# 1P223 α-1.3-グルカンの分子量と形態に及ぼす酵素重合温度の影響

## (東京大学大学院農学生命科学研究科) 〇小宮優吾、木村聡、岩田忠久

### 【緒言】

高分子多糖には様々な種類が存在し、様々な性質を持つ環境調和型の高分子材料として石油製品を代替できる可能性が期待できる。 $\alpha$ -1,3-グルカンは水不溶性、結晶性の多糖であり、天然物から得ることは困難であるが、グルコシルトランスフェラーゼ (Gtfs)を用いると、スクロースから水系でワンポット合成でき、純粋な直鎖の $\alpha$ -1,3-グルカンを得ることができる。本研究では $\alpha$ -1,3-グルカンの酵素重合の条件検討を行い、微細構造の変化について分析した。

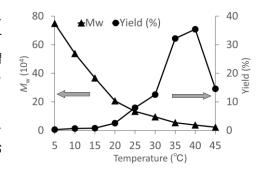
#### 【実験】

スクロース濃度  $0.25\,M$  -  $1.5\,M$ 、pH  $5.5\,$  の酢酸緩衝液を含む反応液に GtfJ  $0.05\,U/mL$  を加え、 $5^{\circ}C$  -  $45^{\circ}C$  の温度条件で 3 日間静置した。酵素ユニットは  $30^{\circ}C$  で 1 分間に 1  $\mu$ mol のフルクトースを遊離させる酵素量を 1U とした。遠心分離により生成物を洗浄、回収し、凍結乾燥した。これらの試料の収率および分子量を測定した。収率は、スクロース中の全グルコースが変換された場合を  $100^{\circ}$ として表した。乾燥試料の X 線回折測定 (XRD) と含水状態の試料の透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察を行った。

## 【結果と考察】

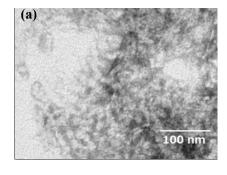
一例としてスクロース濃度 1.0~M における収率と分子量を Fig. 1 に示す。反応温度を下げていくと分子量が 2~ 万から 75~ 万 へと増加した。収率は 40 °C までは反応温度の上昇とともに増加した。他のスクロース濃度においても概ね同様の傾向が見られ、1.5~ 1.

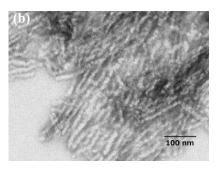
反応温度とスクロース濃度が  $\alpha$ -1,3-グルカンの形態にも大きな影響を及ぼすことが TEM 観察からわかった。Fig. 2 にネガティブ染色を施した TEM 像を示す。スクロース濃度 1.0 M における反応で、低温条件 (5-10°C) では不明瞭な構造が観察されたが (Fig. 2a)、反応温度の上昇につれ (20-35°C)、明瞭なミクロフィブリル構造 (直径約 15 nm, 長さ 0.3 – 1  $\mu$ m) (Fig. 2b) が生成した。さらに高温ではラメラ構造 (Fig. 2c) が主として生成した。一方で 1.5 M 反応においてはいずれの温度で



**Fig. 1** Yield and molecular weight of  $\alpha$ -1,3-glucan synthesized from 1.0 M sucrose on different temperature

もミクロフィブリルが生じた。XRD の結果より、反応温度が高いほど結晶化度が高くなる傾向が見られた。  $\alpha$ -1,3-グルカンの結晶性は形態に影響を及ぼしていると考えられるため、非乾燥状態の試料を用いて形態と結晶構造の関連について精査する必要がある。





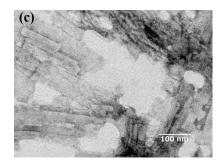


Fig. 2 TEM images of  $\alpha$ -1,3-glucan synthesized at 5°C (a), 30°C (b), and 45°C (c)

Effect of Temperature of Enzymatic Synthesis on Molecular Weight and Morphology of α-1,3-Glucan, <u>Yugo KOMIYA</u>, <u>Satoshi KIMURA</u>, <u>and Tadahisa IWATA</u>: Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan, Tel: 03-5841-5266, Fax: 03-5841-1304, E-mail: atiwata@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp