天然高分子の生成反応

瓜 生 敏 之*・畑 中 研 一**

The Biosynthetic Reaction of Natural Polymers.

Toshiyuki URYU* and Kenichi HATANAKA**

Biosynthetic reactions of natural polymers such as polysaccharides, oligosaccharides, and natural rubber are reviewed focussing on the mechanism of polymer formation and the enzymic reaction. Polysaccharides including cellulose, starch, chitin, and dextran are produced by the reactions of glycosyltransferases, isomerases, and phosphatases. There are two synthetic schemes in the formation of bacterial polysaccharides, i.e., monomeric mechanism and block mechanism. In the former mechanism, the polysaccharide chain grows from its non-reducing end. In the case of dextran biosynthesis, it is assumed that two equivalent active sites exist in the polymerizing enzyme and the growing polymer chain is transferred one site after the other. Oligosaccharide chains linked to proteins change their structures by the action of various glycosyltransferases during the biosynthetic reaction leading to the final structure. Starting from the carbohydrate as low material, *cis*-polyisoprene is synthesized by condensation of isopentenyl pyrophosphate and allyl pyrophosphate.

天然高分子は核酸、タンパク質、多糖という比較的簡単な構成単位から成るものから、糖タンパク、糖脂質のように複合重合体に至るまで複雑多岐に亘る。タンパク質の生合成は核酸制御であるので、近年比較的解明が進んでいる。糖類の生合成は酵素によって行われるので、個々の酵素の構造や反応解析がされなければ、解明に到達しない。一般に細胞から取り出された酵素は不安定であるため、また結晶化する酵素はそれ程多くないことなどから、酵素の反応部位の同定は困難である。しかも、天然高分子の生合成は非常に多くの酵素系を含む細胞の

中で行われるので、解析は益々複雑になる。

ここでは、多糖、オリゴ糖、およびゴムの生合成につき、酵素が行っている反応に主眼を置いて、天然高分子生合成のメカニズムに触れる。

1. 多糖

1.1. セルロースの生合成(Biosynthesis of cellulose)

植物の細胞膜の主成分を成すセルロースは、 β -1,4 結合した D-グルコピラノースのポリマー、即ち (1 $\rightarrow$ 4)- β -D-グルカンである。最近でこそその溶媒が発見され

セルロース

* 東京大学生産技術研究所 ()

* Institute of Industrial Science, University of Tokyo ()

** 東京工業大学工学部生体分子工学科 ()

** Department of Biomolecular Engineering, Faculty of Engineering, Tokyo Institute of Technology ()

たが、セルロースは水不溶性で有機溶媒にも不溶である。従って、水系の細胞がどこでどのようにセルロースを生合成しているかに興味を持たれる。グルカン鎖は天然には単一鎖として殆ど存在せず、何本かの高分子鎖が束になったマイクロフィブリルとして産生される。酵素コンプレックスは、特殊な触媒サイトから同時に多数のグルカン鎖を合成できるようなものである筈である。

細胞壁中に酵素と推定されるタンパク質の存在を

Fig. 1 Steps in biosynthesis of alga cellulose microfibrils²⁾.

- - - - - : Golgi cisternal membrane

- - - - - : Cell membrane

○ : Cell component

□ : Growing cellulose

Sadava と Chrispeelo はオートラジオグラフィーを使って初めて見出した¹⁾。その後、多くの研究が多糖生成の細胞化学的研究について行われた。Brown らは海藻の細胞内にあるゴルジ装置につき、細胞壁薄片の組み立てと輸送に果たす役割を調べた²⁾。この薄片は3つのサブユニットから成り立っており、(a)ガラクトースと酸性硫酸化多糖に富むマイクロフィブリルの放射状網目構造、(b)ヒドロキシプロリンに富むペプチドと結合したセルロースマイクロフィブリルのらせん状網目構造、および(c)酸性多糖に富む非晶性被覆物質である。細胞内におけるセルロースマイクロフィブリルの形成過程を合成器官と結びつけて図1に示す。小胞体で始まるセルロース前駆体はゴルジ装置内のいくつかの器官によって合成が進み、形質膜まで運ばれ、細胞外へ放出される。成長中のセルロース分子を染色あるいは標識することによって電子顕微鏡で観察され得る。それによって、長さ14 μm に達するセルロースマイクロフィブリルの合成は、ゴルジ装置の槽内で起ることが見つかった²⁾。

セルロースを生合成する酵素セルロースシンターゼおよび化学反応についても多くの研究がある。セルロースを産生するバクテリア *Acetobacter xylinum* から、比較的安定なセルロースシンターゼが取り出せるので、*A. xylinum* はよく使われる。Glaser は細胞を含まない *A. xylinum* からの微粒子によって初めてウリジン二リン酸グルコース (UDP-D-グルコース)-¹⁴C から、セルロースを生合成した³⁾。高等植物やエナリからの酵素系を使って、Hassid らはグアノシン二リン酸グルコース (GDP-D-グルコース) からセルロース合成に成功した⁴⁾。セルロースシンターゼの種類によってグルコース源とし

て UDP-グルコースあるいは GDP-グルコースを使うわけである。バクテリアの場合、セルロースシンターゼの含まれている細胞内位置は、細胞外膜という説⁵⁾もあったが、*A. xylinum* の細胞膜およびその外側の細胞外膜を単離して調べたところ、前者にシンターゼ活性が主に見られたので、細胞膜に含まれていると結論された⁶⁾。

Benziman らは、*A. xylinum* の細胞からセルロースシンターゼ (UDP グルコース : 1,4- β -D-グルカン 4- β -D-グルコシルトランスフェラーゼ) を抽出する際、20% のポリエチレングリコール-4000 (PEG-4000) の存在下で行うと、酵素活性が3~10倍高くなることを見出した⁷⁾。この酵素を使って GTP と PEG 存在下でセルロース合成を行わせた時、酵素抽出後の破碎細胞の上澄液に含まれるタンパク因子が、酵素活性を既報値より200倍も高めた。グアノシン三リン酸 (GTP) は活性化剤と考えられた。この反応系に対して1982年に提案された反応機構は式(1)である。

活性化剤 GTP の存在下では、酵素 E はタンパク因子 F によって活性化され、同時に GTP とも結合し、活性化型セルロースシンターゼとなる。これは平衡反応なので、

フリーのEも存在する。ここにPEGが加えられると平衡をコンプレックス側へ動かし、活性型E-F-GTPコンプレックスの存在量が大きくなる。即ちPEGはE-F-コンプレックスを形成させる。また別の実験で低濃度の Ca^{2+} がタンパク因子と酵素の会合を促進するPEGと類似の作用を示すらしいというデータも得られているので、*in vivo*ではカルシウムカチオンが、同様の作用を持つことが考えられる。

1987年、Benzimanらは上記のセルロースシンターゼ活性化機構についての正確な実験結果と作用機構を解明した⁸⁾。GTPから酵素合成されたビス-(3'→5')-サイクリックジグアニル酸(-5'G3'P5'G3'P-)がセルロースシンターゼの活性剤であることが見出されたことから、そのことが判明した。図2に示すように、恐らく細胞膜

に結合しているジグアニレートサイクラーゼが2モルのGTPからサイクリックジグアニル酸(c-di-GMP)を合成する。出来たc-di-GMPはセルロースシンターゼに結合して、それを活性型に変える。ジグアニレートサイクラーゼは膜洗浄液上澄から精製された。即ち、それ自身が活性剤と考えられたGTPは真の活性剤である環状二量体に変換されており、また、結合すると推定されたタンパク因子は、GTPの変換酵素であったわけである。 Ca^{2+} の作用は環状二量体の分解防止である。セルロースの前駆体はUDP-グルコースであることは確定している⁹⁾。

直鎖状細菌多糖の生成には2つの機構があることが示されている¹⁰⁾。「単量体機構」と「ブロック機構」である。

スキーム1aに示される単量体機構は二糖繰返し単位から成る多糖-(B-A)_nの生成を例にとっている。糖ド

Fig. 2 Activation mechanism of cellulose synthase.

Scheme 1 Mechanism of bacterial polysaccharide chain assembly^{10c)}.

ナー、Z-A または Z'-B, は膜結合糖アクセプターに結合する。この合成には最低 3 つのグリコシルトランスフェラーゼが関与している。開始段階で Z-A はポリマー鎖 Y と反応して A-Y となり、次に Z'-B が末端 A ユニットの認識するグリコシルトランスフェラーゼの働きで結合し、B-A-Y となる。最後に別のアクセプターの結合または図 1 で説明された細胞外放出によって、反応は完結する。ポリマー鎖は非還元末端から生長することが知られている。(式 2) はモノプレニルジサッカライド二リ

ン酸 $\alpha\text{-Rha-(1}\rightarrow\text{3)-}\alpha\text{-Gal-pp-Mpr}$ と GDP-Man を酵素反応させると、マンノースが非還元末端についた三糖誘導体が生合成されることを示している。二糖誘導体がマンノースのアクセプターとして働いた。

スキーム 1b はブロック機構を説明している。ポリプレニルリン酸 p-Y はアクセプターとして、そしてヌクレオシドグルコシル二リン酸 A-ppN はドナーとして作用する。途中で出来た n 個の B-A-pp-Y が反応して $(\text{B-A})_n\text{-pp-Y}$ を与えるので、ブロック機構と呼ばれる。ブロックが結合する際、ポリマー鎖の還元末端の方から挿入されていく。

セルロースの化学合成は、古くから多くの研究者によって研究された。グルコースやグルコース誘導体の重縮合法によっては高分子量体が得られず、また β 型立体配置の制御もできない。無水糖の開環重合法によって、セルロースの合成は試みられたが、成功しなかった^{11,12)}。代りに、1,4-無水リボース誘導体の選択的開環重合によって、セルロース型多糖 $(1\rightarrow4)\text{-}\beta\text{-D-リボピラン}$ は化学合成できるようになった¹³⁾。リボースの特殊な立体配置が、重合の立体制御に必要であり、これと似た

タロースの誘導体もセルロース型多糖を開環重合によって与えることが分った¹⁴⁾。

1.2. でん粉(Starch) でん粉は、直鎖状 $(1\rightarrow4)\text{-}\alpha\text{-D-グルカン}$ であるアミロースとその骨格に分枝のついたアミロペクチンの混合物である。

でん粉合成には多くの酵素が関係している。トランスフェラーゼ(重合酵素)、異性化酵素、リン酸化酵素などが、とうもろこしの生長過程のある日数で、存在量や活性が高まることを見出され、それらの生合成における役割が提案された¹⁵⁾。

最近、Keeling らは、 ^{13}C 標識グルコース $[1\text{-}^{13}\text{C}]$ および $[6\text{-}^{13}\text{C}]$ —と ^{13}C NMR 分光学を使って、小麦粒におけるでん粉の生合成を詳細に調べた¹⁶⁾。それによれば、C1 または C6 に標識した場合、 $\text{C1}\leftrightarrow\text{C6}$ 間に ^{13}C の再分布は見られるが、C2~C5 には ^{13}C は移動しなかった。図 3 に示すように、でん粉は ADP グルコースからスターチシンターゼによって作られる。この生合成系では、スクロース(ショ糖)の合成系も共存しており、またグルコース $\leftrightarrow$ フルクトース間の変換およびトリオースリン酸(G3P)へ分解再結合する酵素もある。このトリオースへ分解し再結合するとき、ヘキソースの両末端 C1 と C6 の入れ換えが起こるわけである。でん粉形成体(amyoplast)内には 2 つの酵素 ADP-グルコースピロフォスホリラーゼとスターチシンターゼが存在する。

1.3. キチン(chitin) キチンは $N\text{-アセチルグルコサミン(GlcNAc)}$ の $\beta\text{-1,4}$ 結合したポリマーである。これは、セルロースの C2 の OH が NHCOCH_3 に置換している。キチンは菌類、昆虫、エビ・カニなどの主要な構成成分である。特に菌類の細胞壁の主成分であるので、キチンシンターゼはよく研究されている。ビール酵母菌からディギトニンで抽出されたキチンシンターゼは、不活性型であるので、トリプシンで処理して活性型に変えられた¹⁷⁾。活性酵素の存在下、UDP-GlcNAc や他の成分と培養するとキチンが生成した。取り出したままの酵素は分子量 Mr 570,000 であるが、精製すると Mr 63,000 の主成分になる。

キチンシンターゼの遺伝子配列が解明された¹⁸⁾。この遺伝子は 3,400 塩基から成り、130 kd(分子量 13 万)のタンパク質の情報を持つ。約 1,100 アミノ酸残基から成るタンパク質であるが、最初から 226 番目までのアミノ酸連鎖は触媒作用に関与していない。しかしながら、この遺伝情報を持たない菌株は、*in vitro* ではキチンシンターゼ活性を示さないのは当然としても、*in vivo* では普通レベルのキチンを含むことが分った。このことは第 2 のキチンシンターゼの存在を意味している。

Fig. 3 Starch biosynthesis¹⁶⁾.

G1P, glucose-1-phosphate, UDP (ADP) glucose, uridine (adenosine) diphosphate glucose, F6P, fructose-6-phosphate, DHAP, dihydroxyacetone phosphate, G3P, glyceraldehyde-3-phosphate, S6P, sucrose-6-phosphate.

第2のキチンシンターゼ(キチンシンターゼ2, Chs 2)の遺伝子が見つけれ、遺伝子操作によって必要量の酵素が合成された¹⁹⁾。この酵素も酵素前駆体として合成される。また、酵素活性は酵母内と同じように Co^{2+} や Mg^{2+} によって増加する。しかし、この酵素の重合活性部位は未だ決定されていない。

1.4. デキストラン(Dextran) デキストランはスクロースから *Leuconostoc mesenteroides* などのバクテリアで作られている(1→6)- α -D-グルカンである。このバクテリアはショ糖のあるところに存在する普遍的な菌である。虫菌の原因でもあるので、歯科学の分野でもその生合成は研究されている。Robyt らはデキストラン合成の化学反応を考察した²⁰⁾。彼らは、酵素デキストランスクラーゼの分子内に2つの等価なルイス塩基 X_1^- , X_2^- があって、開始段階でこれらがスクロースのグルコースのC1を攻撃して、グルコシル結合を形成するという説を提案した(図4)。次の過程では、C6の水酸基がもう片方のグルコースのC1炭素と反応し、2量体の結合した活性サイトが出来る。この反応は X_1 と X_2 の間で交互に起こるので、その際ポリマー鎖が動くことになる。塩基として $-\text{OPO}_3^-$ が考えられている。スクロースが切れてフリーのフルクトースが生成する際、酵素中の $-\text{NH}_3^+$ がそれを助ける。C3位に枝をもつ分枝デキストランがしばしば生成するが、それは生長中のデキストラン—酵素コンプレックスの近くにドナー側のグルコースのC3の水酸基が接近するような立体配置をとり易いからと説明している。

図4で示される、デキストランとグルコースが共に酵

Fig. 4 Dextran biosynthesis by dextransucrase²⁰⁾.

素中に共有結合しており、またグルコースのデキストランへの付加が還元末端へ起こることは、証明された²¹⁾。Streptococcus mutans 6715 からの酵素グルコシルトランスフェラーゼによって、 ^{14}C スクロースからデキストランを生合成させた。得られた ^{14}C デキストラン—酵素コンプレックスを酸加水分解して ^{14}C デキストランを取り出す。 ^{14}C デキストラン中の還元末端(=酵素に結合していた) ^{14}C グルコースおよび高分子鎖途中の

Fig. 5 Hydration mechanism of (Z)-3,7-anhydro-1,2-dideoxy-2-deutero-D-galacto-oct-2-enitol (1) with β -D-galactosidase²⁴⁾.

[^{14}C]グルコースの割合を定量することによって、還元末端付加機構が正しいことが分った。

デキストランの化学合成は、1,6-無水グルコース誘導体のルイス酸触媒による開環重合法を見つけて、1966年 Schuerch によって成功された²²⁾。無水糖の開環重合は、その後筆者らによって種々の多糖の化学合成へ展開された²³⁾。

1.5. グリコシダーゼの反応部位 N -アセチルムラミン酸と N -アセチルグルコサミンの間の β -1,4-ムラミド結合を切るリソチームは、構造や活性部位が解析され、2つの触媒機能基を含むことが示された。類似のグリコシド結合切断酵素である β -D-ガラクトシダーゼについても、反応機構が調べられた²⁴⁾。図5に示すように、 β -D-ガラクトシダーゼを使って、(Z)-3,7-アノヒドロ-1,2-ジデオキシ-2-デューテリオ-D-ガラクト-オクト-2-エニトール(1)の水和による 2-(S)-1,2-ジデオキシ-2-デューテリオ-D-ガラクト-3-オクチロピラノースの生成が観測された。1のプロトン化反応はピラノース面の上から起こって、次に水酸基が β に入る。この反応には糖残基の安定化にもう一つの塩基が必要であると考えられ、この酵素反応はバイラテラルモデルで進行すると推定されている。塩基としてアスパラギン酸などのもつカルボキシル基が、触媒作用を行うと考えられている。 α -ガラクトシダーゼについても、2つのカルボキシル基による触媒作用によることが、禁止剤を使う実験から推定されている²⁵⁾。

2. オリゴ糖の生合成

多糖の生合成が、一般的に一種類の酵素による同一糖の縮合が基本の反応になっているのに対して、オリゴ糖の生合成では、異なる酵素が順次働いて単糖分子の一つ一つを個別に結合させ、複雑な構造のヘテロ糖を合成している。また、オリゴ糖はその殆んどが糖タンパク質の一部としてタンパク質に結合している。ただし、酵素の基質が糖ヌクレオチド(または脂質結合糖)であるという点において多糖の生合成と一致しており、酵素による認

識に、ヌクレオチド部分が非常に重要な役割を果たしていることがわかる。

よく知られているように、糖タンパク質のタンパク部分はリボソームで合成され、オリゴ糖部分はタンパクがリボソームから遊離した後、ゴルジ体において導入される。即ち、オリゴ糖はペプチド鎖の合成が完了してから別の部位で生合成されているのである。

糖タンパク質中のオリゴ糖は2種類に大別される。一つは、ペプチド鎖中のアスパラギン残基のアミド窒素に N -グリコシド結合した N -結合型オリゴ糖である。もう一つは、セリンやスレオニン残基の水酸基またはヒドロキシルリジン残基の水酸基に O -グリコシド結合した O -結合型オリゴ糖である。ここでは、脂質結合中間体を経る複雑な合成経路をたどる N -結合型オリゴ糖の生合成を中心に述べる。

N -結合型オリゴ糖合成の初期段階において、ドリコールと呼ばれる脂質が重要な役割を果たす。ドリコールは、重合度 18~22 のポリイソプレンであり、糖リン酸と結合する α 位が飽和している。

glycosyl-phosphoryl-dolichol

オリゴ糖の合成はドリコール-リン酸(Dol-P)へのウリジン二リン酸 N -アセチルグルコサミン(UDP-GlcNAc)からの GlcNAc-P の転移に始まる(スキーム2)。生合成の機構の解明、あるいは制御された糖鎖の合成という目的で酵素阻害剤の研究がなされているが、Dol-PP-GlcNAc の生合成はツニカマイシンという抗生物質によって阻害される²⁶⁾。ツニカマイシンは糖ヌクレオチドに構造の類似した物質であり、糖転移酵素(GlcNAc transferase I)が基質の“形”を認識していることがわか

Scheme 2 Pathway of biosynthesis of *N*-linked oligosaccharide portion.

る。しかしながらツニカマイシンは、2番目の GlcNAc を結合させる酵素 (GlcNAc transferase II)²⁷⁾ やマンノース (Man) 上への GlcNAc 転移を行う別の GlcNAc トランスフェラーゼ²⁸⁾ は阻害しない。一方、GlcNAc transferase II による2番目の GlcNAc 転移反応は UDP 添加により逆反応を起こす²⁹⁾。

ドリコール上に *N,N'*-ジアセチルキトビオースが合成されると、次に β -マンノシルトランスフェラーゼが働き、 β -マンノシル化された三糖が合成される³⁰⁾。この反応の基質は GDP-Man である³¹⁾。続いて、種々の α -マンノシルトランスフェラーゼの作用により GDP-Man を基質として、Dol-PP-(GlcNAc)₂Man₅ が合成される。さらに、別の α -マンノシルトランスフェラーゼにより Dol-PP-(GlcNAc)₂Man₉ が合成されるのであるが、この場合の基質は GDP-Man ではなく、Dol-P-Man である。Dol-P-Man は酵素によって GDP-Man から合成されるが、この反応は可逆反応である³²⁾。脂質結合オリゴ糖合成の最終段階は α -グルコシルトランスフェラーゼによる3つのグルコースの導入である。基質は Dol-P-Glc であり、生成物は Dol-PP-(GlcNAc)₂Man₉Glc₃ である。

以上に述べた様な生体内の脂質結合オリゴ糖は、脂質結合単糖 (例えば Dol-P-Man) との溶解度の違いにより発見された³³⁾。

このようにして脂質上に合成された14糖はここで初め

てタンパク質と出会うのである。オリゴサッカライドトランスフェラーゼの働きによって、ポリペプチド鎖中のアスパラギン残基上に14糖が転移されると、続いて、“processing”と呼ばれる過程を経る。即ち、種々の加水分解酵素や糖転移酵素が働き、独自の糖鎖へと修飾されていくのである。

タンパク質上に転移したオリゴ糖は、グリコシダーゼ I により α -1,2 結合したグルコース一分子が加水分解される。次に、グリコシダーゼ II により、 α -1,3 結合したグルコース2分子が加水分解される。グリコシダーゼ II による反応は、Glc α (1 $\rightarrow$ 3)Glc の加水分解速度が速く、Glc α (1 $\rightarrow$ 3)Man の加水分解速度は遅いとされているが、グルコース—マンノース間の結合がグリコシダーゼ II によって切断されるかどうかは定かではない。最近になって、Glc α (1 $\rightarrow$ 3)Man が二糖のままでオリゴ糖 (12糖) から加水分解される酵素がラット肝中に発見された³⁴⁾。

このように、ドリコール上のオリゴ糖に最後に結合したグルコース3分子は、オリゴ糖がタンパク質に転移した後に全て例外なく加水分解される。この一見無駄とも思える反応を生物は行っている。このことに関して次のような研究が報告されている。ドリコール結合オリゴ糖をタンパク質に転移する酵素を単離して、その性質を調べると、基質となるオリゴ糖からグルコースを切り離したオリゴ糖は、ドナー活性を著しく低下させた^{35,36)}。したがって、グルコース残基は、少なくとも酵素 (オリゴサッカライドトランスフェラーゼ) による基質認識に対して何らかの役割を果していると考えられる (図6)。

タンパク質上のオリゴ糖は、グルコースが加水分解された後、幾つかのマンノシダーゼ、*N*-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ等の働きにより個別のオリゴ糖へと変換されていくのである。これらのオリゴ糖を大別すると、マンノース残基の残り方により、ハイマンノース型、コンプレックス型、ハイブリッド型の3種が存在する。

興味深いのは、同一のタンパク質上に何種類もの *N*-結合型オリゴ糖鎖が存在することである。このことは、同じ時に同じ場所に存在するオリゴ糖において、あるオリゴ糖鎖は酵素 (加水分解酵素あるいは転移酵素) による修飾を受け、別のオリゴ糖は修飾を受けないことを意味する。従って、糖鎖合成に関わっているある種の酵素は、オリゴ糖そのもののみならず、そのまわりのペプチド配列を認識していると思われる。

例えば、一般にウイルスには糖鎖合成酵素に関する遺伝子は見当たらないが、ウイルスタンパク上に糖鎖が存

Fig.6 Proposed sequence of the synthesis of complex-type oligosaccharides³⁷⁾.

在し、重要な役割を果している。ウイルスは、宿主細胞の酵素を用いて糖鎖を合成していると考えられるが、酵素がペプチド部分の配列を認識して作用することによって、ウイルスに独自のオリゴ糖鎖が導入されると推察される。エイズウイルスの外被糖タンパクである gp 120 の糖鎖部分を変化させることにより、ウイルス感染は完全に抑制される。即ち、*endo F* を用いて *N*-結合型オリゴ糖を除外した場合³⁸⁾と、グリコシダーゼの阻害型(カストノスペルミンやデオキシノジリマイシン)を用いて processing を中止させた場合³⁹⁾に、ウイルスは、感染能力を失う。エイズウイルス RNA 中には、糖鎖合成酵素に関する部分がないにもかかわらず、29 種類ものエイズウイルス独自の *N*-結合型オリゴ糖が同定されている⁴⁰⁾。

Dol-PP- (GlcNAc)₂Man₉Glc₃ のオリゴ糖部分のタンパク質への転移後、*N*-結合型オリゴ糖鎖は修飾されて個々の糖鎖へと変換されていくのに対して、*O*-結合型オリゴ糖は数種類の糖転移酵素の作用によるタンパク質への単糖の逐次転移反応によって合成される。

多くの場合、オリゴ糖はタンパク質から外に突き出して存在し、タンパク質によるメインの生化学反応の引金としての役割をしている。即ち、反応の最初の部分である『認識』を受け持っている。従って、オリゴ糖鎖の制御(酵素阻害剤などによる生合成反応の制御、あるいは有

機化学的手法による糖鎖修飾)はタンパク質の行う生化学反応の制御に直結する。

タンパク質の生合成とは異なり、オリゴ糖の生合成は酵素などを介した複雑な合成であるため、その制御はプロテイン工学におけるペプチド鎖の制御ほど容易ではない。しかしながら、近ごろ、多くの生化学者や有機化学者によるオリゴ糖鎖の制御が試みられている。このことは、生体反応におけるオリゴ糖鎖の重要性が認められてきたことにほかならない。

3. 天然ゴム(Natural rubber)

天然ゴム、*cis*-1,4 ポリイソプレンは、イソプレン (C₅H₈) の酵素による重合体である。最近、田中の構造と生合成に関する詳細な総説が出たので、参考にされたい⁴¹⁾。ポリイソプレンは、ヘビアやグウエールの産生するポリマーであるが、その出発物質は炭酸同化作用で出来るショ糖の分解したフルクトースとグルコースであることが分っている⁴²⁾。図7に簡略化した、ショ糖よりビルビン酸を経てβ-ヒドロキシ-β-メチル-グルタルコエンザイム A (HMG-CoA) の生成経路が示されている。ラテックス漿液には約 15 種の酵素が含まれており、それを使えばグルコースまたはフルクトースをビルビン酸に変換することができる。この系ではフルクトースの方がグルコースより変換され易い。

Fig. 7 Carbohydrate metabolism leading to rubber formation. FDP, fructose-1,6-diphosphate. 1,3-PGA, 3-phosphoglyceric acid. 2-PGA, 2-phosphoglyceric acid. PEP, phospho-enol pyruvate. Acetyl CoA, acetyl coenzyme A. HMG-CoA, β -hydroxyl- β -methyl-glutaryl coenzyme A. Other abbreviations are in Fig. 3.

Fig. 8 Polyisoprene biosynthesis by formation of isoprenoid carbon chain.

HMG-CoA から出来た HMG はアデノシン三リン酸 (ATP) の働きで、イソペンテニル二リン酸になる。イソペンテニル二リン酸は、図 8 に示すように、アリル二リン酸へ異性化する⁴³⁾。アセチル CoA の二量化によるピルビン酸 CoA の生成と同様に、アリル二リン酸とイソペンテニル二リン酸はラバートランスフェラーゼの作用で縮合する。縮合が次々に進んでポリイソプレンが生成する。

細胞内では、図 9 のように、重合酵素にイソペンテニル二リン酸が結合して、ドナーの役割を果たし、直ぐ近傍のゴム小粒子中の生長鎖へモノマー単位を渡している⁴³⁾。

グウールの葉を電顕写真で見ると、ゴム合成酵素は葉に在ることが分る⁴⁴⁾。また、ラバートランスフェラー

Fig. 9 Mechanism of polyisoprene formation by polymerizing enzyme at the interphase between the serum and the rubber droplet⁴²⁾.

ゼは還元されたグルタチオンと Mg^{2+} がある時に最大の活性を示す。これは図 9 に示された酵素に結合した $-S-Mg^{2+}$ を作るためかもしれない。最近、ポリイソプレノイド生成は動物におけるその主生成物であるコレステロール合成などに焦点が当てられている⁴⁵⁾。

(平成元年 8 月 9 日受理)

文 献

- 1) D. Sadava, M.J. Chrispeels, *Science*, **165**, 299 (1969)
- 2a) R.M. Brown, Jr., D.K. Romanovicz, *Appl. Polym. Symp.*, No. 28, 537 (1976)
- b) D.K. Romanovicz, R.M. Brown, Jr., *ibid.*, No. 28, 587 (1976)
- c) R.M. Brown, Jr., *Food Hydrocolloids*, **1**, 345 (1987)
- 3) L. Glaser, *J. Biol. Chem.*, **232**, 627 (1958)
- 4) A.D. Elbein, G.A. Barber, W.Z. Hassid, *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 309 (1964)
- 5) C. Haigler, M. Benziman, "Cellulose and Other Natural Polymer Systems, ed. R.M. Brown, Ple-

- num, New York, 1982", p.273
- 6) T.E. Bureau, R.M. Brown, Jr., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 6985 (1987)
- 7) Y. Aloni, D.P. Delmer, M. Benziman, *ibid.*, **79**, 6448 (1982)
- 8) P. Ross, H. Weinhouse, Y. Aloni, D. Michaeli, P. Weinberger-Ohana, R. Mayer, S. Braun, E. de Vroom, G.A. van der Marel, J.H. van Broom, M. Benziman, *Nature*, **325**, 279 (1987)
- 9) D.P. Delmer, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **41**, 105 (1983)
- 10a) P.W. Robbins, D. Bray, M. Dankert, A. Wright, *Science*, **158**, 1536 (1967)
- b) J.F. Robyt, *Trends Biochem. Sci.*, **4**, 47 (1979)
- c) V.N. Shibaev, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **44**, 277 (1986)
- 11) F. Micheel, O.-E. Brodde, K. Reinking, *Liebigs Ann. Chem.*, **1974**, 124
- 12) T. Uryu, C. Yamaguchi, K. Morikawa, K. Terui, T. Kanai, K. Matsuzaki, *Macromolecules*, **18**, 599 (1985)
- 13a) T. Uryu, J. Yamanouchi, T. Kato, S. Higuchi, K. Matsuzaki, *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 6865 (1983)
- b) T. Urtu, M. Yamanaka, M. Date, M. Ogawa, K. Hatanaka, *Macromolecules*, **21**, 1916 (1988)
- 14) T. Uryu, M. Ogawa, K. Hatanaka, unpublished results.
- 15) C.Y. Tsai, F. Salamini, O.E. Nelson, *Plant Physiol.*, **46**, 299 (1970)
- 16) P.L. Keeling, J.R. Wood, R.H. Tyson, I.G. Bridges, *ibid.*, **87**, 311 (1988)
- 17) M.S. Kang, N. Elango, E. Mattia, J. Au-Young, P.W. Robbins, E. Cabib, *J. Biol. Chem.*, **259**, 14966 (1984)
- 18) C.E. Bulawa, M. Slater, E. Cabib, J. Au-Young, A. Sburlati, W.L. Adair, Jr., P.W. Robbins, *Cell*, **46**, 213 (1986)
- 19) S.J. Silverman, A. Sburlati, M.L. Slater, E. Cabib, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 4735 (1988)
- 20a) J.F. Robyt, B.K. Kimble, T.F. Walseth, *Arch. Biochem. Biophys.*, **165**, 634 (1974)
- b) J.F. Robyt, S.H. Eklund, *Bioorg. Chem.*, **11**, 115 (1982)
- 21) J.F. Robyt, P.L. Martin, *Carbohydr. Res.*, **113**, 301 (1983)
- 22) E. Ruckel, C. Schuerch, *J. Am. Chem. Soc.*, **88**, 2605 (1966)
- 23) 瓜生敏之, 高分子, **38**, 142 (1989)
- 24) J. Lehmann, P. Schlesselman, *Carbohydr. Res.*, **113**, 93 (1983)
- 25) M.K. Tong, B. Ganem, *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 312 (1988)
- 26) J.S. Tkacz, J.O. Lampen, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **65**, 248 (1975)
- 27) L. Lehle, W. Tanner, *FEBS Lett.*, **71**, 167 (1976)
- 28) M. Reitman, S. Kornfeld, *J. Biol. Chem.*, **256**, 4275 (1981)
- 29) P. Zatta, D. Zakim, D.A. Vessey, *Biochim. Biophys. Acta*, **441**, 103 (1976)
- 30) J.A. Levy et al., *Biochem. Biophys. Res Commun.*, **60**, 118 (1974)
- 31) W.W. Chen, W.J. Lennarz, *J. Biol. Chem.*, **251**, 7802 (1976)
- 32) W.T. Forsee, A.D. Elbein, *ibid.*, **248**, 2858 (1973)
- 33) N.H. Behrens, A.J. Parodi, L.F. Leloir, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **68**, 2857 (1971)
- 34) W.A. Lubas, R.G. Spiro, *J. Biol. Chem.*, **262**, 3775 (1987)
- 35) M.J. Spiro, R.G. Spiro, V.D. Bhoyroo, *Fed. Proc.*, **37**, 2285 (1978)
- 36) S.J. Turco, B. Stetson, P.W. Robbins, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **74**, 4411 (1977)
- 37a) S. Kornfeld, E. Li, I. Tabas, *J. Biol. Chem.*, **253**, 7771 (1978)
- b) R.G. Spiro, M.J. Spiro, V.D. Bhoyroo, *ibid.*, **254**, 7659 (1979)
- 38) T. Matthews et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 5424 (1987)
- 39) R.A. Gruters et al., *Nature*, **330**, 74 (1987)
- 40) T. Mizuochi et al., *Biochem. J.*, **254**, 599 (1988)
- 41) Y. Tanaka, *Prog. Polym. Sci.*, **14**, 339 (1989)
- 42a) F.J. Bealing, *J. Rubb. Res. Inst. Malaya*, **21**, 445 (1969)
- b) G.F.J. Moir, *ibid.*, **21**, 407 (1969)
- 43) F. Lynen, *ibid.*, **21**, 389 (1969)
- 44) S. Madhavan, C.R. Benedict, *Plant Physiol.*, **75**, 908 (1984)
- 45) E. Bruenger, H.C. Rilling, *Anal. Biochem.*, **173**, 321 (1988)