微生物による多糖類の生成

主として応用微生物の立場より

原 田 篤 也

(Tokuya HARADA)

大阪大学産業科学研究所

排水処理に使用している砂の層中に“かたまり”ができることがあり、これは *Flavobacterium* などの微生物の生産した多糖類によるものであるといわれている。一般に、畑土などには、微量ではあるが微生物のつくった多糖類が含まれていて、土壌の集合の安定性に関与しているらしい。木の幹の傷口に樹液がかたまっていることが見られるが、そこには多糖類をつくる酵母がほとんど純粋の状態ですべて生育していることもあるという。砂糖工業の汚染菌として、しばしば多糖類をつくる菌があらわれることも古くから知られていた。

さて、このような現象の中から菌が分離され、デキストランという多糖類をつくる工業が生まれてきた。第2次大戦中、タバコの葉の粉に粘り気を与えるためのグリセリンが欠乏し、ある粘質物をつくる微生物の培養液が朝鮮において一部用いられていたが(現 東京教育大学小林達吉教授の考案)、これは今から考えるとデキストランであるらしい。戦後アメリカの学者によってデキストラン工業が成立し、血漿増量剤として用いられているが、現在では日本でも生産されている。デキストランの研究の後を追って、アメリカや日本などで、微生物多糖類を工業的に生産するための基礎および応用的な研究がなされてきた。食品添加物、医薬など新しい用途へ活用しようというのである。寒天やコンニャクのような少し変わった性質をもった価値の高いものができれば面白いし、ある多糖類の抗癌性が問題になっている今日、癌などに効力のあるものが登場してくる可能性もみられる。

微生物の生産する特殊な多糖類を工業的に生産しようという目的以外にも、微生物工業と微生物多糖類との関係には種々の問題があるようである。最近、清酒のもろみに高泡を生成する協会7号酵母が秋山らによって分離されたが、高泡をつくる原因は、その酵母の生産する細胞外層多糖類であるマンナンによるといわれている。清

酒に限らずビールなどでも、酵母のつくる多糖類の製品に及ぼす影響は種々存在することであろう。

ここでは微生物多糖類の生成の種々な問題を取りあげるが、基礎的、応用的な微生物多糖類の種類や生成⁽¹⁻⁵⁾、主として細菌の細胞壁多糖類の生合成⁽⁶⁾、特殊な応用的な微生物多糖類^(7,8)などに関しては、それぞれ多くの総説が発表されている。

I. 多糖類生成の炭素源

多糖類の生成の機構を考えると、グルコースはまず G-6-P になり、ついで G-1-P に変化し、さらに種々なヌクレオチド糖に変化し、このヌクレオチド糖から多糖類が生成されてくる。グルコースを炭素源として、種々異なった構成糖からなる多糖類をつくるためには、グルコースからそれぞれの単糖類のヌクレオチドができなければならない。この場合の代謝の中心となるヌクレオチド糖は UDPG (ユリジン・ジリン酸グルコース) と GDPM (グアニン・ジリン酸マンノース) とである。主な糖のヌクレオチドの生成⁽⁹⁾を示すと次のようになる。

1. $\text{UDPG} \rightarrow \text{UDPgalactose},$
 $\text{UDPglucuronic acid} \rightarrow \text{UDPgalacturonic acid}$
 $\text{UDPN-acetylglucosamine}$
 $\rightarrow \text{UDPN-acetylglactosamine}$
2. $\text{UDPG} \rightarrow \text{UDPglucuronic acid},$
 $\text{GDPM} \rightarrow \text{GDPmannuronic acid}$
3. $\text{GDPM} \rightarrow \text{GDPfucose},$
 $\text{GDPM} \rightarrow \text{GDPcolitose}$
 $\text{TDPG} \rightarrow \text{TDPPhamnose},$
4. $\text{UDPglucuronic acid} \rightarrow \text{UDPxylose},$
 $\text{UDPgalacturonic acid} \rightarrow \text{UDP-L-arabinose}$
5. $\text{UDP-N-acetylglucosamine}$
 $\rightarrow \text{UDP-N-acetylmuramic acid}$

グルコース以外の糖を炭素源としても、グルコースを用いた場合と同様な多糖類ができてくるのが普通で、その場合は各糖相互の変化に関する反応が作用している。

a) 炭素源としてのグルコース

微生物がグルコースを炭素源とした培地で多糖類をつくるためには、まずグルコースを利用して菌体が増殖しなければならない。すでに増殖した菌体によって多糖類が生成される場合にも、図1のごとく、たとえば1個のグルコース分子が多糖類分子に移行するためには2分子のATPを必要とする。したがって、多糖類をつくるためには多糖類合成酵素系と別にエネルギー供給の酵素系が伴われなければならない。そこで、この両者の酵素系がどのように関係しているかを2つの例について説明してみよう。

1つは *Neisseria* に属する細菌で、ラムノースとグルコース (4:1) とからなる多糖類を生成する場合である (図2)⁽¹⁰⁾。この菌にはペントースサイクルはなく、グルコース → グルコン酸 → 6-フォスフォグルコン酸 → 2-ケト-3-デオキシ-6-フォスフォグルコン酸の経路を通り、さらにピルビン酸とグリセリナルデヒド3リン酸とに分解される、いわゆる Entner Doudoroff の代謝系をもっている。この場合、多糖類はほとんどグリセリ

図1 グルコースの多糖類へのインコーポレーションの1例

ナルデヒド3リン酸からつくられるので、種々な炭素の位置の放射性的グルコースを用いての実験からして、C-4、C-5、C-6 の75% は多糖類に移行するが、C-1、C-2、C-3 の場合は9% が多糖類に移行するに過ぎない。このように、基質のグルコースの大部分はいったん分解された後、糖に合成され、さらに多糖類になる。この菌にはヘキソース・ジリン酸フォスファターゼはあるが、フォスフォフラクトキナーゼや G-6-P 脱水素酵素はなく、したがって、いったんできたヘキソースモノリン酸の分解は防げるようになっていて、多糖類生成のために大変都合がよい。

もう1つの研究は、*Acetobacter xylinum* の洗浄菌体によるグルコースからセルロースの生成の場合で⁽¹¹⁾、まずグルコースの大部分はグルコン酸に酸化される。グルコン酸の大部分は6-フォスフォグルコン酸になってペントースサイクルに入り、ペントースリン酸からは F-6-P を通り、さらに G-6-P、G-1-P となり、このものから前述のごとく UDPG ができ、さらにセルロースに合成されるのである。種々な放射性炭素のグルコースを用いての生合成の実験からわかるように、C-1 からセルロースへの移行はごくわずかである。

さて、それでは微生物はグルコースを炭素源とした培地で多糖類をどの程度まで作りうる能力があるであろうか。グルコースなどからの多糖類生産量の多い菌株を表1に示した。この数値よりさらに収率を増大しうるものもあるであろうが、一定培養液中における多糖類の収率は限度があることが多い。それは、多くの多糖類は粘性をもっているため培養液が大きなかたまりになり、攪拌が不十分になり通気ができなくなってしまうためであって、多糖類の性質上やむをえない場合が多い。

図2 *Neisseria* 属細菌によるラムノグルカンの生合成系と末端酸化系⁽¹⁰⁾

表 1 数種の菌株による細胞外多糖類の生産

菌 株	構 成 分	培地の グルコ ース濃 度(%)	生成多糖類 添加グルコ ース (%)
<i>Cryptococcus laurentii</i> NRRL Y-1401 ⁽¹²⁾	マンノース, キン ロース, グルキ ュロン酸, グルコ ース	5	32
<i>Hansenula holstii</i> NRRL Y-2408 ⁽¹³⁾	マンノース, 磷酸 (フォスフォマン ナン)	5	50
<i>Pullularia pullulans</i> S-1 ⁽¹⁴⁾	グルコース (プル ラン)	10*	30
<i>Xanthomonas campestris</i> NRRL B-1449 ⁽¹⁵⁾	グルコース, マン ノース, グルキ ュロン酸, ビルビン 酸	3.3	66
<i>Arthrobacter viscosus</i> NRRL B-1973 ⁽¹⁶⁾	グルコース, ガラ クトース, ウロン 酸, 酢酸	2.5	44
<i>Alcaligenes faecalis</i> var. <i>myxogenes</i> 10 C 3 M ⁽¹⁷⁾	グルコース, ガラ クトース, コハク 酸 (サクシノグル カン)	4	35
<i>Alcaligenes faecalis</i> var. <i>myxogenes</i> 10 C 3 K ⁽¹⁸⁾	グルコース (カ ードラン)	4	45
有孢子細菌 ⁽¹⁹⁾	グルコース, マン ノース, ガラク トース, グルキ ュロン酸	6	30
<i>Aerobacter</i> sp. IFO 12369 ⁽²⁰⁾	ガラクトース, マ ンノース, グル キュロン酸, 酢酸, 高級脂肪酸	5**	40

* シュクロースより, ** ガラクトースより.

グルコースからの多糖類生産には, まず培地中の炭素と窒素の含量の比率が重要で, 窒素含量が高すぎると菌体の生産のほうが盛んになり, 多糖類の生産がわるくなるのが普通である. 次に重要なのは培養中の pH であって, 生育の pH と多糖類の生産のための pH とは必ずしも一致するものではなく, 培地の組成を適当にすることによって, 発酵中の pH を一定範囲の pH に調節させることが必要である.

図 3 サクシノグルカンと菌体の生成の経過

●—● グルコース ○—○ 多糖類収率
×—× 菌体収率

多糖類の生産と菌体の生産との関係をサクシノグルカン生産菌について見ると, 図 3 のごとくになる. 菌体の生産は 1 日培養ではほぼ最高に達するが, 多糖類はむしろ菌体の生産がとまってから後盛んに生産されてくる. したがって, 増殖した菌体を集め, この菌体懸濁液によって窒素源などを加えずに多糖類を生産させることもできる. このような菌体試験によってサクシノグルカンとカードランを生産する場合, 1 mg 菌体当り (乾燥菌体として) 1 時間の反応で, 前者は約 0.087 mg, 後者は約 0.106 mg の多糖類を生産した. *Neisseria* のラムノグルカンの場合は約 0.041 mg である. 実際に培養中では, 生育した菌体 (乾燥菌体として) の約 10 倍量のカードランをつくっている. この菌体懸濁液にクロロマイセチンを加えて反応させると, 糖は消費されているのに多糖類が生成されなくなってしまう. この現象はサクシノグルカンの生成と *E. coli* によるグリコーゲンの生成の場合とに見られ, 多糖類生成に関するある酵素の turn over が非常に速いのではないかと考えられている.

b) 炭素源としての非炭水化物

Leuconostoc mesenteroides がデキストランをつくるにはシュクロースが基質として必要であって, デキストランシュクラゼとよぶ唯一つの酵素によって, シュクロースからグルコースの転移作用によりデキストランがつくられる. ラクトースのみからラムノガラクトンができるなど, まだ機構の説明しにくい例も知られている. これに対して, 多くの多糖類はグルコースのみならず種々な糖類からつくられる. さきに述べた *Neisseria* の場合においては, グルコースが分解されて 3 炭糖磷酸を経た後ヘキソース磷酸が合成され, それから多糖類ができてくる. このように考えると, 微生物は糖類とは異なった化合物, 場合によっては炭素 2 つあるいは 3 つの種々な有機化合物, あるいは炭化水素, 脂肪酸などからも多糖類が収率よく生産されてもよいはずである. 脂肪酸からの生成には, まず β 酸化を経てアセチル CoA がつぎつぎと生成し, これがグリオキシル酸サイクルに入り, アセチル CoA 2 分子からコハク酸ができ, これがフォスフォエノールビルビン酸になり, さらに前述のごとき経路を経て多糖類に合成されるものと見なされている.

ラムノグルカンをつくる *Neisseria* の菌株は, 2,3-ブチレングリコールを, サクシノグルカンをつくる *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* 10 C 3 はエチレングリコールを, それぞれ唯一の炭素源とした培地で分離された菌株であり, またセルロースを生産しうる *Acetobacter xylinum* はエタノールを炭素源として酢酸をつ

くりうる、いわゆる酢酸菌である。これらの菌株はグルコースには劣るものの、ピルビン酸、コハク酸、リンゴ酸などからも多糖類をつくりうるし、エタノールや酢酸からもつくる能力がある。サクシノグルカンはエチレングリコールから20%程度の収率でつくられる。なお、種々なグルコース以外の糖、非炭水化物の化合物を炭素源とした場合においても、生成されてくる多糖類の構造は、一般的にはグルコースからできる多糖類と同じものである。最近、協和醸酵工業株式会社で、*Arthrobacter paraffineus* No. 2411 が $C_{12}\sim C_{18}$ の n -パラフィン混合物から 1 l 中約 8~10 g の糖を生成し、その 70~80% はトレハロースであることが報告されたが、今後は非炭水化物資源から多糖類以外の種々な糖類が生産されることも報告されるであろう。

II. 多糖類中のグルコサイド結合などの生成機構

a) ホモ多糖類中の直鎖のグルコサイド結合の生成

植物においては、セルロースでは GDPG あるいは UDPG、アミロースでは ADPG、 β -1,3 結合から主としてなるカロースでは UDPG と、それぞれ異なった糖ヌクレオタイドからつくられる。これらの生体内における役割が異なっているので、糖供与体としての糖ヌクレオタイドが異なっていることは大変都合よく、多糖類生成の調節がこの段階でなされているのである。微生物においては、貯蔵物質としての細胞内のグリコーゲンは植物のデンプンと同じように ADPG からつくられる。*E. coli* の UDPG を合成できない変異株でも、親株のつくるグリコーゲンと同じもの、しかも量的には親株よりも多量につくることから考えて、グリコーゲンが ADPG よりつくられることは明らかである。また、細菌にはグリコーゲン生成系の ADPG ピロフォスフォリラーゼ、ADPG グリコーゲントランスグリコシラーゼが広く分布している。植物のセルロースとほとんど同じものが、ある酢酸菌や *Sarcina* の菌株によってつくられ、この場合には UDPG が用いられるが、GDPG も効果があるといわれており、植物の場合と似ている。さらに、グルコースのみからなる微生物の多糖類に β -1,2 グルカンと β -1,3 グルカンとが知られている。前者は *Rhizobium japonicum*, *Agronobacter* により細胞外につくられる多糖類であり、UDPG からつくられる。 β -1,3 のグルコサイド結合を 99% 以上含む多糖類としては細菌のつくるカードランが知られているが、その生合成の機構についてはわかっていない。鞭毛虫類である *Euglena gracilis* は細胞内に顆粒として paramylon とよぶ β -1,3

グルカンをつくるが、このものは UDPG からつくられる。

プルランは *Pullularia pullulans* とよぶ酵母のつくるもので、 $\left[\rightarrow_4 G_1 \rightarrow_6 G_1 \rightarrow_4 G_1 \right]_n$ のごとく α -1,4 の結合が2つ付き、その次に α -1,6 の結合が1つ付いた単位からなるグルコースの直鎖状の多糖類である。ニゲランは *Aspergillus niger* のつくる多糖類で、 α -1,3 と α -1,4 のグルコサイド結合が交互に存在する直鎖の多糖類である。サクシノグルカンは *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* 10 C3 のつくる細胞外の多糖類で、 β -1,3, β -1,4, β -1,6 の結合が約 65:25:10 の割合で存在する、主としてグルコースの直鎖状の多糖類であり、糖の C の 6 の位置にコハク酸のカルボキシル基の1つがエステル状に結合している(糖5個にコハク酸1個の割合)。このように、異なったグルコサイド結合の直鎖状になった多糖類の生合成の機構についてはまだ研究されていないようで、それぞれ異なった結合をつくる酵素が別々にあるのか、1つの酵素が異なったグルコサイド結合をもつくるのかなど、興味がもたれている。

b) ホモ多糖類中のグルコサイド鎖分枝の生成

グリコーゲンやアミロペクチンの枝分かれをつくる酵素は Branching enzyme あるいは Q 酵素とよばれ、肝臓や豆で、また酵母や *Arthrobacter* で研究され、酵母の酵素は動物や植物のものより広い特異性をもつといわれている。 $\text{amylose} \rightarrow \text{amylopectin type} \rightarrow \text{glycogen type}$ と2段階を経る。その機構は肝臓の酵素についてよく研究されており、ある長さの α -1,4 のグルコサイド鎖が切れ、転移作用によって $1 \rightarrow 4$ から $1 \rightarrow 6$ 鎖をつくり枝分かれができる。微生物の多糖類で側鎖をつくるものは非常に多く、たとえば、酵母の細胞壁の β -1,3 グルカンやマンナンは、いずれも β -1,6 結合の直鎖に、前者は β -1,3、後者は β -1,2 と β -1,3 の結合で側鎖が多数付いている。この場合、1つの酵素が主鎖をつくり、他の酵素が $1 \rightarrow 2$, $1 \rightarrow 3$ の側鎖をつくるのか、 $1 \rightarrow 2$, $1 \rightarrow 3$ の適当な長さの単位をつくり、これらが $1 \rightarrow 6$ の結合からなるプライマーに付くのかなど、まったくわかっていない。デンプンやセルロースなどの生合成の場合においてもプライマーの問題が種々論議されているが、プライマーの構造ができてくる多糖類の構造をも決めることになるのであろうか。多糖類がつぎつぎと新生していくためには、他方、プライマーが新しく生成してくる機構がなければならぬ。

Saccharomyces carlsbergensis では、マンナンは GDPM からつくられる。側鎖をつくるのではないが、

Corynebacterium ではやや不可解な現象が知られている。それは、*C. tritici* などが天然のデンプンを炭素源として生育したときのみ細胞内にデンプン様物質を生成することであって、基質デンプンがなくなり還元性糖が出てこないで細胞内にデンプンが出現することから、おそらくデンプンの鎖の端からグルコースあるいは他のフラグメントが細胞内に移行し、新しいデンプン分子がつくられたものであろう。この場合、アミロースからアミロースができるのである。これに似た酵素としては、ジャガイモから得られた D-酵素、またマルトースからアミロースをつくる *E. coli* のある菌株の生産するアミロマルターゼ、*B. macerans* のつくる特殊なアミラーゼなどがある。

c) ヘテロ多糖類の異なった単糖類のグルコサイド結合の生成

微生物の多糖類の構成糖としては、グルコース、マンノース、ガラクトース、キシロース、フコース、ラムノース、グルキロン酸、ガラクチュロン酸、マンニユロン酸などが一般に知られており、それぞれの糖に相当した UDPG, GDPG, GDPM, UDPGal, UDPXyl, UDPFuc, UDPRhā, dTDPRhā, UDPGluc, UDPGalac, GDP-Mannur などが微生物に見いだされ、またこれらの糖スクレオタイドを生成する酵素も知られている。さらに、微生物の種々細胞壁多糖類などの特殊な構成糖のスクレオタイドも知られている。マンノースとキシロースとグルキロン酸とからなる多糖類をつくる *Cryptococcus laurentii* NRRL Y-1401 の培養液からは UDPG, GDPM, UDPXyl が分離され、UDPGluc から UDPXyl をつくる UDPGluc 脱炭酸酵素も見いだされている。また、*Arthrobacter* sp. NRRL B-1973 はグルコース、ガラクトース、マンニユロン酸 (1:1:1)、アセチル基 25% からなる β -結合の多糖類をつくるが、この菌からは GDPM をつくる酵素とともに GDPM を GDPMan-nur にする酵素が見いだされている。また多くのカビはキチン様の多糖類をつくるが、*Neurospora crassa* は UDP-N-アセチルグルコサミンからキチンをつくること

ができる。さて、このようにして、ヘテロ多糖類の生成には、まずそれぞれの単糖類に相当した糖スクレオタイドができ、それから多糖類がつくられるのである。この場合、はじめに単位となるようなオリゴ糖ができ、オリゴ糖どうしが結合し多糖類になるのか、順次 1 つずつ単糖類が付き分子が大きくなって多糖類に生長するのかなど、種々の機構が考えられる。しかし、細胞外につくられるヘテロ

図 4 無細胞系での生合成の実験から推定された R-core の構造⁽²¹⁾

多糖類の生合成についてはまだ研究されていない。*Salmonella* などの菌体の表面に存在するリポ多糖類の生合成については、その構造の複雑さにかかわらず、かなりよくわかってきている。この点についてはすぐれた総説⁽²¹⁾があるので、この表題に関する重要な点だけを簡単に述べる。

このリポ多糖類は多くの一般的な糖のほかに特殊な糖によって構成されている。すなわち、KDO (3-deoxy-clulosonic acid, 8 炭糖) や、3,6-デオキシヘキソースであるアベコース、チペロース、コリトース、アスカリロースなどが見いだされている。UDPG をつukれない変異株であるとグルコースから先の部分ができないし、UDPGal をつukれない変異株の場合はガラクトースから先の部分ができない (図 4)。結局、Glc, Gal, Glc, GNAc と糖が 1 つずつそれぞれの糖スクレオタイドから逐次加えられ、つくられていくことになる。ところが、core の先に付くべき糖の場合には、たとえば R-core のすぐ隣の糖、ガラクトースのそれに相当する UDPGal ができたとしても、その先の糖の生成酵素系が欠けていれば R-core にガラクトースは付かない。*Salmonella* の無細胞酵素系に O 側鎖に存在する 3 つの糖、ガラクトース、マンノース、ラムノースを同時に糖スクレオタイドとして与えれば、リポ多糖類と結合した形で O 側鎖が合成される。ところが、1 つでも欠けるとリポ多糖類にほとんど糖が結合してこない。この場合は 1 つずつ糖が付いていく機構ではないので、次の項で、その機構について述べる。

d) 多糖類生合成中間物質としてのリポド

Colvin⁽²²⁾ は酢酸菌および高等植物のセルロース生合成の中間物質としてリポドの存在を唱えたが、リポド中間説を考えると、細胞内で糖スクレオタイドができ、これが細胞壁中のリポドと結びつき、細胞壁を通過し、細胞の表層に出て、そこでセルロースが合成されるという

図5 *Salmonella* のO側鎖の生合成の機構⁽²³⁾

ことで大変理解されやすい。*Staphylococcus aureus* の細胞壁のペプチドグリカンの生合成にも、リピドが中間物質になることが考えられている。また、*Diplococcus pneumoniae* Type XIV の顆粒の標品が抗原多糖類と同時に2つのグリコリピドをつくることが知られ、このグリコリピドがやはり多糖類生合成の中間物質になるのではないかと考えられている。しかし、リピドが多糖類生合成の中間体となることが明確にされたのは、さきに述べたリポ多糖類のO側鎖の生合成機構においてである。図5に示されるごとく⁽²³⁾、ガラクトース、ラムノース、マンノースは直接 core に1つずつ結合していくのではなく、各糖ヌクレオチドからそれぞれの糖がリピドに1つずつ移り加えられた3つの糖が、リピドに付いたままポリメライズされ、そのポリメライズされたものが R-core に転移するのである。そのリピドの構造も明らかにされている⁽²⁴⁾。

e) 糖と糖でない化合物との結合生成

微生物の多糖類には、糖以外に燐酸、酢酸、コハク酸、マロン酸、高級の脂肪酸などがエステルとして結び付いているものが知られている。蛋白質やペプチド、リピドが付いたものも知られているが、細胞外多糖類として集積することは普通には見られないので、ここではふれないことにする。ただ、*E. coli* のリジン要求株がリジンの制限培地でリポ多糖類を細胞外に蓄積することが観察されている。海藻には寒天、カラゲナンなどの硫酸エステルの多糖類が、また動物の軟骨などにはコンドロイチン硫酸などが含まれているが、微生物にはいまだ硫酸多糖類は知られていない。

エノールビルビン酸を 2-フォスフォエノールビルビン

ン酸から UDPGlcNAc 中のアセチルグルコサミンの3の位置に酵素的に転移することが *E. coli* などに見いだされ、この生成物はさらに変化してミューラミン酸になる。*Hansenula capsulata* NRRL Y-1842, *Hansenula holstii* NRRL Y-2448 のつくる細胞外多糖類であるフォスフォマンナンは、マンノースのヘミアセタールのハイドロキシル基と他のマンノースの C₆ のハイドロキシル基との間に燐酸のジエステルの結合をなしている。フォスフォラクタンは *Sporoboromyces* sp. NRRL Y-2493 によってつくられるが、いずれも生合成の研究はなされていない。燐酸のジエステルで結合している多糖類としては、グラム陽性菌の細胞壁に存在している teichoic acid, すなわちポリグリセロ燐酸とポリリビトル燐酸とが知られているが、このものについては活発な研究がなされている。多糖類中の有機酸エステルのできる機構については研究されていない。単糖類に有機酸が先に結合するのか、オリゴ糖が先にできて、これに有機酸がエステルとして結合するのかなど、いまだ不明である。

III. 多糖類生成の調節

微生物は一般に、培地に多量のグルコースが存在する場合には細胞内にグリコーゲンのような貯蔵多糖類をつくる。また、細胞壁には微生物の種類に応じて種々な多糖類が含まれており、細胞の増殖に伴って細胞の構成成分として生成されてくる。*E. coli* の細胞壁の構成糖であるラムノースのヌクレオチド TDPPrham は TDPG からつくられるが、TDPPrham によって TDPG を生成する酵素 TDPG ピロフォスフォリラーゼが阻害される。このような機構によって、必要以上にラムノースが生成されないように調節されている。これに対して、前述したごとく、ある微生物ではグルコースなどが培地に多量に含まれていると、その微生物に特有な多糖類を細胞外に多量に生成蓄積する。このような多糖類を微生物はなんのためにつくるのかは、種々推測はできるものの、明確な解答を与えることはむずかしいようである。ただ、このような多糖類の中には私たちの生活に役立つものがあるように思えるし、またグルコースなどからの収率もよいので、さらにそれらの多糖類生成の調節機構をさぐり、その機構を応用して新しい多糖類生産の方式を考えていきたい。

グリコーゲン生成の調節

動物においてはグリコーゲンの生成および分解の調節機構が巧みになされており、それによって血糖の値が正常に保たれていることがよく知られている。これに対し

て、植物におけるデンプンの生成と分解の調節機構においては、ホウレン草のクロロプラスト中の ADPG ピロフオスフォリラーゼが、3-PGA, PEP, F-D-P など解糖系の中間代謝物質によって著しい促進効果をうける。これと同様な調節機構は、微生物においてすでに知られていた⁽²⁵⁾、すなわち、*Arthrobacter*, *Rhodospirillum rubrum*, *Agrobacterium tumefaciens* の ADPG ピロフオスフォリラーゼは F-6-P, ビルビン酸, R-5-P, G-6-P によって、また *E. coli*, *A. aerogenes* のそれは F-1, 6-P, グリセリンアルデヒド-3-P, フォスフォエノールビルビン酸によって、それぞれ活性化される。解糖系の酵素が活発に働き、その中間代謝物質の量が増大すると、その影響をうけて ADPG の合成が活発になり、終局はグリコーゲンの生成が増大するしくみである。この場合、ADPG からグリコーゲンをつくるグリコーゲンのトランスグリコシラーゼの作用は、これらの中間代謝物質によって影響されない。

IV. 多糖類の生成に関する変異

多糖類の生成に関して古くから多くの細菌について知られている現象は、S の正常株のものが R の変異株へ変異することであって、dissociation とよばれ、細胞壁あるいはカプセルの多糖類に関しての変異である。液体培地では、S 株は一樣に混濁してくるが、R 株ではかたまって沈澱するなどの差が見られる。このような変異に注目して、*Salmonella* などの細胞壁の多糖類生成に関しての変異株が多数とられ、そのリポ多糖類の生成機構、構造などが明らかにされてきた。さらに *Pneumococcus* の多糖類、*Xanthomonas* のエンドトキシンのヘテロ多糖類の構造、生成機構に関しても、変異株を用いての研究が大いに役立っている。

Acetobacter xylinum によるセルロースの生成に関し

表 2 *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* の種々な変異株によるサクシノグルカンとカードランの生成⁽²⁶⁾

菌 株	サクシノグルカンの生成量 (mg/100ml)	カードランの生成量 (mg/100ml)	乾燥菌体生成量 (mg/100ml)	糖の消費率 利用された糖 添加した糖
親 株 M	1,670	390	174	100
変異株 22	1,970	14	108	100
〃 53	740	840	101	88
〃 25	550	1,840	125	100
〃 29	90	2,400	128	100
〃 K	0	2,050	179	100
〃 11	0	590	122	72
〃 60	0	580	150	70
〃 71	130	0	72	18

ても、セルロース生成能のない変異株が数多く知られており、それらの変異株はまた他の生理的性質においても非常に異なっていたりするが、この変異株を用いての生化学的な研究はなされていない。*Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* 10 C 3 の多糖類生成に関しての変異株は、ニトロソグアニジン処理をした後、コロニーの外観的な相違によって得られた。それらの変異株には、表 2 のごとく⁽²⁶⁾、サクシノグルカンをつくらなくなりカードランのみをつくるもの、カードランをほとんどつくらなくなったもの、そのほか中間的な変異株が得られている。カードランは 99% 以上 β -1,3 のグルコサイド結合からなる直鎖の多糖類であり、サクシノグルカンは前記のごとく β -1,3 と β -1,4 と少量の β -1,6 のグルコサイド結合をもった直鎖の多糖類で、コハク酸を約 10% 含んでいる。したがって、カードランはサクシノグルカンから単にコハク酸がとれたという多糖類ではないので、これらの変異株によるサクシノグルカンとカードランの生成機構、またその調節機構を、遺伝生化学的に明らかにすることに興味がもたれている。変異株 K は長くエチレングリコールの培地で培養保存をつづけた結果得られた変異株であり、*Acetobacter xylinum* のセルロース生成に関する変異株が容易に自然に得られた事実などとあわせ考えると、多糖類生成に関しての変異株は一般にかなり容易に得られるもののようである。結局、そのような多糖類の生成は微生物自体の生死とはあまり関係がないためであろう。しかし、私たちが種々な多糖類を役立たせていこうとする場合に、変異によって親株とは異なった種々な多糖類を生産する可能性が考えられることは重要かつ興味あることである。粘稠な酸性多糖類であるサクシノグルカンを多量につくる親株が変異によってその多糖類をつくらなくなり、加熱するとかたまるコンニャクあるいは寒天にも似た中性多糖類カードランをつくるようになったことは、将来の多糖類の生産研究に新しい方向を与えるものと考ええる。

今まで述べてきたように、微生物の多糖類の生成機構について詳しく研究されているのは、細胞外に多量につくられる多糖類についてではなく、細胞壁あるいは菌体表面に存在する多糖類についてである。このような多糖類は免疫と関係があり、医学者や生化学者の研究対象となっている。また、応用微生物学者にとっては、培養液中に多量に生産される多糖類か、なんらかの生理作用をもった多糖類に、より多くの興味がひかれるのである。多糖類の有機化学的な構造研究は、セルロース、デン

ブ、グリコーゲンから始まり、種々な植物の多糖類、最近では動物のグリコペプチド、グリコプロテイン、グリコリピドなどが盛んに研究されている。これらの多糖類の研究も、単に有機化学的な手法のみでは有機化学的な構造を知ることすら困難で、生理学的に、生化学的に、その多糖類の生合成や特殊な酵素による分解などに関しての知見が得られなければならない。有機化学、生化学、遺伝学、生理学、あるいは栄養学、薬学、食品学の多方面より多糖類を総合的に研究していくことによって、新しい未知の問題が数多くうまれてくるものと思う。こうした微生物多糖類の総合的な研究は、単に応用面に新しい発展の可能性を与えるのみでなく、多糖類の基礎研究にも大きな貢献をしていくことであろう。

文 献

- 1) 原田篤也：醸工，42，644 (1964).
- 2) 原田篤也：醸酵協会誌，23，440 (1965).
- 3) 三崎旭：高分子，17，569 (1968).
- 4) R. F. Anderson: "Biochemistry of Industrial Micro-organisms", ed. by C. Rainbow & A. H. Rose, Academic Press, 1963, p. 300.
- 5) N. Sharon: *Annual Review of Biochem.*, 35, 485 (1966).
- 6) B. L. Horecker: *Annual Review of Microbiol.*, 20, 253 (1966).
- 7) 原田篤也：高分子，16，1197 (1967).
- 8) 藤原脩雄，篠田晃：高分子，16，1192 (1967).
- 9) V. Ginsburg: *Advan. Enzymol.*, 26, 35 (1964).
- 10) W. H. Taylor and E. Juni: *J. Bact.*, 81, 694 (1961).
- 11) M. Schramm, Z. Gromet and S. Hestrin: *Nature*, 179, 28 (1957).
- 12) M. C. Cadmus, A. A. Lagoda and R. F. Anderson: *Appl. Microbiol.*, 10, 153 (1962).
- 13) R. F. Anderson, M. C. Cadmus, R. G. Benedict and M. E. Slodki: *Arch. Biochem. Biophys.*, 89, 289 (1960).
- 14) S. Ueda, K. Fujita, K. Komatsu and Z. Nakashima: *Appl. Microbiol.*, 11, 211 (1963).
- 15) S. P. Rogovin, R. E. Anderson and M. C. Cadmus: *Biochem. Microbiol. Technol. & Eng.*, 3, 51 (1961).
- 16) M. C. Cadmus, H. Yasdorf, A. A. Lagoda, R. F. Anderson and R. W. Jackson: *Appl. Microbiol.*, 11, 488 (1963).
- 17) T. Harada, T. Yoshimura, H. Hidaka and A. Koreeda: *Agr. Biol. Chem.*, 29, 757 (1965).
- 18) T. Harada, K. Fujimori, S. Hirose and M. Masada: *Agr. Biol. Chem.*, 30, 764 (1966).
- 19) 二宮英治，木崎忠重，花田香一：農化，42，178 (1968).
- 20) 三崎旭，金丸志津子，磯野正雄：生化，39，542 (1967).
- 21) 二階堂博：蛋白質 核酸 酵素，12，1446 (1967).
- 22) J. R. Colvin: *Can. J. Biochem. Physiol.*, 32, 1921 (1961).
- 23) M. Dankert, A. Wright, W. S. Kelley and P. W. Robbins: *Arch. Biochem. Biophys.*, 116, 425 (1966).
- 24) A. Wright, M. Dankert, P. Fennessey and P. W. Robbins: *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 57, 1798 (1967).
- 25) L. Shen and J. Preiss: *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, 17, 424 (1964).
- 26) T. Harada, A. Amemura, H. Saito, S. Kanamaru and A. Misaki: *J. Ferment. Technol.*, 46, 679 (1968).

今日の話 題

植 物 の 硝 酸 還 元

— その光還元を中心として —

いうまでもなく、人間を含めたすべての動物の食物のほとんど全部は、直接間接に緑葉の営む光合成反応によって生産されたものにほかならない。植物の根によって吸収された硝酸も、たいていの場合、その大部分はそのままの形態で合成反応の場である緑葉に移行され、そこで還元されてアンモニアとなり、さらにアミノ酸、蛋白質へと同化されるのであるが、ここでは硝酸還元を広義に解釈し、文字どおりの硝酸の還元と、その生成物である亜硝酸の還元の両過程について、とくにその光合成的還元を中心に、最近の話題をひろってみたい。

硝酸還元反応は、次のような反応より成り立っている。まず、硝酸は硝酸還元酵素の助けをかりて還元物質より水素をもらい、自身は亜硝酸となる。この亜硝酸はさらに亜硝酸還元酵素の助けをかりて還元物質より水素をもらい、最終的にはアンモニアとなる。それでは、両還元反応の還元物質とは一体何であろうか。緑葉から精製された硝酸還元酵素に対する水素供与体としては、現在のところ NADH, NADPH, FADH₂, FMNH₂ のほかに、人工的な viologen 色素の還元型があげられている。ここにあげた生理的な補酵素は植物体内の各種異化的代謝反応において生成されるが、これらの還元補酵素生成反応と硝酸還元反応とが共役したときに硝酸が還元される。しかし、どのような異化的還元補酵素生成反応と共役しているかは、現在のところ何も知られていない。1つの確かな共役反応は、光合成電子伝達系により生成される NADPH が大豆葉から精製された硝酸還元酵素との共同作用で硝酸を還元するという反応である。この発見 (1953) は還元力を光合成電子伝達系に求める契機となり、その後活発な研究が行なわれた。その結果、大豆