

サンザシペクチンの構造特性と機能に関する研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 李, 拖平 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2476

氏 名（国籍）	李 拖 平（中華人民共和国）
学 位 の 種 類	博士（農学）
学 位 記 番 号	農博甲第 1 3 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 1 0 年 9 月 1 1 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	サンザシペクチンの構造特性と機能に関する研究
審 査 委 員	主査 岐 阜 大 学 教 授 加 藤 宏 治 副査 岐 阜 大 学 助 教 授 山 内 亮 副査 静 岡 大 学 教 授 碓 氷 泰 市 副査 信 州 大 学 教 授 黒 沢 辰 一 副査 岐 阜 大 学 教 授 渡 邊 乾 二 副査 岐 阜 大 学 教 授 篠 田 善 彦

論 文 の 内 容 の 要 旨

サンザシ (*Crataegus sanguinea*) は広く世界に分布するバラ科の植物である。中国ではこれを栽培、その果実を生食のほか、加工食品などに利用している。この論文は他の果実に比べその含量が数倍と言われるサンザシペクチンの高度利用を図るためその構造特性と機能を明らかにしようとしたものである。乾燥、脱脂した中国産のサンザシから冷水、熱水、蓚酸アンモニウム溶液で順次ペクチンを抽出したところ、冷水抽出ペクチンが最も収量が高く、且つ粘度も最も高かったので、このペクチン（サンザシペクチン）を以後実験対象とした。また、この粘性は市販のレモンペクチンのそれよりも大であった。そこで、両ペクチンの粘性の差異をペクチンの構造の面から検討することを試みた。両ペクチンを DEAE-sephadex A-50 column（溶媒、炭酸水素アンモニウム）で分画したところ主成分として粘性の高い画分（サンザシの C2、レモンの L2）及び粘性の低い画分（それぞれ C1、L1）の 2 画分が得られた。精製ペクチナーゼ処理で C2、L2 は完全に低分子化されたが、C1、L1 は完全には低分子化されなかった。C1、L1 の酵素分解を受けなかった画分（C1-1、L1-1）を更に DEAE-sephadex A-25 column（溶媒、炭酸水素アンモニウム）で分画したところ C1-1 からは 3 画分（C1-1-A、-B、-C）、L1-1 からは 2 画分（L1-1-A、-C）が得られた。C1-1-C と L1-1-C は糖組成および分子量がほぼ同じでその間に大きな差異が認められないにもかかわらず、C1-1-A および L1-1-A においては分子量が同程度ではあるが、構成糖に大きな差異が認められた。即ち、C1-1-A では Ara、Xyl、Glc を主構成糖とするのに対し L1-1-A では Ara、Gal、Glc を主構成糖としていた。このことから両ペクチンを形成する中性多糖（オリゴ糖）の基本骨格領域に大きな差異があることが判明した。この中性糖領域の基本的な違い、およびレモンには認められずサンザシに認められ

た酸性の画分、C1-1-B に相当する構造がペクチン分子に存在するか否かが、両ペクチンの粘性の違いの原因であると結論した。次に C1-1-A 及び C1-1-B のメチル化、酵素分解などによる構造解析の結果、C1-1-A は Xyl(1→6)Glu 構造を含む arabinoxyloglucan であり、C1-1-B はその構造の 1/3 は GalA が α -(1→4)結合で主鎖を形成し、その C2 あるいは C3 位に Gal、Man は側鎖として結合している構造をとり、残り 2/3 は GalA および Rha が α -(1→2)結合で主鎖を形成し、Rha の C4 位に Gal、Man、Ara などが側鎖として結合している構造をとっている、複雑な多糖であると推定した。

次にサンザシ及びレモンペクチンを粗ペクチナーゼで分解し、得られたペクチンオリゴ糖の抗菌性 (*E. coli*、*S. aureus*、*B. subtilis*、*S. faecalis*、*S. cerevisiae* を使用した) を調べてみたところ、サンザシペクチン分解物により強い抗菌性が認められた。そこで、抗菌性の差異を調べるために分解物のオリゴ糖組成をゲルクロマトグラフィーで検討したところサンザシペクチンの分解物中により重合度の高いペクチンオリゴ糖が多く含まれていることが分かった。サンザシペクチン酵素分解物に含まれる重合度 2 から 6 までの各オリゴ糖を単離し、各々の抗菌性を測定したところ、重合度 5、6 のオリゴ糖により強い活性が認められた。そこで、重合度 5 のオリゴ糖を用い構造と活性の関係について詳しく検討した。まず、構成ガラクトuron酸残基のカルボキシル基を還元し、カルボキシル基が完全に、及び部分的に還元されたオリゴ糖を調製、DEAE-sephadex A-25 column で精製した後、活性を測定したところ、カルボキシル基の数が減少するに連れ活性が低下することが確認された。次にカルボキシル基のメチルエステル化率について検討したところ大きな差異は認められなかった。なお、オリゴガラクトuron酸の pH による活性の変化は、酸性 (pH5.0~5.5) で強かったことから、カルボキシル基は非解離型であるほうが活性が高いということが分かった。以上からオリゴガラクトuron酸の活性発現には遊離で非解離型のガラクトuron酸残基が 5~6 ケ連続して存在していることがより高い抗菌性発現に必要であることが明らかになった。

審 査 結 果 の 要 旨

本論文は、中国で栽培されているサンザシ果実に含まれるペクチンの高度利用を目的としてその構造特性と機能を明らかにしようとしたものであり、二章から構成されている。一章ではサンザシ果実に含まれるペクチンの大部分は冷水可溶であり、その粘性は市販のレモンペクチンよりも高いことを見出した。更に、サンザシペクチンは、なぜレモンペクチンより粘性が高いのか？その構造的要因について検討している。両ペクチンを先ずイオン交換クロマトグラフィーで分画すると主成分として共に、2 成分 (画分 1 及び 2) が得られる。次にこれをペクチナーゼで分解すると、どちらも画分 2 は完全に分解されるのに対し、画分 1 は分解されない部分があった。この分解されなかった部分 (画分) をそれぞれ更にイオン交換クロマトグラフィーで分画したところ、サンザシものでは (A、B、C) の 3 画分、レモンのものでは (A、C) の 2 画分に分画された。それぞれの C 画分には共通性が認められたが、A 画分においては分子量に共通性が認められるものの、その構成糖においてはまったく異なっていた。即ち、レモンからの A では Ara、Gal、Glu を主構成糖とするのに対し、サンザシからの A では Ara、Xyl、Glu を主構成糖としていた。このようにサンザシペクチンとレモンペクチンではその中性多糖 (オリゴ糖) 領域の基本骨格構造に大きな差異があることを見出した。従って、レモンペクチンとサンザシペクチンの粘

性の差異は中性糖領域の基本的な差異、及びサンザシペクチンに見出され、レモンペクチンには見出されなかった酸性糖画分（画分C）に相当する構造がペクチン分子内に存在するか否かによるものと結論した。また、サンザシペクチンから得られた画分A、Bの構造解析を行い、部分的な化学構造の提示を行っている。

二章では、サンザシペクチンのペクチナーゼ分解物がなぜレモンのそれよりも高い抗菌性を示すのか？について構造の面から検討した。両ペクチンの酵素分解物をゲルクロマトグラフィーに供したところサンザシペクチンの方がより重合度の高いオリゴ糖を多く含んでいるのが認められた。そこでサンザシのペクチン分解物から重合度2～6のオリゴ糖を単離、それぞれについて *E. coli*、*S. aureus*、*B. subtilis*、*S. faecalis*、*S. cerevisiae* を用い抗菌性を調べた。また、これらオリゴ糖のカルボキシル基を完全に、または部分的に還元したものを調製し、同様に抗菌性を調べた。更にカルボキシル基をメチルエステル化したものを調製、メチル化率による抗菌性の変化、などを調べた。その結果から、オリゴガラクトロン酸の抗菌活性発現には解離していないカルボキシル基を有するガラクトロン酸が5～6ヶ連続して存在することが必要であると結論づけている。

以上について、審査委員会全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。

基礎となる学術論文

- 1 サンザシペクチンの分画とその性状、
日本応用糖質科学 45巻 27 - 32頁 (1998).
- 2 サンザシペクチン酵素分解物の抗菌性について
日本応用糖質科学 44巻 489 - 495頁 (1997).