

生物化学最近の進歩

第 4 集



生物化学最近の進歩

第 4 集

生物化学最近の進歩編集委員会編

編 集 委 員

児 玉 桂 三 (委員長)

左 右 田 徳 郎 佐 橋 佳 一

森 高 次 郎 上 代 晴 三

編 集 幹 事

武 藤 聡 雄 三 浦 義 彰 菊 地 吾 郎

佐 伯 誠 道 吉 田 昭 山 下 恭 平

技 報 堂

序

ここに「生物化学最近の進歩」第4集を世に送る。

本書の刊行は、先ず「生物化学ハンドブック」の補遺的な意図からはじめられたが、集を重ねるにしたがつて、いよいよ進歩総説の本来の目標に拠るものとなつてきたことを、読者諸氏とともに喜びとし、今後もさらに一層新鮮なものとして、学問進歩の實際をひろく一般のものにすることにつとめたいと考える。编者等は、これが日本生化学の進歩発展に寄与する一つの重要な道であることを信じて、この仕事に大きな情熱をかたむけたい。大方の共感を得て、さらに一層の御協力を期待する次第である。

それぞれ多忙の研究生活の間に、快く執筆の労をとられた各位に、心からの感謝を表わしたい。このことは、ひとり本集編集の任にある者の意にとどまらず、ひろく読者層一般の気持でもあるだろう。ただひとつ進歩総説という性質上で遺憾に思うことは、編集や印刷出版の仕事には思いのほか多くの難渋があり、そのために、一部の原稿については、執筆後一年余を経たものもあるという事情である。このことは執筆者にふかくおわびを申し上げ、今後の仕事の上で改めてゆきたいと考えている。

本集の編集は主として森高次郎の担当によつた。またこの刊行は技報堂社長大沼正吉氏の厚意によるものである。編集幹事諸氏の労を多とし、これらの諸氏にふかく感謝する次第である。

1958年2月

「生物化学最近の進歩」編集委員会

上代 皓 三

目 次

1. 炭水化物の化学……………二国 二郎…1
福井 俊郎
2. 天然ペプチドおよび蛋白質の化学構造……谷 久也… 43
3. アミノ酸・蛋白質の代謝……………志村 憲助…119
長山 英男
渡辺 泰
4. 抗生物質の化学……………住木 諭介…167
5. 食中毒の化学……………宮木 高明…197
林 誠
6. 細胞化学の進歩……………荒木 正哉…212
7. 殺虫剤の生化学……………武居 三吉…240
8. ポーラログラフイーの生化学への応用……館 勇…263
小出 真次
9. 蛋白質・アミノ酸の研究領域における
イオン交換樹脂の応用……………石井 信一…280

1. 炭水化物の化学*

まえがき.....	1	2.5 Transgalactosylationによ	
§1. 生体内における単糖類の相互		り合成された少糖類.....	15
転換.....	2	2.6 Glucuronides の生合成.....	16
1.1 酸化と還元.....	2	§3. 多糖類の生合成とそれに関与	
1.2 Aldoses-Ketoses 間の異性		する酵素.....	17
化.....	3	3.1 多糖類 phosphorylase と	
1.3 Aldoses 間の異性化 (Wal-		分枝生成酵素.....	17
den 反転).....	4	3.2 少糖類より多糖類を合成す	
1.4 炭素鎖の縮合 (Aldol 縮合).....	6	る酵素.....	19
1.5 Transketolase と Trans-		3.3 多糖類の生合成.....	21
aldolase.....	6	§4. 多糖類の化学構造.....	23
1.6 アミノ糖の生成と代謝.....	8	4.1 澱粉.....	23
§2. 少糖類の酵素的合成.....	9	4.2 Glycogen.....	25
2.1 Uridine diphosphate の関		4.3 Hemicellulose.....	26
与する少糖類合成.....	9	4.4 植物ゴムと粘液.....	28
2.2 少糖類 phosphorylase.....	11	4.5 粘質多糖類.....	29
2.3 Transfructosylation によ		4.6 細菌の生産する多糖類.....	30
り合成された少糖類.....	12	4.7 その他の多糖類.....	32
2.4 Transglucosylation によ		[文 献].....	32
り合成された少糖類.....	13		

まえがき

炭水化物の化学は最近の生物化学全般の進歩の例にもれず、過去十年程の間に急速の進歩がなされた。本稿では単糖類の相互転換、少糖類と多糖類の生合成、多糖類の化学構造などに関する最近数年間の研究をまとめたが、この方面ではすでにすぐれた単行書が出版されているので、それらと重複する部分ではできる限り避けた。したがって一部は不完全になっているので、既刊の単行書（本章末尾参照）で補つていただき

* 次のような略号を用いる

ATP: Adenosine triphosphate	GTP: Guanosine triphosphate
ADP: Adenosine diphosphate	GDP: Guanosine diphosphate
AMP: Adenosine monophosphate	GMP: Guanosine monophosphate
UTP: Uridine triphosphate	DPNH: Diphospho pyridine nucleotide (reduced)
UDP: Uridine diphosphate	TPNH: Triphospho pyridine nucleotide (reduced)
UMP: Uridine monophosphate	-ph: phosphate
DPN または DPN ⁺ : Diphospho pyridine nucleotide (oxidized)	
TPN または TPN ⁺ : Triphospho pyridine nucleotide (oxidized)	

たい。また、本稿においては紙面の都合で、単糖類およびその誘導体に関する化学、炭水化物の分析と分離の技術などについては省略した。

§1. 生体内における単糖類の相互転換*

1.1 酸化と還元

Blakley¹⁾ (1951) および McCorkindale と Edson²⁾ (1954) はネズミの肝臓より、Williams-Ashman と Banks³⁾ (1954) はネズミの精液囊と coagulating gland より、ketoses を還元して polyols を生成する酵素を得たが、これらの酵素の特異性はいずれも低くいろいろの糖に作用するという。Shaw⁴⁾ (1954) が *Pseudomonas* より得た酵素も同様特異性が低く、xylitol, gulitol, talitol などに作用することが認められた。これに反して Touster ら^{5,6)} (1956) がモルモットの肝臓ミトコンドリアより得た L-xylulose ⇌ xylitol に関与する酵素は TPN に特異的で、糖に対する特異性も高く、L-xylulose と xylitol 以外の試験した糖および糖アルコールに対しては全く活性を示さなかつた。同じ標品中には D-xylulose ⇌ xylitol を接触する DPN に特異的な酵素も含んでいる。したがってこの酵素標品の作用で xylitol を中間体として D-xylulose ⇌ xylitol ⇌ L-xylulose のような可逆反応が起るといふ。

Marmur と Hotchkiss⁷⁾ (1955) は *Pneumococcus* より mannitol-ph → fructose-ph を接触する酵素を得たが、Wolff と Kaplan⁸⁾ (1956) は *E. coli* より同様な酵素を精製することに成功した。後者は mannitol-1-ph ⇌ fructose-6-ph に関与するが、DPN および fructose-6-ph に絶対的特異性を示し、平衡は fructose-6-ph の方に片寄っているという。

myo-inositol の酸化に関与する酵素は *Acetobacter suboxydans* に初めて見出されたが⁹⁾、その後 myo-inositol を含む培地で育てた *Aerobacter aerogenes* の抽出液にも認められ¹⁰⁾、Goldstone と Magasanik¹¹⁾ (1954) は myo-inositol → 2-keto-myoinositol → 2,3-diketo-4-deoxy-epi-inositol のそれぞれの反応に与える 2 種の酵素を分離した。一方 Larner¹²⁾ らはネズミあるいはニワトリの胚で glucose-C¹⁴ より inositol-C¹⁴ の生成されることを認めたが、次いで *A. aerogenes* から DPN に特異的な inositol dehydrogenase を精製することに成功した¹³⁾。

Isherwood¹⁴⁾ (1953, 54) はいろいろの化合物をネズミあるいはタガシンの芽生えに与え、ascorbic acid の増加量を調べた結果、生体内における ascorbic acid の生成経路として i) と ii) を示した。

- i) D-glucose → D-glucurono- γ -lactone → L-gulono- γ -lactone → ascorbic acid
 ii) D-galactose → methyl D-galacturonate ^{a)} → L-galactono- γ -lactone ^{b)} → ascorbic acid ^{c)}

* ウロン酸の生成に関しては 2.6 参照。

反応 iic)に關与する酵素は植物のミトコンドリア中に含まれることが見出されたが、¹⁵⁾この反応において D-galactose 誘導体の方が D-glucose 誘導体よりも早く進むので、前者が植物体内における天然の前駆物質であろうと推定された。

iib)に關与する酵素はエンドウマメ芽生えの細胞液に見出されたが、ミトコンドリア画分には認められず、TPN に特異的である¹⁶⁾。

一方、特定炭素を label したいろいろの単糖類を使用した実験において、King ら¹⁷⁻¹⁹⁾ (1950~53) はネズミの体内での ascorbic acid 合成は炭素鎖の開裂を伴わないが、反転すなわち C1 と C6 との入れ換えが起つていることを認めた。これに反し、最近 Loewus ら¹⁸⁾ (1956) はイチゴを用いて同様の実験を行い、glucose は反転を起さず直接取り入れられるが、galactose は一旦 triose に開裂されてから ascorbic acid に合成されるという経路を支持する結果を得た。また glucuronate は ascorbic acid の合成に役立つまいというが、これらの結果はさきの Isherwood ら¹⁴⁻¹⁶⁾、King ら¹⁷⁻¹⁹⁾ のものと相反しており今後の説明がまたれる。

1.2 Aldoses-Ketoses 間の異性化

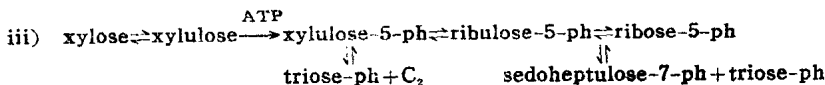
Lampen²⁰⁾ (1953) は D-xylose の存在下で生育した *Lactobacillus pentosus* の抽出液が、ATP の存在で D-xylose を消失させる作用をもつことを見出した。続いてこの抽出液により D-xylose よりも D-xylulose の方が容易に磷酸エステル化されることを認め、xylose isomerase の存在を推定した²¹⁾。一方 Hochster²²⁻²⁴⁾ (1954, 55) は *Pseudomonas hydrophila* に、D-xylose と D-xylulose との可逆的異性化に關与する特異的な酵素 xylose isomerase の存在することを確かめた。この酵素による反応平衡混合物は D-xylose 84% と D-xylulose 16% より成るが、磷酸イオンが存在するとこの平衡は D-xylulose (81.5%) の方へ片よるといふ。また D-xylose より生成した D-xylulose は別の酵素の作用で磷酸エステル化されて D-xylulose-5-ph になるが、ribulose の生成は認められなかつた。Slein²⁵⁾ (1955) は *Pasteurella pestis* の抽出液より、同様な xylose isomerase を精製した。この酵素の性質は *P. hydrophila* より分離したものとよく似ている。

Cohen²⁶⁾ (1953) は *E. coli* の arabinose 適応菌の抽出液が D-ribulose ⇌ D-arabinose を接触すると共に、L-fucose を異性化して ketose を生成する作用をもつことを認めた。彼ら²⁷⁾ (1956) は引き続きこの微生物による fucose の利用について調べ、その第一段階が適応的に生産される isomerase による L-fuculose への異性化であることを明らかにした。この酵素の作用により L-fucose 89%、L-fuculose 11% で平衡に達するが、磷酸イオンが存在すると L-fuculose 85% に達する。また D-ribulose ⇌ D-arabinose も同一の酵素の作用によるという。

Palleoni と Doudoroff²⁸⁾ (1956) は *Pseudomonas saccharophila* の fructose 利用変種の菌体より mannose isomerase を精製した。この酵素は D-mannose ⇌ D-fructose のほかに D-lyxose ⇌ D-xylulose、D-rhamnose ⇌ rhamnulose、D-glycero-

D-mannoheptose(?) \rightleftharpoons sedoheptulose などの反応を接触するという。これらの酵素はいずれも遊離の単糖類に直接作用するもので、次に述べる糖磷酸エステルの異性化に関与するものとは区別される。

Horecker ら²⁹⁾ (1953) は動物あるいは植物の組織より得た transketolase 標品が ribulose-5-ph \rightleftharpoons xylulose-5-ph を接触することを認めたが、Ashwell と Hickman³⁰⁾ (1954) はハツカネズミの脾臓の抽出液より、transketolase 作用は非常に弱いながら、D-ribose-5-ph \rightleftharpoons D-xylulose-5-ph を強く接触する標品を得ることに成功した。彼ら³¹⁾ (1955) はさらにこの異性化反応系で erythro-3-ketopentose が生成されることを認め、この反応が ribulose の C2 と C3 との enediol が中間体として進むという推定をした。同様な酵素はウサギの筋肉と赤血球にも見出された^{32,33)}。一方 Stumpf と Horecker³⁴⁾ (1956) は xylose の存在で生育した *Lactobacillus pentosus* の抽出液に、特異的な xylulose-kinase と phosphoketopentosepimerase の存在することを明らかにした。後者は動物組織より得た酵素と同様に D-xylulose-5-ph \rightleftharpoons D-ribulose-5-ph を接触する。この結果より *L. pentosus* による xylose の利用経路は iii) のように推定された。



D-ribulose-5-ph \rightleftharpoons D-ribose-5-ph の異性化反応を接触する phosphoriboisomerase は酵母に存在することが知られていたが³⁵⁾、Axelrod³⁶⁾ ら (1954) は高等植物組織より精製することに成功した。

また Horecker ら³⁷⁾ (1954) はホウレンソウの葉より得た抽出液の作用によつて、ATP と Mg⁺⁺ の存在で ribose-5-ph \rightarrow ribulose-1,5-diph の反応が起ることを認め、引き続きこの抽出液を精製して 2 つの酵素を分離した。³⁸⁾ 1 つは上に述べた phosphoriboisomerase で、もう 1 つは新しい酵素 phosphoribulokinase である。

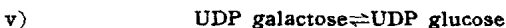
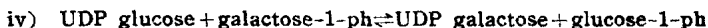
後者は D-ribulose-5-ph $\xrightarrow{\text{ATP}}$ D-ribulose-1,5-diph の反応を接触する。この 2 つの酵素反応を利用して、彼ら³⁹⁾ (1956) は D-ribose-5-ph より D-ribulose-1,5-diph を調整する方法を案出した。

1.3 Aldoses 間の異性化 (Walden 反転)

Slein⁴⁰⁾ (1950) はウサギの筋肉より phosphomannoisomerase を分離した。この酵素の作用により mannose-6-ph は glucose-6-ph と fructose-6-ph との混合物に転換される。この酵素標品には phosphoglucoisomerase も含まれているので、phosphomannoisomerase の直接の生成物は決定されていないが、Lohman's isomerase は mannose-6-ph に不活性だから phosphomannoisomerase とは区別される。

Leloir^{41,42)} ら (1950) は galactose を含む培地で生育させた酵母から、galactose-ph \rightleftharpoons glucose-ph の反転を接触する酵素を分離し、助酵素として UDP glucose を必要

とすることを見出した。UDP glucose は初め酵母より分離され、その構造が明らかとされたが、その後いろいろの動物および植物の組織にも存在することが認められ、いろいろの重要な酵素反応に関与することが見出された (2・1, 2・6, 4・1 参照)。Leloir⁽⁴³⁾ (1951) はさらに galactose 適応酵母の抽出液の作用で UDP glucose が UDP galactose に反転することを認めた。Trucco⁽⁴⁴⁾ (1954) は同じ抽出液の作用で glucose-1-ph より UDP glucose が合成されることを知った。一方 Kalckar ら⁽⁴⁵⁾ (1953) は galactose に適応した *Saccharomyces fragilis* の抽出液に、galactose より UDP galactose の生成を接触する酵素が存在することを明らかにした。この酵素は uridyltransferase と呼ばれ、Garner と Grannis⁽⁴⁶⁾ (1951) および Maxwell ら⁽⁴⁷⁾ (1955) により分離精製されている。このようにして酵母による glucose-ph と galactose-ph との反転は次のようにして起ることが明らかになった。



合成反応 vi) の平衡は glucose-1-ph 73~79%, galactose-1-ph 21~27% で⁽⁴⁸⁾、反応 v) の平衡 (UDP glucose 75%, UDP galactose 25%⁽⁴⁹⁾) とよく一致する。

Kalckar ら⁽⁴⁵⁾ (1953) は酵母の浸出液に含まれる酵素の作用により反応 xxxviii) が進むことを見出した。したがって UDP glucose, UDP galactose だけでなく UTP xxxviii) $\text{UDP glucose} + \text{pyroph} \rightleftharpoons \text{UTP} + \text{glucose-1-ph}$

あるいは $\text{UDP} + \text{ATP}$ (文献50参照) も反応 vi) の助酵素としての作用をもつ。Hansen と Freedland⁽⁵¹⁾ (1955) は *Lactobacillus bulgaricus* および *Saccharomyces fragilis* の抽出液を精製して UTP の役割りを確かめた。また Maxwell ら⁽⁴⁷⁾ (1955) は子牛肝臓のアセトン粉末抽出液を精製して、反応 iv), v) に関与する酵素の存在することを認めた。反応 v) の機構については全く知られていなかつたが、最近 Maxwell⁽⁵²⁾ (1956) はこの反応に DPN が必要であることを認め、この過程が Walden 反転ではなく酸化還元によるものであらうと推定している。

Cabib ら⁽⁵³⁾ (1953) は酵母より初めて UDP *N*-acetyl-glucosamine を分離したが、この化合物は引き続きいろいろの動物組織からも分離された^(54,55)。また Pontis⁽⁵⁶⁾ (1955) は肝臓抽出液に UDP *N*-acetylglucosamine のほかに UDP *N*-acetyl galactosamine を含むことを見出した。これら2つの化合物も肝臓抽出液に存在する酵素の作用で相互転換を起すという⁽⁵⁷⁾。

一方、渡辺と新井⁽⁵⁸⁾ (1956) は大腸菌 K-12 株の glucuron 酸適応菌の glucuron 酸代謝について調べ、D-glucuron 酸はまず D-galacturon 酸に反転してから代謝されることを明らかにした。しかしながらこの反転に関与する酵素は未だ分離されていない。

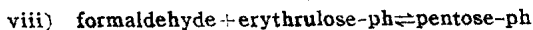
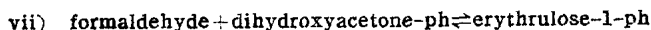
1.4 炭素鎖の縮合 (Aldol 縮合)

Lardy ら^{59,60)} (1954) は aldolase の作用により C3 と C4 とが trans 配置にあるものに限らず, tagatose-1,6-diph のように cis 配置にあるものも切断されうることを見出したが, dihydroxyacetone-ph が glycolaldehyde あるいはその磷酸エステルと縮合すると, やはり trans 配置の D-xylulose(-ph) を生成することを確かめた。

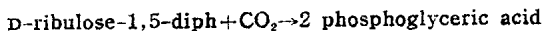
Horecker ら⁶¹⁾ (1953) および Hough ら⁶²⁾ (1953) は筋肉あるいはエンドウマメの aldolase の作用により, D-erythrose と dihydroxyacetone-ph とが縮合して sedoheptulose-1-ph を生成することを見出したが, さらに D-erythrose-4-ph と縮合すると sedoheptulose-1,7-diph を生成することをも確かめた^{63,64)}。この反応と transketolase 反応 (後述) とを組み合わせ, fructose-6-ph と fructose-1,6-diph とより sedoheptulose-1,6-diph を比較的容易に調整する方法が確立された^{64a)}。

一方同様な縮合反応が従来の aldolase とは異なる酵素により接触されるという例が見出されるようになってきた。Racker⁶⁵⁾ (1951,52) は *E. coli* より acetaldehyde と glyceraldehyde-3-ph とを縮合して desoxyribose-5-ph を生成する酵素を精製した。この酵素は従来の aldolase とは異なるので, 特に desoxyribose aldolase と名づけられ, デソキシリボ核酸の合成に際して重要な役割りを果しているという。

Charalampous^{66,67)} (1953,55) は動物組織より vii, viii) を接触する酵素を見出した。vii) に関与する酵素は高等植物の葉にも存在することが知られたが⁶⁸⁾, これらの酵素が生体内の炭水化物代謝にどのような意義をもつかは未だ明らかでない。



Bassham ら⁶⁹⁾ (1950) は光合成の過程において phosphoglyceric acid の carboxyl 基に炭酸ガスが最初に固定されることを見出したが, Fager⁷⁰⁾ (1954) は高等植物組織の抽出液の作用により炭酸ガスが固定され, phosphoglyceric acid が生成されることを示した。しかしながら, 彼はこの反応に与る糖磷酸エステルの構造を明らかにすることはできなかつた。Calvin ら^{71,72)} (1952,54) はこの前駆物質が D-ribulose-diph であることを見出した。引き続き Calvin ら⁷³⁾ (1954) は *Chlorella* の抽出液より, Horecker ら^{74,75)} (1954,56) および Ochoa ら⁷⁶⁾ (1956) はホウレンソウの葉の摩擦液よりこの反応に与かる酵素標品を得ることに成功し, 反応は次のように進むことを明らかにした。

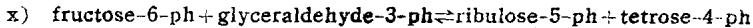
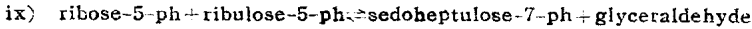


Horecker ら⁷⁵⁾ (1956) が精製した酵素は分子量約 300,000 で, 2 価の金属イオンと SH 化合物あるいは chelating 試剤を必要とするという。

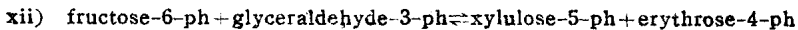
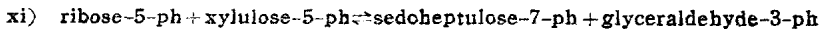
1.5 Transketolase と Transaldolase

Horecker ら⁷⁷⁾ (1953) は pentose-ph より sedoheptulose-ph を生成する反応

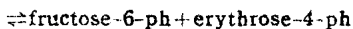
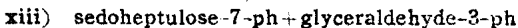
に関与する酵素 *transketolase* の存在を認め、ネズミ肝臓とホウレンソウの葉より精製した。反応は可逆的で *thiamine pyrophosphate* が助酵素になり、途中に “active glycolaldehyde” すなわち, *glycolaldehyde*...*thiamine pyrophosphate-enzyme* が生成するものと考えられた。このような性質は Racker ら^{78,79)} (1953,55) が酵母より得た結晶 *transketolase* 標品について確かめられた。この反応においていろいろの化合物が “active glycolaldehyde” の donors あるいは acceptors として役立つことが明らかにされたが⁷⁷⁻⁸¹⁾、その中で次の2種の反応が生体内で重要な役割りを果たすことが認められた。



Racker^{82,83)} (1955) は反応 x) で生成する *tetrose-4-ph* が合成 *D-erythrose-4-ph* (文献 84 参照) と全く同じ性質を示すこと、また両者が全く同様に *transketolase* および *transaldolase* の基質になりうることを確かめた。一方 Horecker ら⁷⁷⁾ が精製した酵素標品は *ribulose-ph* ⇌ *xylulose-ph* なる異性化反応をも接触することが知られていたが、最近 Srere ら⁸⁵⁾ (1955) および Horecker ら⁸⁶⁾ (1956) は *ribulose* が直接 *transketolase* の基質になるのではなく、*xylulose* が真の基質であることを明らかにした。したがって先の2式 ix), x) はそれぞれ次のように書き改められねばならない。



一方、Horecker ら⁸⁷⁾ (1954) は酵母より、Bergmann ら⁸⁸⁾ (1954) は *E. coli* より可逆的に *fructose-ph* を生成する酵素 *transaldolase* を分離することに成功した。この酵素は酵母より 400 倍精製されたが、特別の因子の関与を認めず、次の反応を可逆的に接触するという⁸⁹⁾。



Horecker⁹⁰⁾ (1953) はこのような一連の反応を組み合わせ、酵母および高等動物において *triose dehydrogenase* あるいは TCA cycle の酵素の作用の関与なしで炭水化物を完全に酸化する新しい cyclic mechanism の存在することを示した。そこで従来用いられていた “shunt” あるいは “oxidative pathway” などの代りに “pentose phosphate cycle” という名前が提起され⁹¹⁾、現在ではそれが広く用いられている。(高等植物の場合には特に “photosynthetic cycle” と呼ばれることがある。) このような cyclic mechanism の存在はすでに酵母、高等動物以外にも高等植物⁹²⁾、細菌⁹³⁾、昆虫⁹⁴⁾、カビ⁹⁵⁾ などに確かめられている。Racker⁹⁶⁾ (1955) はホウレンソウより得たこれらの酵素系を混合し、それに ATP と TPN 還元酵素系を組み合わせ、炭酸ガスと水素とより *hexose-ph* の合成が行われることを示し、cyclic mechanism の存在に対して確証を与えた。

Sprinson⁹⁷⁾ (1955) は intact *E. coli* で glucose より shikimic acid の生成する経路を示したが, さらに *E. coli* の菌体抽出液を用いて sedoheptulose-diph あるいは erythrose-4-ph と phosphoenol pyruvate より dihydroshikimic acid が定量的に合成されることを認め, 阻害実験および intact の実験の結果とあわせて次のような合成経路を示した⁹⁸⁾。

xiv) sedoheptulose-diph \rightleftharpoons erythrose-4-ph + dihydroxyacetone-ph

xv) dihydroxyacetone-ph \rightleftharpoons 3-phosphoglyceric acid \rightleftharpoons phosphoenol pyruvate

xvi) erythrose-4-ph + phosphoenol pyruvate \rightarrow dihydroxshikimic acid

従来 shikimic acid は微生物において芳香族化合物合成の前駆物質として注目されていたが, 高等植物ではその分布は数種のものにしか知られていなかった。しかしながら, 最近長谷川ら⁹⁹⁾ (1954) は paper chromatography を用いて調べた結果, 高等植物特に裸子植物には広く分布していることが明らかになった。一方 Brown と Neish¹⁰⁰⁾ (1955) は小麦とカエデにおいて, shikimic acid が lignin 合成の前駆物質となることを認めた。このような化合物の代謝は炭水化物と他の有機化合物とのつながりをつくる意味で興味がある。

1.6 アミノ糖の生成と代謝

Leloir と Cardini¹⁰¹⁾ (1953) は *Neurospora crassa* より得た酵素の作用により hexose-6-ph と glutamine より hexosamine が合成されることを見出したが, 同様な操作は引き続き *Streptococci* の細胞懸濁液,¹⁰²⁾ 軟骨組織の切片¹⁰³⁾ およびその摩砕液¹⁰⁴⁾ によつても認められた。一方 Becker と Day¹⁰⁵⁾ (1953) は C¹⁴ を用いた実験により glucosone が glucosamine 生成の前駆物質として役立つことを認めたが, Dorfman ら¹⁰⁶⁾ (1955) は *Streptococci* の培養菌体に glucosone-C¹⁴ を与えても, glucosamine には予期した radioactivity の 1/3~1/5 しか入っていないことを認め, glucosamine 生成に対して glucosone を通る経路はあまり重要でないことを結論した。

glucosamine は生体内においてまず磷酸化されてから分解されることが, *N. crassa*¹⁰¹⁾, 酵母^{107, 108)}, 大腸菌¹⁰⁹⁾, 動物組織^{110, 111)} において認められたが, 今永ら¹¹²⁾ (1956) は *Aerobacter cloacae* より得た酵素の作用により, 次の2つの反応が進むことを見出した。

xvii) D-glucosamine $\xrightarrow{\text{ATP, Mg}^{++}}$ D-glucosamine-6-ph

xviii) D-glucosamine-6-ph \rightarrow fructose-6-ph + NH₃

一方 Leloir と Cardini¹¹³⁾ (1956) も動物組織から反応 xviii) のほかに xix), xx) を接触する酵素を分離した。

xix) α -acetyl glucosamine-1-ph \rightleftharpoons acetylglucosamine-6-ph

xx) acetyl glucosamine-6-ph \rightleftharpoons fructose-6-ph + NH₃ + acetate

Reissig¹¹⁴⁾ (1956) は *Neurospora* より phosphoacetyl glucosamine-mutase (xix)

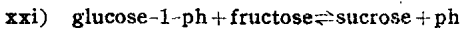
を分離し, phosphoglucomutase との活性比を 420:1 より 0.2:1 に精製することに成功した。この酵素反応は 1-ph 14%, 6-ph 86% で平衡になり, glucose-1,6-diph あるいは *N*-acetylglucosamine-diph により顕著に活性化されるという。

Galactosamine に関する研究は glucosamine に比し少いが, Cardini と Leloir¹¹⁵⁾ (1953) は動物組織, あるいは酵母から分離した酵素の作用により galactosamine が磷酸エステル化されることを見出したが, この酵素は galactokinase と同一であることを確かめた。生成物は galactosamine-1-ph で, これは aldoses の -1-ph よりも酸加水分解をうけにくいという。

§ 2. 少糖類の酵素的合成

2-1 Uridine diphosphate の関与する少糖類合成

sucrose は植物界において最も広く且つ大量に分布しているのにもかかわらず, その合成経路は最近まで明らかでなかつた。Hassid と Doudoroff¹¹⁶⁾ (1950) は *Pseudomonas saccharophila* を用い sucrose が反応 xxi) のようにして合成されることを認め, それに関与する酵素 sucrose phosphorylase を精製した。



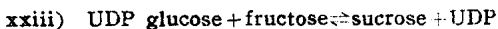
しかしながらこのような酵素は多くの試みがなされたにもかかわらず植物組織からはどうしても分離することができなかつた。

一方 Calvin ら¹¹⁷⁾ (1949) は *Chlorella* を $C^{14}O_2$ の存在下で短時間光合成させて, sucrose が最初に現われる遊離の糖であることを見出した。引き続き光合成の過程でかなり初期に radioactive な UDP glucose が現われることを認め, 植物体内では反応 xxii) により sucrose-ph が合成されることを推定した^{118, 119)}。



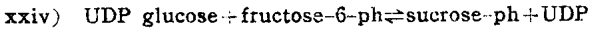
Buchanan¹²⁰⁾ (1953) はサトウキビの葉から, fructose 部分の C1 の水酸基が磷酸エステル化された sucrose-ph を分離して, 先の推定を裏づけた。また Hassid ら^{121, 122)} (1954, 55) は glucose- C^{14} を植物組織に infiltrate して, その動きを調べた結果, glucose と fructose の磷酸エステルが sucrose 合成の前駆物質になるという見解を支持した。一方 Turner^{123, 124)} (1953, 54) はエンドウマメより得た粗抽出液を glucose-1-ph と fructose とに作用させて, sucrose の生成されることを認めた。

Leloir ら^{125, 126)} (1953, 55) は先に Co-galactowaldenase として分離した UDP glucose が, sucrose 合成にも関与することを見出し, 遂に植物組織より sucrose 合成に与える酵素系を分離することに成功した。反応は xxiii) のように表わされる。



この反応において UDP glucose の代りに glucose-1-ph を与えても sucrose は合成されないが, fructose の代りに, sorbose, arabinose などが glucosyl 基の

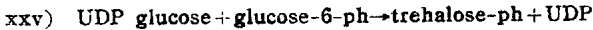
acceptor になりえ、精製された酵素において平衡恒数は約 5 at 37°, pH 7.4 で、sucrose 合成に有利であるという。彼ら¹²⁷⁾ (1955) は小麦の芽ばえよりこの酵素を精製している間に、これとは別の酵素が反応 xxiv) に与かることを見出した。



ここで生成された sucrose-ph は先に Buchanan¹²⁹⁾ がサトウキビの葉より分離したものと異なり、fructose 部分の C6 の水酸基がエステル化されており、今後問題を残している。Bean と Hassid¹²⁸⁾ (1955) はエンドウマメより得た酵素について、反応 xxiii, xxiv) が共に起ることを確かめた。Burma と Mortimer¹²⁹⁾ (1956) はサトウキビの葉およびその摩砕液に放射性の糖あるいは UDP glucose を与えて、植物組織中における UDP glucose と sucrose との生合成の機作を調べた結果、xxiv) が実際の生体内の sucrose 合成に関与しているという結論に到達した。植物のいろいろの部分における両反応に与かる酵素の相対的活性を調べることは、植物生理学的に興味はあるが技術的に困難であつたという¹³⁰⁾。

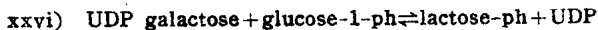
UDP 糖化合物は sucrose 合成のみでなくいろいろの少糖類、glycosides および nucleotides の合成に役立つことが明らかになつてきた (2.6 参照)。

Leloir と Cabib¹³¹⁾ は酵母抽出液の作用で UDP glucose と glucose-6-ph から trehalose-ph が合成されることを見出した。

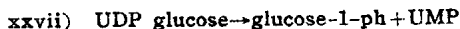


Trehalose はある種の植物、酵母、カビに遊離状態で分布し、sucrose を蓄積しない生物における糖の貯蔵態と考えられている。

一方 Reithel ら^{132,133)} (1952, 3) はネズミあるいはモルモットの乳腺組織の摩砕液で lactose の合成が起ることを認めたが、動物の乳腺組織には他の組織に比べて比較的少量に UDP glucose を含み、¹³⁴⁾ またこの組織において UDP glucose \rightleftharpoons UDP galactose の反転が起ることが認められている点より (1.3 参照)、乳腺組織における lactose の合成にも UDP galactose が関与しているだろうという推定がなされていた。事実 Gander ら¹³⁵⁾ (1956) はウシの乳腺組織より得た酵素標品の作用で反応 v) および xxvi) が起ることを認めた。



ここで得たある標品ではこの2つの反応のほか、nucleotide pyrophosphatase による反応 xxvii) も進むので、この標品では UDP glucose を唯一の基質として



lactose-ph が合成されうるといふ。しかしながら glucose および glucose-6-ph は galactosyl 基の acceptor にはなりえず、生成される lactose-ph は glucose 部分の C1 の水酸基がエステル化されたものである。この化合物はすでに McGeown と Malpress¹³⁶⁾ (1952) により乳汁中に存在することが見出されている。

Lactose 合成が sucrose あるいは trehalose の合成に比し問題となる点は glycosidic

結合の立体配置で、後二者の生成では転移した glycosyl 基は α 型であるのに反し、前者のは β 型であるため UDP galactose から galactosyl 基が glucose と結合するまでに C1 に反転が起つていなければならない。このような反転は、 β -amylase, maltose phosphorylase の作用あるいは glucuronide の合成の際にも認められる(2.6 参照)。

Bean と Hassid¹³⁷⁾ (1955) は紅藻類 *Iridophycus flaccidum* の光合成経路を調べ、"floridoside" (α -galactosyl glycerol) も反応 xxviii) を経て合成されることを見出した。

xxvii) $\text{UDP galactose} + \alpha\text{-glycerol-ph} \rightarrow \alpha\text{-galactosyl glycerol-ph}$

Brown と Serro¹³⁸⁾ (1953) はサトウキビ汁中に "galactinol" (galactosyl myo-inositol) が含まれることを見出したが、この化合物も同様な機作により合成されることが考えられる。

Cabib と Leloir¹³⁹⁾ (1954) は酵母から、Strominger¹⁴⁰⁾ (1954) は動物組織より guanosine diphosphate mannose を分離した。この化合物は UDP 糖化合物同様、mannosyl 基の donor として役立つものと考えられている。Munch-Peterson¹⁴¹⁾ (1955) は酵母の抽出液により反応 xxix) が進むことを認めた。

xxix) $\text{GDP mannose} + \text{pyroph} \rightleftharpoons \text{GTP} + \text{mannose-1-ph}$

Whitby¹⁴²⁾ (1952) は動物組織中に反応 xxx) を接触する酵素の存在することを見出した。

xxx) $\text{Riboflavin} + \text{maltose} \rightarrow \text{riboflavinyl-}\alpha\text{-D-glucoside} + \text{glucose}$

この反応は α -D-glucose-1-ph により阻害されるという。続いて彼は同様な反応が riboflavin 以外のいろいろの isoalloxazine 誘導体でも起る一種の transglucosylation であることを明らかにした¹⁴³⁾。

一方、片桐ら^{144, 145)} (1953) は *Aspergillus oryzae* の一変異株¹⁴⁴⁾、大腸菌¹⁴⁵⁾、アセトンプタノール醗酵菌¹⁴⁶⁾ により数種の riboflavin 糖化合物が生成され、その中の一つは Whitby の riboflavinyl glucoside に一致することを見出した。引き続きこれらの化合物が *A. oryzae* の transglycosylase 作用に助酵素として役立ち¹⁴⁷⁾、maltose から isomaltose, dextrantriose, panose, などを生成することを認めた^{148, 149)}。このような反応は UDP 糖化合物の関与する反応と共に興味があるが、なお不明な点が多い。

2.2 少糖類 phosphorylase

Weinberg と Doudoroff¹⁵⁰⁾ (1954) は *Pseudomonas saccharophila*, *Pseudomonas putrefaciens* および *Leuconostoc mesenteroides* から sucrose phosphorylase を分離精製し、その性質を比較した。その結果、これら 3 種の菌の酵素標品はいずれも phosphorolytic 活性と一定比の hydrolytic 活性が認められ、この酵素に個有の性質

と思われる。またこれらの酵素標品は UDP glucose の glucosyl 基の転移を接触せず、且つ中間物として安定な糖化合物の生成が認められないという。しかしながら、*P. putrefaciens* より分離した酵素は他の2種と異なり、L-sorbose あるいは D-xylose を acceptor とせず、また *L. mesenteroides* より得た酵素は他の2種よりも glucose によつて阻害されにくいことが認められた。

Putman ら¹⁵¹⁾ (1955) は maltose phosphorylase 作用により β -D-glucose-1-ph と D-xylose より生成された D-glucosyl-D-xylose の構造を調べ、4-O- α -D-glu copyranosyl- α -D-xylopyranose であることを確かめた。

2.3 Transfructosylation (により合成された少糖類*¹⁵²⁾

酵母、カビ、高等植物などから得た酵素の transfructosylation によつて、sucrose より数種の新しい少糖類が合成されることはかなり以前より知られていたが、最近その中の幾らかのものが分離され構造が明らかになされた。

(xxxi) O- β -D-fructofuranosyl-(2 \rightarrow 6)-D-glucopyranose.

この少糖類は酵母から得た酵素の作用により生成され、“I”と呼ばれていたが¹⁵³⁾、methylation 法などによりその構造が明らかになされた¹⁵⁴⁻¹⁵⁶⁾。カビの酵素によるこの糖の生成は疑問である¹⁵⁴⁾。

xxxii) O- β -D-fructofuranosyl-(2 \rightarrow 6)-D-fructofuranose

xxxiii) O- β -D-fructofuranosyl-(2 \rightarrow 1)-D-fructose

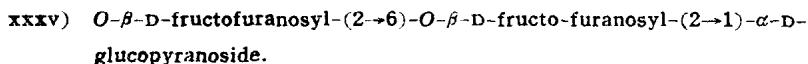
酵母の酵素の作用によつて生ずるもう一つの二糖類“V”は、その後少なくとも3種の化合物の混合物であることが明らかになつた^{156,157)}。この中の2種の構造はそれぞれ xxxii) および xxxiii) であることが確かめられた^{154,158)}。もう一つの二糖類 (“minor constituent”¹⁵⁷⁾) の構造は未だ明らかでない。カビの酵素によつても difructose fraction が得られるが^{154,158,159)}。恐らく xxxii) および/あるいは xxxiii) に一致するだろう¹⁵²⁾。

xxxiv) O- β -D-fructofuranosyl-(2 \rightarrow 1)-O- β -D-fructofuranosyl-(2 \rightarrow 1)- α -D-glucopyranoside.

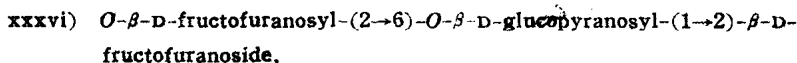
この少糖類はカビ¹⁵⁹⁻¹⁶²⁾、酵母¹⁶²⁻¹⁶⁴⁾、サトウキビの葉¹⁶⁵⁾などの酵素、あるいは *Aerobacter levanicum* の levan sucrose (3.2 参照) により生成されることが知られている (“II”¹⁶³⁾、“ α ”¹⁶⁰⁾)。化学構造は数人の研究者^{160-162,164)}により methylation 法で決定され、一致した結果を得ている。この糖は従来 inulobiosyl-D-glucose¹⁶⁰⁾、1-kestose¹⁶⁴⁾、glucofructosan B¹⁶⁶⁾、などと呼ばれてきたが、化学構造を表わすにはいずれも不十分で、最近 Allen と Bacon¹⁶⁵⁾ の提案した 1F- β -fructofuranosylsucrose という呼び名が最も合理的であろう。一方 Bacon と Edelman¹⁶²⁾

* この意味で trans glycosylation は、従来法として hydrolytic 作用をもつと認められていた一群の酵素の glycosyl 基転移作用を指し、phosphate や UDP の関与するものを含まない。またこの章では trans glycosylation によつて生成した少糖類の構造を中心に述べるので、酵素の性質などについては VI, 7 カルボヒドラーゼの項を参照されたい。

(1951) および Dedonder¹⁶⁷⁾ (1950, 51) はキウイモの塊茎から sucrose より高分子量の inulin に至るいろいろの重合度を持つ一連の少糖類を見出した。この中で重合度3のものが xxxiv) にあたり、この意味で inulotriose と呼ぶこともできる (総報 152 参照)。



この少糖類は酵母^{168, 169)}の酵素により生成されることが認められ、methylation 法により構造決定された¹⁶⁹⁾。 (“III”) 最初 kestose^{169, 170)} と命名されたが、その後他の異性体と区別するため 6-kestose と呼ぶように提案された。この場合にも化学構造を表すためには 6F- $\beta\text{-fructofuranosyl-sucrose}$ ¹⁶⁹⁾ という呼び名が便利である。



酵母の酵素により生成された三糖類の一つ (“II₂”¹⁶³⁾) は methylation 法により上のような構造をもつことが明らかになった¹⁶⁴⁾。この糖はサトウキビの葉の酵素¹⁶⁵⁾によつても生成されることが知られているが、カビの酵素によつて生成せれる “ α_2 ” と恐らく一致するだろう^{166, 168)}。

Pazur¹⁶⁹⁾ (1952) は *A. oryzae* により生成された四糖類が inulin 型の少糖類^{163, 167)}と同じ構造をもつことを認め、inulotriosyl glucose と呼んだが、(inulotetraose に相当する¹⁶²⁾) 最近、倉沢ら¹⁷⁰⁾ (1956) はこの糖を分離し、methylation 法により、Pazur¹⁶⁹⁾の提出した構造を確かめた。なお、さらに重合度の高い少糖類 “ γ, δ ”¹⁷¹⁾の生成されることも知られているが、その構造は未定である。

2.4 Transglucosylation により合成された少糖類*¹⁵²⁾

White と Maher¹⁷²⁾ (1953) は蜂蜜の invertase を sucrose に作用させると glucose と fructose の他に少なくとも6種の少糖類が合成されることを認めた。この中5種は酵母 invertase によつて sucrose より合成されるものとは異なっており、且つ最も主要な三糖類は酵母 invertase により fructose と maltose に、蜂蜜 invertase により glucose と sucrose に分解されるので、 $O\text{-}\alpha\text{-D-glucopyranosyl-1-(1}\rightarrow\text{4)-}\alpha\text{-D-glucopyranosyl-(1}\rightarrow\text{2)-}\beta\text{-D-fructofuranoside}$ と推定された¹⁷³⁾。

このような系列の少糖類すなわち fructose, sucrose, gluco-sucrose, malto-sucrose, maltotrio-sucrose, maltotetrao-sucrose(?) が蜂蜜中に存在することが、最近明らかになった¹⁷⁴⁾。

一方 melezitose [$O\text{-}\alpha\text{-D-glucopyranosyl-(1}\rightarrow\text{3)-}O\text{-}\beta\text{-D-fructofuranosyl-(2}\rightarrow\text{1)-}\alpha\text{-D-glucopyranoside}$]¹⁷⁵⁾が蜂蜜や manna に高濃度で含まれていることは古くから知られていたが、最近 Bacon と Dickinson¹⁷⁶⁾ (1955) は *Tilia* 種の葉には mele-

* p. 12 の脚注をみる。