fru	抗う食性

Glc, グルコース残基; Fru, フラクトース残基; Gal, ガラクトース残基; Xyl, キシロース残基

Fuc(α1-2)Gal(β1-3)GlcNAc(β1-3)Gal(β1-4)Glc

Gal(β1-3)GlcNAc(β1-3)Gal(β1-4)Glc
Fuc(α1-4)

Gal(β1-4)GlcNAc(β1-3)Gal(β1-4)Glc
Fuc(α1-3)

第1図 母乳に含まれる病原性大腸菌の付着阻害活性を示すヘンタサッカライドの構造

Fuc, フコース残基; Gal, ガラクトース残基; Glc, グルコース残基; GlcNAc, N-アセチルグルコサミン残基

最近、母乳に含まれるオリゴ糖であるヘンタサッカライド(第1図)が、病原性大腸菌の細胞への付着を阻害することが報告された⁹⁾。疫学調査の結果、母乳で育てた乳児には病原性大腸菌感染による下痢が少ないことが知られていたが、このオリゴ糖が有効成分の一つと考えられる。

(2) 植物に機能性を示すオリゴ糖

植物や糸状菌の細胞壁多糖に由来するオリゴ糖が植物に対して様々な生理活性を示すことが最近の研究により明らかにされてきた。すなわち植物の生長制御活性、病原菌感染に際して抗菌物質であるファイトアレキシンを誘導するエリキター活性を示すオリゴ糖などが見つか

っている。これらのオリゴ糖はオリゴサッカリン(oligosaccharin)⁷⁾と呼ばれ、その生物活性の研究は糖鎖生物学の一つの分野を形成している。以下に、構造の明らかなものについて、その機能性をまとめた。

(a) β-グルカンオリゴ糖

植物病原菌である卵菌類の *Phytophthora* 属の細胞壁は、主にセルロースと β-グルカンから構成されている。β-グルカンには β-1,3 結合と β-1,6 結合が含まれる⁸⁾。*Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* 細胞壁の部分酸分解物が、大豆にファイトアレキシンの誘導活性を示すことが知られていたが、その有効成分がヘキサ(β-D-グルコピラノシル)-D-グルチオール(第2図)であることが明らかになった^{9,10)}。このオリゴ糖は 10⁻⁹M の低濃度でファイトアレキシンの誘導活性を示す。自然界でこのオリゴ糖が実際に存在するかどうかについてはまだ確認されていない。

(b) キチン、キトサンからのオリゴ糖

細胞壁の構成成分として、N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)の β-1,4 結合ポリマーであるキチンを含む菌類は広く知られているが、接合菌類はキチンとともにグルコサミン(GlcN)の β-1,4 結合ポリマーであるキトサンを含んでいる⁸⁾。これらのオリゴマーのいくつかにエリキター活性が認められており、代表例を第2表にまとめて示した。

第2図 β-グルカン由来のファイトアレキシンの誘導活性を示すオリゴ糖の構造
Glcp, グルコピラノシル残基

第2表 植物に防御反応を誘導するキチン、キトサンからのオリゴ糖

防 御 反 応	植 物	オ リ ゴ 糖	構 造	文 献
キチナーゼの誘導	メロン	キチンオリゴ糖	重合度 6～9	11)
リグニン化	小麦	N-アセチルキトオリゴ糖	(GlcNAc) ₄₋₆	12)
ファイトアレキシンの誘導	エンドウ	キトサンオリゴ糖	重合度 7	13)

第3表 植物に生理活性を示すオリゴガラクトチュロン酸

生 理 活 性	植 物	オリゴガラクトチュロン酸の重合度	文 献
キャスベン合成酵素の誘導	Castor bean	9～15, 13 で最大活性	16)
プロテアーゼインヒビターの生産	トマト	2～6, 6 で最大活性	17)
リグニン化	キュウリ	11	18)
壊死反応	ササゲ豆	4 以上	19)
抗オーキシシン効果	エンドウ	8 以上	20)

第3図 NodRm-1 の構造
N-アシルグルコサミン残基間は β -1,4 結合で連結している。略号は第1図と同様

(c) 豆科植物の根粒形成開始シグナル

豆科植物は根粒菌の感染によって根の組織を変化させて根粒を形成するが、植物にこのような変化を誘導するシグナル物質が根粒菌の培養液から単離され、構造が決定された。アルファルファに感染する *Rhizobium meliloti* が生産するシグナル NodRm-1 の構造¹⁴⁾を第3図に示した。コモンベッチに感染する *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* の生産するシグナル NodRlv-IV および V の構造¹⁵⁾も明らかにされている。これらはいずれもアシルグルコサミンからなるオリゴ糖であり、その構造の違いが宿主特異性を決定していると考えられている。

(d) オリゴガラクトチュロン酸

ペクチン質は植物細胞の一次壁および細胞間物質として存在し、ガラクトチュロン酸が α -1,4 結合で高度に重合した多糖を主成分としている。このオリゴマーが抗オーキシシン効果、ファイトアレキシシン（キャスベン）合成酵素の誘導、プロテアーゼインヒビター生産の誘導、細胞壁のリグニン化、壊死反応などを起こすことが報告されている。第3表にそれらをまとめて示したが、活性はオリゴ糖の重合度にかかなり依存していることが認められる。ただしこれらの研究は、オリゴ糖調製標品を植物に作用させて行われたもので、植物体内にこれらのオリゴ糖が実際に存在するかどうかは明らかでない。

(e) キシログルカンオリゴ糖

植物細胞の一次壁（伸長している細胞の壁）の主成分

9 糖単位

7 糖単位

第4図 キシログルカンを構成する
7 糖単位と 9 糖単位の構造
Xyl, キシロース残基。他の略号は第1図と同様

はセルロースである。通常この糖鎖は 30～50 本束になってセルロースミクロフィブリルと呼ばれる構造体となり、キシログルカンが水素結合でこれを架橋している。キシログルカンはキシロースとグルコースを主成分として含み、セルロースと同じ β -1,4-グルカン骨格をとっているが、グルコース 4 残基あたり 3 残基のキシロースが α -1,6 結合した 7 糖単位（第4図）からなっている²¹⁾。エンドウのキシログルカンは、7 糖単位にフコシルガラクトシル残基が結合した 9 糖単位（第4図）を同量程度含んでいる。一次壁では、オーキシシンの作用によって活性が増大したエンド-1,4- β -グルカナーゼによりキシログルカンが分解され、細胞壁にゆるみが生じ、細

胞質の膨圧によって細胞伸張すなわち生長が起こるとされている²¹⁾。またこのゆりみは、最近の研究でキシログルカンエンドトランスグリコシラーゼ (XET) と呼ばれる新規酵素によって修復されると考えられている²²⁾。

種々の植物起源のキシログルカンに *Trichoderma viride* 由来のエンド-1,4- β -グルカナーゼを作用させてキシログルカンオリゴ糖を調製し、生物活性が調べられた。その結果、9糖単位に由来するオリゴ糖 (XG 9) はエンドウ上胚軸の合成オーキシシン (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) による伸長促進を 10^{-8} M の濃度で阻害する抗オーキシシン活性を持つことが見いだされた²³⁾。この濃度は用いた合成オーキシシン濃度の 1/100 の低濃度であり、非常に強力である。しかし、別の実験でキシログルカンオリゴ糖は 10^{-6} M の高濃度では逆にオーキシシン活性すなわち伸長促進活性を示すことが見いだされ、矛盾する結果となった²⁴⁾。マメ由来のエンド-1,4- β -グルカナーゼが、*in vitro* で XG 9 によって活性化される²⁵⁾ことから、この現象は初めこの酵素の活性化によってキシログルカンにゆりみが生じたためと考えられた²⁴⁾。しかし、ハウレンソウやその他の植物を用いたその後の研究で、XG 9 が高濃度に存在する場合にはこれが XET の基質となり、通常はキシログルカン間で行われる転移反応がキシログルカンと XG 9 の間で起こるためにキシログルカンが低分子化し、結果的にゆりみが生じて伸長反応が促進されたものと考えられている^{22,26)}。

(3) 物理的・化学的機能特性

最もよく知られている機能特性は環状オリゴ糖の示す包接性である。グルコースが α -1,4 結合で環状に 6~8 個つながったサイクロデキストリン (CD) は、構造上環の内側は疎水性、外側は親水性となるため、CD を水に溶解すると種々の疎水性化合物を分子の内部に取り込むことができる。近年、CD の溶解度の改善や新たな機能性の付与のために、CD に種々の糖鎖を付加した分岐 CD も調製されている。これらの CD は、例えばアルコールや香気性成分の保持など食品工業の分野で実用化されており、またドラッグデリバリーシステムへの応用などが検討されている⁵⁾。最近、フラクトースが β -2,1 結合でやはり 6~8 個つながったサイクロフラクタン (CF) が発見された²⁷⁾。CF は CD に比べて環のサイズが小さく、中心部にクラウンエーテル様の環を形成し、金属イオンを取り込むことが明らかにされている。CD に比べて溶解度が高いことが特徴で、これらの性質を生かして用途開発が進んでいる²⁸⁾。このように糖の種類や結合様式の違いによって包接性にも大きな違いがでくことは興味深い。

マルトオリゴ糖はグルコースが α -1,4 結合で直鎖状

に 2~10 個つながったものである。通常は特定のマルトオリゴ糖としてではなく、ハイマルトリオースシラップなど、いくつかの分子種が混ざった形で利用されている。これらは低甘味物質として用いられるほか、食品の艶出し剤、清涼飲料のボディ感付与剤、褐変・着色防止剤、冷菓・アイスクリームの凍結温度調節剤、デンプンの老化防止剤などどちらかと言えば物理的・化学的特性を利用して実用化されている²⁹⁾。特にマルトペンタオースは、高純度品が血中の α -アミラーゼ測定用基質として利用されているほか、包接性があるので新たな食品基剤としての用途が見込まれている³⁰⁾。またマルトリオース、マルトテトラオース、マルトペンタオースには *Erwinia carotovora* に対する抗菌性も見いだされている³¹⁾。

そのほか、重合度 7 のキトサンオリゴ糖には *Fusarium* 属菌に対する抗菌活性が報告されている³²⁾。

2. 微生物の多糖分解酵素による機能性オリゴ糖の生産

オリゴ糖の生産方法には①天然物からの抽出法、②転移酵素、加水分解酵素の転移活性を利用する方法、③天然多糖の酵素分解法、④天然多糖の酸加水分解法、⑤化学合成法などがある。①ではビートからのラフィノースの抽出、大豆から的大豆オリゴ糖の抽出が実用化されているが、限られた種類のオリゴ糖しか得られず、生産性も原料に対する依存性が高い。④では生産物が様々な大きさの糖の混合物となり、特定のオリゴ糖を生産するには不向きである。⑤は有機合成によるオリゴ糖の合成をさしているが、オリゴ糖の機能解析などの目的には利用できるが、実用的な大量生産には不向きである。そこで現状では②、③の方法によってオリゴ糖の実用生産が行われている。これまでに最もよく利用されているのは②の方法である。例えば CD や、フラクトオリゴ糖、ガラクトオリゴ糖、乳果オリゴ糖、カップリングシュガー、パラチノース、トレハロース、キシロシルフラクトシド、イソマルトシルフラクトシドなどはこの方法で生産されている。これらの生産については文献^{4,5,32,33)}があるのでここでは述べない。一方、③の方法はあまり実用例は多くないが、マルトオリゴ糖、キシロオリゴ糖などいくつかのオリゴ糖で実用化されている。しかし、自然界に最も多く存在する有機物質が多糖類であり、それらはほとんどが未利用資源であることを考えると、これらを原料として付加価値の高いオリゴ糖を生産することは望ましいことである。さらに、自然界でこれらの多糖はその多くが微生物酵素によって分解されているので、様々な多糖に対応する多様性にとんだ分解酵素が見つかる可能性がある。一方、オリゴ糖の機能性評価や利用

第5図 DFA III の構造

を図る上で、ある特定の分子種のオリゴ糖を生産することが最近強く求められるようになってきている。すなわちオリゴ糖としては知られていても、高純度に大量調製ができないために機能性の評価あるいは実用化が図れないものも多い。筆者らはこのような背景に基づき、イヌリンやレバンなどの未利用多糖を原料として、微生物の多糖分解酵素によりある特定の分子種のオリゴ糖を効率よく生産することを研究してきた³⁴⁻³⁶⁾。ここでは誌面の制約上、天然多糖の酵素分解によるオリゴ糖生産について筆者らの成果を交えて紹介する。

(1) イヌリンからのオリゴ糖生産

イヌリンは β -2,1 結合を持つポリフラクタンで、キクイモ、チコリなどに多く存在する貯蔵多糖である。これらの植物は栽培が容易で収量も高く、特にキクイモでは塊茎中に乾燥重量の 75% にも達するイヌリンが含まれ、熱水抽出で容易に回収されるなど原料として適している。イヌリンは人間の消化酵素では分解されないの、この意味で未利用多糖である。これを微生物酵素を用いてオリゴ糖に変換すれば、様々な機能性糖が得られる可能性がある。そこでイヌリンからのオリゴ糖生産菌を土壌からスクリーニングしたところ、ダイフラクトースアンハイドライド III (Di-D-fructofuranose 1,2':2,3' dianhydride III, DFA III) (第5図) と呼ばれる環状2糖を生産する新種の細菌 *Arthrobacter* sp. H 65-7 を見いだした^{37,38)}。DFA III 生産菌は既に知られていたが³⁹⁻⁴²⁾、筆者らの菌は DFA III 生成酵素であるイヌラーゼ II (EC 2.4.1.93) 活性がきわめて高く、培養上清を粗酵素液としてイヌリンと反応させるだけで理論収率 100% で 200 g/l 以上の DFA III が生産できる。反応が完全に進行するとニストースとフラクトシルニストースが未分解基質として残存する (第6図)。したがって、この反応はニストースとフラクトシルニストースの生産にも利用できる。最近、イヌリンから DFA I (Di-D-fructofuranose 1,2':2,1' dianhydride I) を生産する *Arth-*

第6図 *Arthrobacter* sp. H65-7 株のイヌラーゼ II によるイヌリンからの反応生成物の薄層クロマトグラム³⁸⁾

標準物質 (S) として DFA III, フラクトース (F), シュークロース (GF), 1-kestose (GF2), ニストース (GF3), フラクトシルニストース (GF4) を用いた。I, イヌリン

robacter sp. MCI-2493⁴³⁾ と *Streptomyces* sp. MCI-2524⁴⁴⁾ が報告され、DFA I についても大量生産が可能になってきた。また、CF のうちフラクトースが6個結合した CF6 を生産する *Bacillus circulans* MCI-2554 が報告され、CF6 の大量調製も可能になった⁴⁵⁾。イヌリンからフラクトースが β -2,1 結合で直鎖状に結合したイヌロオリゴ糖と呼ばれるオリゴ糖も生産できるようになっている。これを触媒するのはエキソ型イヌリナーゼと呼ばれる酵素で、すでに *Streptomyces* sp.⁴⁶⁾ や *Aureobacterium* sp. MCI-2494⁴⁷⁾ などで報告があったが、これらはイヌロトリオースとイヌロテトラオースを併産した。筆者らは新たに、*Streptomyces rochei* E 87 の生産する酵素が、50 g/l のイヌリンからイヌロトリオースを約 70% の重量収率で純度よく生産できることを見だし⁴⁸⁾、さらに酵素化学的検討も行った⁴⁹⁾。DFA やイヌロオリゴ糖の機能性については十分に明らかにされていないが、大量生産が可能になったので今後検討されて行くであろう。イヌリンからのオリゴ糖生産についての報告を第4表にまとめた。

(2) レバンからのオリゴ糖生産

レバンはフラクトースが β -2,6 結合で連結したポリフラクタンで、特にイネ科の植物の葉や茎に含まれる貯蔵多糖であるが、微生物によってもショ糖を原料にして

第4表 イスリンからのオリゴ糖の生産

微生物	生成オリゴ糖	文献
<i>Arthrobacter ureafaciens</i>	DFAM	39)
<i>Arthrobacter globiformis</i> C11-1	DFAM	40)
<i>Pseudomonas fluorescens</i> No.949	DFAM	41)
<i>Arthrobacter ilicis</i> OKU 17 B	DFAM	42)
<i>Arthrobacter</i> sp. H 65-7	DFAM, ニストース, フラクトシルニストース	37, 38)
<i>Arthrobacter globiformis</i> S 14-3	DFA I	50)
<i>Arthrobacter</i> sp. MCI-2493	DFA I	43)
<i>Streptomyces</i> sp. MCI-2524	DFA I	44)
<i>Aureobacterium</i> sp. MCI-2494	イスロトリオース, イスロテトラオース	47)
<i>Streptomyces rochei</i> E 87	イスロトリオース	48)

比較的容易に生産できるバイオマスである。一般に植物由来のレバンは分岐が少ないが、微生物由来のレバンは分岐が多いと言われている。レバンからのオリゴ糖としては DFA IV (Di-D-fructofuranose 2,6':6,2' dianhydride IV) が知られていたが⁵¹⁾, 大量生産を意図した報告としては, *Streptomyces* sp. No. 7-3 によるレバンビオースの生産⁵²⁾, *Bacillus* sp. No. 71 によるレバンヘプタオースの生産⁵³⁾ などがある。特に後者の場合, 直鎖状のレバンを用いた場合にはほぼ定量的にヘプタオースが生産でき, 高純度の大量調製に適している。筆者らもレバンからレバンビオースを特異的に生成するレバン分解酵素を生産する *Streptomyces exfoliatus* F 3-2 を分離し, この酵素を *Serratia* sp. 由来の直鎖状レバンに作用させることによって 50 g/l のレバンから 42.1 g/l のレバンビオースを生産することに成功している⁵⁴⁾ (第7図)。また本菌のレバン分解酵素を精製し, 性質を明らかにした⁵⁵⁾。レバンビオースの高純度大量生産は筆者らの報告が初めてと思われる。また, この *Serratia* sp. 由来のレバン⁵⁶⁾は分岐の少ない微生物由来のレバンとして大変珍しいもので, オリゴ糖生産の原料として優れている。これまでのところレバンオリゴ糖の機能性についてはほとんど明らかにされていないが, これらの大量調製技術の進歩によって検討が可能になってくると思われる。

(3) デンブンからのオリゴ糖生産

現在行われている分解法によるオリゴ糖生産の最も代表的なものがマルトオリゴ糖の生産である。マルトース⁵⁷⁾, マルトトリオース⁵⁸⁾, マルトテトラオース⁵⁹⁾, マルトペンタオース⁶⁰⁾, マルトヘキサオース⁶¹⁾を特異的に切り出す酵素が種々の微生物から見いだされている。マルトペンタオース生成酵素はクローニングされ⁶²⁾, 大量発現の研究も進んでいる⁶³⁾。また最近, 高純度マルトース⁶⁴⁾あるいはマルトテトラオース⁶⁵⁾を工業的に製造する技術が開発された。この方法は, まずモラノリン (1-

第7図 *Streptomyces exfoliatus* F3-2 株のレバン分解酵素によるレバンからの反応生成物の薄層クロマトグラム⁵⁴⁾

標準物質 (S) としてレバンの塩酸部分加水分解物を用いた。F2, レバンビオース; F3, レバントリオース; F4, レバントテトラオース; F5, レバンペンタオース; L, レバン

デオキシノジリマイシン) とデンブンからサイクロデキストリン合成酵素の糖転移反応によって様々な長さでグルコースが転移したグリコシルモラノリンを調製する。これを陽イオン交換樹脂で精製し, 次に β -アミラーゼで分解し, マルトースを得る。これを再び陽イオン交換樹脂で処理し, 高純度マルトースを回収するものである。 β -アミラーゼの代わりに *Pseudomonas stutzeri* IFO 3773 由来のマルトテトラオース生成型アミラーゼを用いると高純度マルトテトラオースの生産も可能であることが示された。

(4) その他の多糖からのオリゴ糖生産

Trichoderma 属のキシロビオース生成酵素を基質充填型バイオリアクターを用いてキシランに作用させるキシロオリゴ糖の生産が実用化されている⁶⁶⁾。生成物は主にキシロビオースであるがキシロースも副成する。これとは別に, キシロビオースだけを生成する新規なキシラナーゼを生産する *Aeromonas caviae* ME-1 が報告され

ている⁶⁷⁾。本酵素は高純度キシロビオースの生産に有効であろう。

デキストランからの新規環状オリゴ糖、イソサイクロデキストリン (ICD) を生産する *Bacillus* 属細菌が報告されている⁶⁸⁾。ICD はグルコースが環状に 7~9 個 α -1,6 結合した構造を持ち、新たな機能性が期待されている。

植物に機能性を示すオリゴ糖は、すべて植物や微生物の細胞壁多糖の分解産物であることから、分解酵素によって生産できると考えられる。例えば、キトオリゴ糖⁶⁹⁾、*N*-アセチルキトオリゴ糖⁷⁰⁾の大量調製は *Bacillus* sp. No. 7-M のキトサナーゼを用いることによって可能になっている。キトオリゴ糖の場合は、キトサンを原料として (GlcN)₂₋₆ の混合物が、また *N*-アセチルキトオリゴ糖の場合は 10% *N*-アセチル化キトサンを原料として酵素反応を行い、生成物を *N*-アセチル化することによって、(GlcNAc)₂₋₇ の混合物が効率よく得られる。また、キシログルカンオリゴ糖のうち XG 7 の大量調製法が確立された⁷¹⁾。タマリンド種子キシログルカン 10 g を原料として、これをまずエンド-1,4- β -グルカナーゼと β -ガラクトシダーゼによって XG 7 とガラクトースに完全分解し、ついで *Saccharomyces cerevisiae* を加えてガラクトースを発酵によって除去し、XG 7 の粉末を 7.6 g 得るといふ非常に効率のよいものである。また、XG 7 を分岐 4 糖と 3 糖に分解する *Geotrichum* 属カビ由来の新しい酵素も見つかっている⁷²⁾。今後 XG 9 などの製法も確立されれば、キシログルカンオリゴ糖の機能性研究が一層発展するものと考えられる。そのほかに寒天オリゴ糖⁷³⁾など興味深いオリゴ糖も報告されているが、誌面の制約上省略した。

おわりに

以上のように、オリゴ糖の開発研究は機能性の研究と生産研究が両輪となって進んできた。しかし実用化されているオリゴ糖を除いては、生産研究がずいぶん遅れているのが現状である。特に動物や植物に機能性を示すオリゴ糖 (第 1, 2, 3 図) や、動物細胞の糖鎖などはその多くが複雑な構造を持ったヘテロオリゴ糖で、大量調製できていない。また、イヌリンやレバンのオリゴ糖のように、大量調製が可能になることによって機能が明らかにされてゆく場合もある。様々な手法による効率のよいオリゴ糖の生産研究が、今後ますます求められてゆくものと思われる。

<北海道大学農学部応用菌学講座>

文 献

- 1) 日高秀昌：食物繊維とオリゴ糖-その生理的機能と生産-(富田房男，桐山修八編)，p. 1 (1994)
- 2) 日高秀昌：澱粉科学，40，225 (1993)
- 3) 日高秀昌：現代化学，1993 年 7 月，p. 64
- 4) Y. NAGAI-MIYATA, K. TSUYUKI, T. SUGITANI, T. EBASHI and Y. NAKAJIMA : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 2049 (1993)
- 5) 北畑寿美雄：FOODS & FOOD INGREDIENTS JOURNAL, No. 156, 20 (1993)
- 6) A. CRAVIOTO, A. TELLO, H. VILLAFÁN, J. RUIZ, S. DELVEDOVO and J.-R. NEESER : *J. Infect. Dis.*, **163**, 1247 (1991)
- 7) P. ALBERSHEIM and A. G. DARVILL : *Sci. Amer.*, **253**, 44 (1985)
- 8) S. BARTNICKI-GARCIA : *Ann. Rev. Microbiol.*, **22**, 87 (1968)
- 9) J. K. SHARP, B. VALENT and P. ALBERSHEIM : *J. Biol. Chem.*, **259**, 11312 (1984)
- 10) J. K. SHARP, M. MCNEIL and P. ALBERSHEIM : *J. Biol. Chem.*, **259**, 11321 (1984)
- 11) D. ROBY, A. GADELLE and A. TOPPAN : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **143**, 885 (1987)
- 12) M. S. BARBER, R. E. BERTRAM and J. P. RIDE : *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, **34**, 3 (1989)
- 13) D. F. KENDRA and L. A. HADWIGER : *Exp. Mycol.*, **8**, 276 (1984)
- 14) P. LEROUGE, P. ROCHE, C. FAUCHER, F. MAILLET, G. TRUCHET, J. C. PROMÉ and J. DÉNARIÉ : *Nature*, **344**, 781 (1990)
- 15) H. P. SPAINK, D. M. SHEELEY, A. A. N. VAN BRUSSEL, J. GLUSHKA, W. S. YORK, T. TAK, O. GEIGER, E. P. KENNEDY, V. N. REINHOLD and B. J. J. LUGTENBERG : *Nature*, **354**, 125 (1991)
- 16) D. F. JIN and C. A. WEST : *Plant Physiol.*, **74**, 989 (1984)
- 17) P. D. BISHOP, G. PEARCE, J. E. BRYANT and C. A. RYAN : *J. Biol. Chem.*, **259**, 13172 (1984)
- 18) B. ROBERTSEN : *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, **28**, 137 (1986)
- 19) F. CERVONE, G. DE LORENZO, L. DEGRÁ and G. SALVI : *Plant Physiol.*, **85**, 626 (1987)
- 20) C. BRANCA, G. DE LORENZO and F. CERVONE : *Physiol. Plant.*, **72**, 499 (1988)
- 21) 林 隆久：蛋白質・核酸・酵素，37，2968 (1992)
- 22) S. C. FRY, R. C. SMITH, K. F. RENWICK, D. J. MARTIN, S. K. HODGE and K. J. MATTHEWS : *Biochem. J.*, **282**, 821 (1992)
- 23) W. S. YORK, A. G. DARVILL and P. ALBERSHEIM : *Plant Physiol.*, **75**, 295 (1984)
- 24) G. J. MCDUGALL AND S. C. FRY : *Plant Physiol.*, **93**, 1042 (1990)
- 25) V. FARKAS and G. MACLACHLAN : *Carbohydr. Res.*, **184**, 213 (1988)

- 26) R. C. SMITH and S. C. FRY : *Biochem. J.*, **279**, 529 (1991)
- 27) M. KAWAMURA and T. UCHIYAMA : *Carbohydr. Res.*, **192**, 83 (1989)
- 28) 鎌田 明 : *BIO INDUSTRY*, **9**, 654 (1992)
- 29) 中久喜輝夫 : *ジャパソフドサイエンス*, **29**, (8) 55 (1990)
- 30) 桶本 尚 : *BIO INDUSTRY*, **9**, 39 (1992)
- 31) H. KONDO, T. HONKE, R. HASEGAWA, T. SHIMODA and S. NAKAMURA : *J. Antibiot.*, **28**, 157 (1975)
- 32) 小林昭一 : *澱粉科学*, **40**, 103 (1993)
- 33) 北畑寿美雄 : *澱粉科学*, **37**, 59 (1990)
- 34) 富田房男, 横田 篤 : *化学と生物*, **30**, 170 (1992)
- 35) 富田房男 : *食物繊維とオリゴ糖-その生理的機能と生産-*(富田房男, 桐山修八編), p. 45 (1994)
- 36) 横田 篤 : *生物工学*, **71**, 445 (1993)
- 37) A. YOKOTA, S. HIRAYAMA, K. ENOMOTO, Y. MIURA, S. TAKAO and F. TOMITA : *J. Ferment. Bioeng.*, **72**, 258 (1991)
- 38) A. YOKOTA, K. ENOMOTO and F. TOMITA : *J. Ferment. Bioeng.*, **72**, 262 (1991)
- 39) K. TANAKA, T. UCHIYAMA and A. ITO : *Biochim. Biophys. Acta.*, **284**, 248 (1972)
- 40) K. HARAGUCHI, M. KISHIMOTO, K. SEKI, K. HAYASHI, S. KOBAYASHI and K. KAINUMA : *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 291 (1988)
- 41) 倉本隆志, 田村幸吉, 中村重治, 井元勝恵, 北畑寿美雄 : *昭和 62 年度日本農芸化学会大会講演要旨集*, p. 654 (1987)
- 42) M. KAWAMURA, S. TAKAHASHI and T. UCHIYAMA : *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 3209 (1988)
- 43) M. UEDA, R. SASHIDA, Y. MORIMOTO and H. OHKISHI : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 574 (1994)
- 44) S. KUSHIBE, R. SASHIDA, Y. MORIMOTO and H. OHKISHI : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 2054 (1993)
- 45) 柳部祥子, 指田玲子, 大岸治行 : *平成 3 年度日本発酵工学会大会講演要旨集*, p. 249 (1991)
- 46) 川村三志夫, 向井聖二, 内山喬夫 : *農化*, **63**, 606 (1989)
- 47) 大庭祥子, 指田玲子, 青山英幸, 大岸治行 : *農化*, **65**, 592 (1991)
- 48) 横田 篤, 山内 治, 富田房男 : *農化*, **67**, 331 (1993)
- 49) 山内 治, 横田 篤, 松井博和, 富田房男 : *農化*, **68**, 437 (1994)
- 50) K. SEKI, K. HARAGUCHI, M. KISHIMOTO, S. KOBAYASHI and K. KAINUMA : *Strarch/stärke*, **40**, 440 (1988)
- 51) K. TANAKA, H. KAWAGUCHI, K. OHNO and K. SHOHJI : *J. Biochem.*, **90**, 1545 (1981)
- 52) H. MURAKAMI, H. MUROI, T. KURAMOTO, Y. TAMURA, K. MIZUTANI, H. NAKANO and S. KITAHATA : *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 2247 (1990)
- 53) H. MURAKAMI, T. KURAMOTO, K. MIZUTANI, H. NAKANO and S. KITAHATA : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 608 (1992)
- 54) A. YOKOTA, K. KONDO, M. NAKAGAWA, I. KOJIMA and F. TOMITA : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 745 (1993)
- 55) 近藤一也, 横田 篤, 木村淳夫, 小島一郎, 富田房男 : *農化*, **67**, 502 (1993)
- 56) I. KOJIMA, T. SAITO, M. IIZUKA, N. MINAMIURA and S. ONO : *J. Ferment. Bioeng.*, **75**, 9 (1993)
- 57) Y. TAKASAKI : *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 341 (1989)
- 58) Y. TAKASAKI, M. KITAJIMA, T. TSURUTA, M. NONOGUCHI, S. HAYASHI and K. IMADA : *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 687 (1991)
- 59) J. F. ROBYT and R. J. ACKERMAN : *Arch. Biochem. Biophys.*, **145**, 105 (1971)
- 60) S. KOBAYASHI, H. OKEMOTO, K. HARA and H. HASHIMOTO : *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 147 (1990)
- 61) Y. TAKASAKI : *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 1539 (1982)
- 62) O. SHIDA, T. TAKANO, H. TAKAGI, K. KADOWAKI and S. KOBAYASHI : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 76 (1992)
- 63) 信太 治, 高野敏弥, 内田一彦, 宮内 明, 高木広明, 門脇 清, 小林昭一 : *澱粉科学*, **39**, 95 (1992)
- 64) S. MARUO, H. YAMASHITA, K. MIYAZAKI, H. YAMAMOTO, Y. KYOTANI, H. OGAWA, M. KOJIMA and Y. EZURE : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 1406 (1992)
- 65) S. MARUO, H. YAMAMOTO, M. TODA, N. TACHIKAKE, M. KOJIMA and Y. EZURE : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 499 (1993)
- 66) 藤川茂昭, 岡崎昌子, 松元信也, 古賀邦正 : *澱粉科学*, **37**, 69 (1990)
- 67) B. K. KUBATA, T. SUZUKI, H. HORITSU, K. KAWAI and K. TAKAMIZAWA : *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**, 531 (1994)
- 68) T. OGUMA, T. HORIUCHI and M. KOBAYASHI : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 1225 (1993)
- 69) M. IZUME and A. OHTAKARA : *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 1189 (1987)
- 70) M. IZUME, S. NAGAE, H. KAWAGISHI and A. OHTAKARA : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 1327 (1992)
- 71) 三石 安, 加藤 毅, 小杉佳次 : *平成 5 年度日本生物工学会大会講演要旨集*, p. 227 (1993)
- 72) 三石 安, 小杉佳次 : *農化*, **68**, 575 (1994)
- 73) 徳永隆久, 日高秀昌 : *バイオサイエンスとインダストリー*, **49**, 734 (1991)