

糖の化学的安定性と生物反応としての糖

平林 淳*

Chemical stability and biological reactions of saccharides

Jun Hirabayashi

Abstract

On the basis of classic glycochemistry (formose reaction, aldol condensation, and Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein transformation), modern biochemistry (biosynthetic pathways), and contemporary glycobiology (structures and functions of glycans), a hypothesis on the origin of saccharides is introduced. It insists that the chemically most stable hexoses were available on the prebiotic earth, which include fructose, glucose and mannose as the first triplet saccharides. On the other hand, galactose and ribose together with other less common saccharides are characterized as late-comer saccharides as a result of "bricolage" strategy by primitive lives.

1. はじめに

炭水化物(carbohydrate)とも呼ばれる糖は、その名の通り炭素に水が付加した簡素な組成($nC + nH_2O = (C_nH_{2n}O_n)_n$)をもつ。しかし、エナンチオマー、ジアステレオマー、エピマー、アノマーなど多くの異性体が存在し、一般に「難解」のイメージが強い。いくつかの糖がつながった糖鎖ではさらに複雑さが増大する。核酸やタンパク質にはない「分岐」や「結合異性」が生じるためだ(Laine, 1994)。このような糖鎖は例外なくすべての生物細胞上に発現されるが、一般に単独で存在するのではなく、糖タンパク質・糖脂質・プロテオグリカンといった複合糖質(glycoconjugates)の形で膜に根を下ろしている。糖鎖構造は生物の種類や組織ばかりでなく、発生段階や癌などの細胞状態を

反映しており、このことから、糖鎖は「細胞識別」の礎をなす第三の生命情報高分子と目される。しかし、アミノ酸や核酸と比べると、糖の起源についてはこれまであまり議論されることがなかった。ここでは、糖の非生物的合成として知られるフォルモース反応(古典的糖化学)、糖の生合成機構(近代生化学)、糖鎖の構造・機能に関する知見(現代糖鎖生物学)を紹介しながら、糖の起源と生命進化との関連について述べる。

2. 生物が採用している糖と採用していない糖

図1にすべてのアルドペントースとアルドヘキソースの構造を示す(簡略のためすべてD-体、 β -アノマーで表記)。ここでは、実際に生体内でとっている六員環ピラノース形で表記した。代表的な六炭糖にはグ

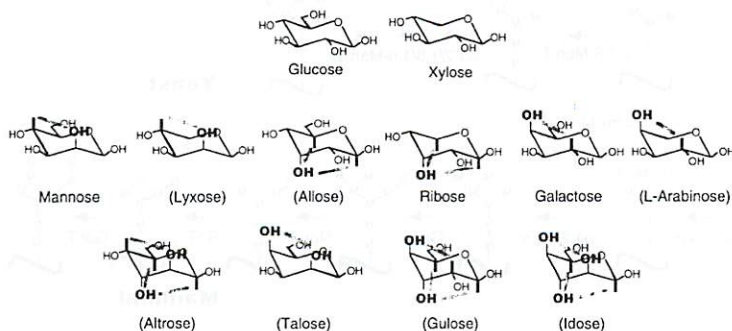


図1. 生物が採用している糖と化学的安定性の関係 生物界に広く存在するアルドヘキソースは理論的に可能な8種類のうちグルコース、マンノース、ガラクトースの3種類のみ。これらはすべて椅子形(C1)コンフォメーションをとったとき、最少のアキシアル置換基をもつことから、アルドヘキソースの選択は椅子形構造の安定性と密接な関係があることがわかる。

* 〒199-0195 神奈川県津久井郡相模湖町寸沢嵐1091-1 帝京大学薬学部生物化学教室

表1. 平衡溶液中のピラノース形・フラノース形、及びアルデヒド形の割合

	ピラノース形 ¹⁾	フラノース形 ¹⁾	アルデヒド形 ²⁾
Glucose	100(%)	—	0.024(%)
Mannose	100	—	0.064
Galactose	100	—	0.082
Allose	88	12	1.38
Altrose	67	33	データなし
Gulose	94	6	データなし
Idose	68	32	データなし
Talose	69	31	データなし
Xylose	100	—	0.17
Lyxose	100	—	0.40
L-Arabinose ³⁾	97	—	0.28
Ribose	76	—	8.5

- 1) NMRによる分析結果。ピラノース形とフラノース形の計が100%になるように記載。
- 2) ポーラログラフィによる分析結果。
- 3) Arabinoseに限りFischerの投影法表記では下から2番目の炭素 (C4) に付いた水酸基が左側に来るため、記載上L-糖となる。因みに、L-arabinoseは植物界に広く存在するが、D-arabinoseは、細菌類などで稀に見つかるに過ぎない。

ルコース、マンノース、ガラクトースがあるが、同じ六炭糖であってもグルコース、アルトロース、アロース、イドース、タロースは天然には殆ど存在しない。この観察事実を糖の化学的安定性と照らし合わせてみよう。一般に、シクロヘキサン系の化合物ではアキシャル置換基の存在で環（通常は椅子形）の安定性が著しく低下する。「1,3-ジアキシャル相互作用」と呼ばれ

る立体障害が生じるためだ。事実、ピラノース形のアルドヘキソースでは例外なくC1型と呼ばれるコンフォメーションが優勢になり、C5位についた-CH₂OH基はエクソトリアル配置となって環の外側を向く。グルコースでは全ての置換基がエクソトリアル配向で1, 3-ジアキシャル相互作用が一つもない。このことは、グルコースが最も安定な六炭糖であることを意味する。実際、グルコースでは平衡関係にあるアルデヒド形の存在比(0.024%)がきわめて低い(表1)。グルコースは五員環のフラノース形をとることもできるが、ピラノース形の高い安定性のためフラノース形の存在は確認できない。一方、グルコースのエピマー（水酸基の配置が一カ所だけ異なる異性体）であるマンノース（2-エピ-グルコース）、アロース（3-エピ-グルコース）、ガラクトース（4-エピ-グルコース）はそれぞれ一つのアキシャル性水酸基をもつ。マンノースとガラクトースは生物界に広く存在するが、アロースは自然界にはほとんど見いだされない。この理由は明らかでないが、これらエピマー間の重大なちがいを指摘できる。マンノース、ガラクトースには1,3-ジアキシャル相互作用が一つしかないが、アロースには二つある。これはピラノース環がシクロヘキサンとは異なり、環内に酸素を含むためだ。つまり、マンノースとガラクトースでは（本来あるべき）もう一つの1,3-ジアキシャル相互作用が回避されている。アロースは疑いなく不安定なアルドヘキソースで、アルデヒド形の存在比はマンノースやガラクトースと比べると約20倍も高い。これらの観察は「安定な糖が生物に採択される」という

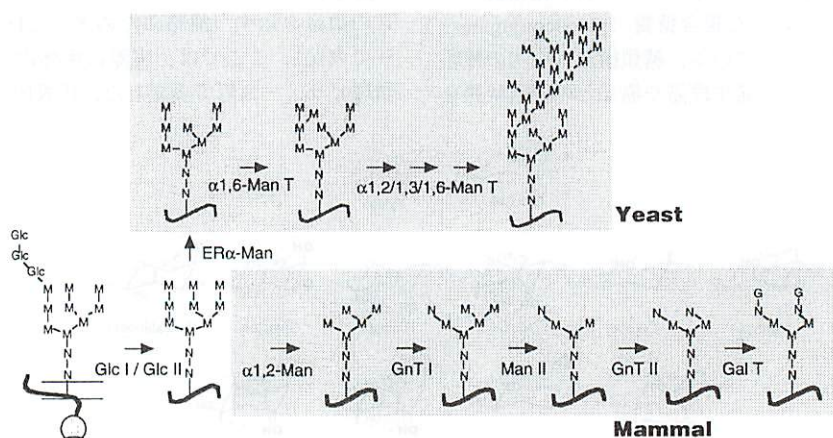


図2. アスバラギン結合型糖タンパク質糖鎖 (N-グリカン) の生合成機構 酵母 (上段) と哺乳類ではともに共通の前駆体 (Glc₁Man₅GlcNAc₂-ドリコルリン酸) から生合成が始まるが、酵母ではプロセッシングと呼ばれる刈り込み過程後、種々のマンノース転位酵素のはたらきでマンノースに富んだ高マンナン構造ができる。これに対し、哺乳類 (下段) ではマンノースの刈り込みが徹底的に行われ五糖からなるコア構造 (Man₅GlcNAc₂) ができる。さらに生合成が進行しN-アセチルグルコサミンとガラクトースが転位 (N-アセチラクトサミン) されると「複合型」となる。マンノースの刈り込みの段階で生合成が停止したものを「高マンナン型」、高マンナン型のうち部分的に複合型構造ができたものを「混成型」と言う。図中、NはN-アセチルグルコサミンを、Mはマンノースを、Gはガラクトースを表す。

経験則を導く (Hirabayashi, 1996)。

一方、炭素数が5のアルドペントースにはキシロース、リキソース、リボース、L-アラビノースの4種が存在する。これらは構造的にそれぞれ、グルコース、マンノース、アロース、ガラクトースに対応する。キシロースを基準にとると、リキソースは2-エピ-キシロース、リボースは3-エピ-キシロース、L-アラビノースは4-エピ-キシロースとなる (アラビノースだけL-型となることに注意)。このうち、キシロース、L-アラビノースは植物界に広く存在するが、リキソースはごく例外的にしか見いだされない。リボースは核酸 (RNA) の中心物質であるが、複合糖質中には全く見られない。注目すべきは、リボースのアルデヒド形の存在比 (8.5%) が異常に高い点だ。単糖レベルで見た限り、リボースは明らかに化学的安定性を欠く。

3. 糖鎖構造と階層性

上で述べた複合糖質のうち、糖タンパク質糖鎖、中でもアスパラギン結合型糖鎖 (N-グリカン) については広範な研究がある (Trimble and Verostek, 1995)。興味深いことに、N-グリカンの生合成は酵母から哺乳類まで広く保存されており、すべて $\text{Glc}_3\text{Man}_5\text{GlcNAc}_2$ -ドリコールリン酸という共通の前駆体が発端となる (図2)。しかし、プロセッシングと呼ばれる刈り込みの過程が異なるため、最終的な構造に大きな違いが生じる。酵母ではいわゆる「高マンナン」と呼ばれるマンノースに富んだ構造ができるのに対し、哺

乳類では分岐点に当たる $\text{Man}_5\text{GlcNAc}_2$ から「高マンナン型」「混成型」「複合型」と言ういずれかの型へと転換する。最も成熟した複合型ではコア構造 ($\text{Man}_5\text{GlcNAc}_2$) にN-アセチルグルコサミン、続いてガラクトースが転位され、その結果、高等動物に普遍的な「N-アセチルラクトサミン」と言う二糖構造ができる。これらの反応を触媒する糖転位酵素は小胞体、およびゴルジ体に局在するが、ガラクトース転位酵素は最後尾となるトランスゴルジに位置する。すなわち、グルコースやマンノースは先付けだがガラクトースは後付けなのだ。

酵母などの下等生物ではもっぱらグルコースとマンノースを用い、高等生物ではガラクトースを採択するに至った背景は何だろう。糖鎖生物学では、一般にガラクトースを「認識糖」として捉える。この主張は多くの血液型糖鎖抗原が主要エпитープとしてガラクトースを含むという観察に基づく。さらに、ガラクトースを特徴づけるアキシアル4-OH基がレクチンや抗体などの糖結合タンパク質にとって重要であるとの知見もある。生物にとってガラクトースを見分けることは格別の意味をもつようだ (Hirabayashi, 1996)。

4. 古典的糖化学反応: Lobry転移とアルドール縮合

グルコース、マンノースと比べて、ガラクトースには固有のニュアンスがあることを述べた。この点を根本的に示す事例としてLobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein転位 (以下、Lobry転位) を挙げる (Speck,

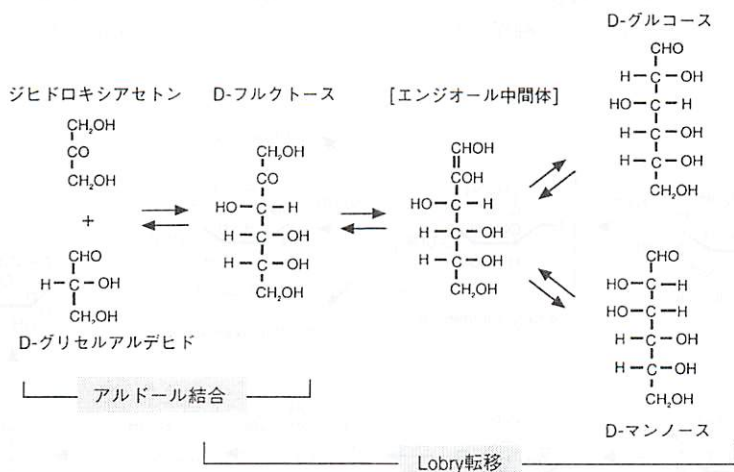


図3. Lobry転位とアルドール縮合 (右) Lobry転位 (正式には, Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein転位) では、ケトースであるフルクトースからエンジオール中間体を経て安定アルドースであるグルコースとマンノースが生成する。一般に塩基触媒存在下で進行し平衡混合物を与えるが、一般にC1コンフォメーションの安定性が低いマンノースの生成量は低い。(左) アルドール縮合では攻撃する側 (求核種) と攻撃される側の組み合わせが4通りあるが、直鎖状の六炭糖が生成するのはジヒドロキシアセトンがD-グリセルアルデヒドを攻撃した場合のみ。逆反応は解糖系におけるアルドール解裂 (フルクトース-1,6-ビスリン酸が解裂してグリセルアルデヒド-3-リン酸とジヒドロキシアセトンリン酸を生成) に相当する。

1958)。「糖化学」の遺産とでも言うべきLobry転位はフルクトース・グルコース・マンノース間に起こる転位反応で(図3), 一般に塩基触媒存在下で進行する。例えば, グルコースを飽和石灰で35℃, 10日間処理すると, グルコース63.5%, フルクトース31%, マンノース2.5%が得られる。収率は用いる塩基によっても変わるが, 先に述べた1,3-ジアキシャル相互作用により, 一般にマンノースの生成量は低い。平衡反応のため, 反応をフルクトースやマンノースから開始しても結果は同じになるが, ガラクトースは生じない。反応の本質は「ケト-エノール互変異性」で, これは糖化学の基本とも言える。原理的には, C2-C3位間に二重結合をもつエンジオール中間体ができれば, 3位が異性化したアロースも生じうるが, マンノースよりさらに安定性に劣るアロースはこれまで検出されていない。Lobry転位が平衡反応である点を強調しておく。

ケトースに属するフルクトースは今までの話には登場しなかったし, 一般に複合糖質中にも見られない。しかし, フルクトースが基本構成糖であるグルコースとマンノースと化学的に「近縁」なのは意味深い。生物はLobry転位を土台として, これら三糖間の代謝経路を進化させたと思われる。事実, グルコース・マンノース・フルクトース間の異性化は6-リン酸化体で起こるものの, 反応機構はLobry転位と本質的に同じである。一方, フルクトースは「解糖系」で中心的役割を演じる。解糖系というグルコースからのエントリーを想起するかもしれないが, 実際の起点はフルクトース1, 6-二リン酸のグリセルアルデヒド-3-リン酸とジヒドロキシアセトンリン酸への解裂反応と言べきだ。この反応はアルドラーゼによって触媒されるが,

反応条件を選ぶことによって非酵素的逆反応(アルドール縮合; 図3)も可能である(Stanek *et al.*, 1963)。ただし, アルドール縮合の反応機構から直鎖状の六炭糖が生成するのは, ジヒドロキシアセトンが求核種となってグルセルアルデヒドを攻撃したときだけで, その他の組み合わせでは自然界にはない「分岐糖」が生成する。また, 生成物はケトースに限られ, 原理的にグルコースなどのアルドースは生じない。

5. 先発糖(フルクトース・グルコース・マンノース)と後発糖(ガラクトース・リボース)

今までの内容を整理してみよう。糖鎖を構成する基本糖にはグルコース, マンノース, ガラクトースなどのアルドヘキソースがあり, これらはピラノース形をとったとき最も安定なコンフォメーションをもつ糖として特徴づけられた。しかし, 糖鎖の生合成を酵母と哺乳類間で比較することでガラクトースの異質性が指摘された。この観察を裏付ける糖化学反応(Lobry転位)の存在から, グルコース・マンノース・フルクトース間の近縁性に化学的基盤が与えられ, 同時にガラクトースは後発糖(late-comer)と見なされた。

前三者がLobry転位を土台として生合成されていることは既に述べた。では, ガラクトースは生体内でどのように合成されているのか。詳細は省くが, 様々な糖の生合成機構を調べると興味深い共通点が浮かぶ。ガラクトースを始め, いずれもグルコースかマンノースを出発物質として合成されているのだ。図4にガラクトースとリボースの生合成機構を示すが, ガラクトースはUDP-グルコースからUDP-ガラクトース-4-エピメラーゼのはたらきで4位がエピマー化される。この際,

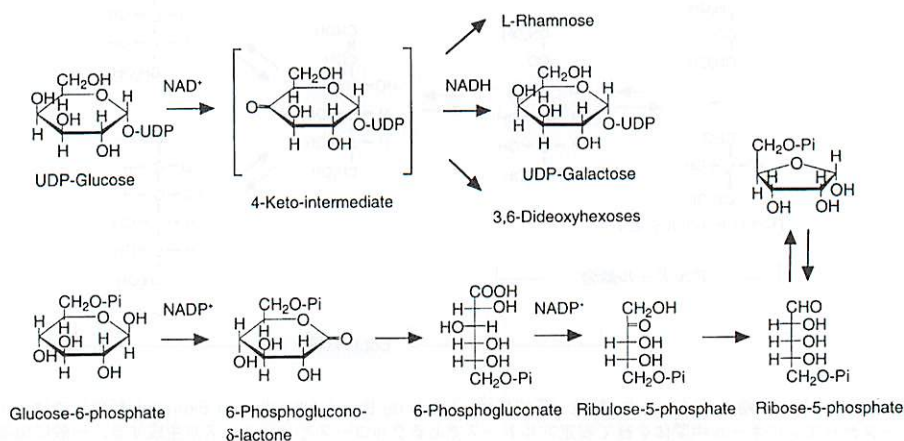


図4. ガラクトースとリボースの生合成機構 ガラクトースの生合成では4位のエピマー化のためNAD⁺が用いられるのに対し, リボースの生合成ではグルコース-6-リン酸からの脱炭酸のためNADP⁺を用いて1位を酸化しアルドン酸へ導いている。リブロースからリボースへの転換は図3のLobry転位と同じ機構で進む。

NAD⁺のはたらきで4-ケト中間体が生じる。リボースの合成はペントースリン酸経路に登場するが、ここでも補酵素 (NADP⁺) が用いられる。ただし、酸化されるのは1位でその結果ラクトンが生成する。次にこれが開環しアルド酸となり、脱炭酸、ケト-エノール互変異性を経てリボースとなる。実に複雑な経路だが、補酵素を用い環を酸化している点はガラクトースと共通する。他の糖の生合成でも五炭糖への変換では脱炭酸、3, 4, 5位の異性化では4-ケト中間体の形成、2位の異性化ではLobry転位が使われている。一見多様な糖の生合成も結局は類似した反応の使い回しにすぎない。原料も同じものが反復して使われている。まさに、Jacob (1982) が指摘した生物の「ブリコラージュ (bricolage)」戦略である。

6. フォルモース反応と単糖起源のシナリオ

糖の起源を論ずるには以上述べたことがらと辻褃の合う化学反応を提示しなければならない。ここで、糖の非生物的合成として唯一知られるフォルモース反応が登場する (Decker *et al.*, 1982)。ホルムアルデヒド (CH₂O) を塩基条件下で反応させると、炭素数2のグリコールアルデヒドから先に触れた三炭糖へと重合が進み、さらにこれらがアルドール縮合した六炭糖くらいまでの糖の混合物が生成する。一般に用いられるフォルモース反応の条件 (高いホルムアルデヒド濃度、塩基性条件など) が生命起源の条件として妥当か、という議論もあるが、アルミナやカオリナイトなどの粘土鉱物を用い、より低濃度の出発原料から六炭糖を得たという報告もある (Gabel and Ponnumperuma, 1967)。しかし、生成物の同定に関しては問題を残しており、より現代的なセンスでの検証が求められる。もっと深刻な問題は糖の反応性である。もし、原始大気が強い還元性であったなら、多量のアンモニアが直ちに糖と反応してしまうからだ。一方、最近提案されているように、弱い還元性、もしくは非還元的な大気を想定するなら、不活性な窒素ガスが糖を喰い尽くすことはなかっただろう (Miller, 1987; Shapiro, 1988)。

以下、原始地球上にフォルモース反応の条件が整っていたと仮定して議論を進める。まず、グリセルアルデヒドやジヒドロキシアセトンが生じ、次にこれらがアルドール縮合し、フルクトースやその異性体であるソルボース等のケトースが生成する。このうち、唯一フルクトースはLobry転位によって最安定なアルドヘキソースであるグルコースに転換する (ソルボースからは理論的にはグルコースとイドースが生成)。準安定なマンノースもグルコースと比べると少量だが生成する。このシナリオによると、生命誕生以前にすでに起源三糖であるフルクトース・グルコース・マンノース

は十分調っていたことになる。原始生命がどの様に誕生したかは定かでないが、最初の生命はこれら三糖を最も身近な原料として採り入れ、同時に代謝経路を発達させていったにちがいない (ブリコラージュ戦略)。その結果、ガラクトースやリボースをはじめ多くの後発糖が合成、選択されていった。中でも、ガラクトースはグルコースに次ぐ安定性と認識糖としての資質を備え、糖鎖の中で独特の地位を獲得していったと思われる。ガラクトースはバクテリアにも含まれるが、認識糖としての役割を確立したのは多細胞生物の誕生以降ではないだろうか。一方、リボースは単独ではきわめて不安定な糖でありながら、ヌクレオチドの要として他の糖の追隨を許さなかった。このため、遺伝物質の中核を担う糖として固定されたのだろう。

7. RNAワールド仮説の威光と危うさ

RNAにヌクレアーゼ活性などの触媒能があること、レトロウイルスがRNAを遺伝物質としてもつことが示され、いわゆる「RNAワールド仮説」が提出された (Cech, 1987)。この説は当初「RNAにも触媒能があることからDNAやタンパク質に先んじた時代があった」という程の主旨だったと思うが、いつの間にか「RNAが最初の遺伝情報物質」と誇大解釈されてしまったようだ。この説は確かに魅力に富んでいるが、「リボヌクレオチドがどの様に生成したか」と言う現実的な問に対しては何も答えていない。未だかつてリボヌクレオチドの非生物的合成は選ぜられていないし、その原料となるリボース量産の筋書きすらない。既に述べたように、リボースもガラクトースも他の後発糖と同様ブリコラージュの産物に過ぎず、誕生後の生物による産物と考えるべきだ。RNAに代わる「失われた輪」を想定する方がむしろ現実的だろう。

8. まとめ

フォルモース反応、アルドール縮合、Lobry転位を基盤とする糖の起源に関するシナリオを紹介した。しかし、このシナリオだけからグルコースやフルクトースが十分生成したと想定するのには尚無理がある。実際のフォルモース反応はきわめて複雑で、酸化、還元糖、分岐糖、分解物など多くの副生成物が生じるし、最安定と言ってもグルコースでさえ熱や酸に弱くアミンとの反応性も高い。グルコースは如何にして安定に多量に蓄積できたのか。実は、これまでの議論で触れていない重要な点がある。

「糖鎖の起源」である。糖鎖はグリコシド結合によって形成されるが、これによって単糖が本来もっていた還元性や反応性は失われる。もし、グルコースが α 1-4結合で重合すると重要なエネルギー源 (デンプン)

となるが、 β 1-4結合で重合すると繊維（セルロース）となる。セルロースは分子内水素結合によって機械的強度をもった不活性物質であり、バクテリア細胞壁を構成するペプチドグリカンの基幹構造（キチン）とも関連が深い。フォルモース反応以下、グルコースが生成する反応は全て平衡反応であった。もしセルロースのように安定な重合体ができる機構があったなら、平衡はますますグルコース形成に傾いたはずだ。原始地球上の干潟（ α ）の条件で、このような脱水縮合反応が加速され、生命誕生へ向けた多量のグルコース蓄積が準備されたとは考えられないだろうか。

文 献

- Cech, T.R. (1987) The chemistry of self-splicing RNA and RNA enzymes. *Science*, **236**, 1532-1539.
- Decker, P. Schwear, H., and Pohlmann, R. (1982) Identification of formose sugars, presumably prebiotic metabolites, using capillary gas chromatography / gas chromatography-mass spectrum of n-butoxime trifluoroacetates on OV-225. *J. chromatogr.*, **224**, 281-291.
- Gabel, N.W. and Ponnampuruma, C. (1967) Model for origin of monosaccharides. *Nature*, **216**, 453-455.
- Jacob, F. (1982) *The possible and the actual*. Pantheon Books, New York.
- Hirabayashi, J. (1996) On the origin of elementary hexoses. *Quart. Rev. Biol.*, **71**, 365-380.
- 平林淳 (2000) 生命の起源を糖の生化学から探る. 化学と教育. **48**, (4) (印刷中).
- Laine, R.A. (1994) A calculation of all possible oligosaccharide isomers both branched and linear yields 1.05×10^{12} structures for a reducing hexasaccharide: the Isomer Barrier to development of single-method saccharide sequencing or synthesis system. *Glycobiology*, **4**, 759-767.
- Miller, S.L. (1987) Which organic compounds could have occurred on the prebiotic earth? Cold Spring Harbor Symp. *Quant. Biol.*, **52**, 17-27.
- Shapiro R. (1988) Prebiotic ribose synthesis: a critical analysis. *Origin Life Evol. Biosphere*, **18**, 71-85.
- Speck, J.G.Jr. (1958) The Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein transformation. *Ad. Carbohydr. Chem.*, **13**, 63-103.
- Stanek, J., Cerby, M., Kocourek, J. and Pacak, J. (1963) Total synthesis of the monosaccharide series. In Stanek, J. ed., *The monosaccharides*. 169-174, Academic Press, New York.
- Trimble, R.B. and Verostek, M.F. (1995) Glycoprotein oligosaccharide synthesis and processing in yeast. *Trends Glycosci. Glycotechnol.*, **7** (33), 1-30.