



前田 昌徹：連鎖について —海藻多糖の化学構造研究—

プロローグ

ミレニアムを迎えた年の春、34年間勤めた埼玉大学理学部生化学教室(現分子生物学教室)を退官した。この間、海藻多糖の化学構造を解明することに興味をおぼえ、この縁から藻類の世界に入り込み、多くの先生、友人、学生達に支えられながら研究生活を続けることができたことに、私はいま大きな喜びを感じている。これは、糖残基の連鎖による糖鎖構造や多糖の世界が成り立つように、時代を通じて人々と拘り合う連鎖の世界と同義であり、両者に相通じる想いはさまざまな感慨を呼び起こす。

今世紀の生命科学の革命の時代に、多糖についての研究法にも幾多の変革があり、そこから海藻多糖についての研究成果や認識も大きく変化し、進展してきている。そのような流れの中であって、ある研究室がどのようにしてささやかな研究を続けてきたのかを中心に、海藻多糖の研究の一例を述べてみたい。

私がサイエンスの道に至るまでの前史を思い起こすとき、それなりの紆余曲折の末に辿り着いた世界のように思える。高校(都立九段高等学校)に入学した1950年(昭和25年)は、まだ戦後の影が強く漂っていた時代でもあった。ちょうどこの年に封切られた今井正監督の「また逢う日まで」の映画に感動し、「ピエールとリュース」と題する原作を通じて、その原作者であるフランスの思想家に傾倒したままに高校の3年間は過ぎた。そこには何となく理系よりも文系により大きな魅力を感じる多感な時期の意識もあり、卒業の年には自分の進路を勝手に文系に決め、ある私大の仏文科を受験し、一次試験に合格するという既成事実を作ってしまった。このことに父親が激怒した。今の時代ならば、子供の意志を持った行動を成長の証しとして喜ぶことであろうが、明治の生まれの人には、子が親の言いなりにならなかったことの方がショッキングな出来事であつたらしい。医者であった父親は当時、都心に自分の病院を開業したところであつて、ゆくゆくはこの経営の手助けを、将来はこれを盛り立てよとする期待からの強い圧力があつた。結局この圧力に負けた結

果、文系への志望はあえなく断念し浪人となって医者になるべく受験勉強に励む道を進むことになった。当時、医学部の専門課程へ進むには、教養課程を修了した資格さえあれば、どの大学からでも専門課程への受験が可能であつたため、取りあえず(との言い方には大いに語弊があるが)1954年に東京教育大学農学部に入學した。しかし、その後の2年間を受験だけを目的として気に染まない勉強を義務的に続けるだけの生活からは本当の勉強が身につく筈もなく、あえなくこの計画は挫折しその後の将来はともかく農学部を卒業してから考えることにした。

大学時代—赤外線吸収スペクトル分析との出会い

そこから改めて勉強を始めた農学部での専門の講義は非常に興味深く毎日が面白く新鮮な日々をすごすことができた。生まれて初めて地下足袋を履いて参加した農場実習での畑作、田植え、花卉栽培などの農作業は、まさに額に汗して自ら種を播くことであつた。牛の分娩へ徹夜で立ち会い、無事に出産した子牛の体を拭いながら朝の空を仰いだこと、あるいは生きた鶏の首に刃を当て、子豚を去勢し、はては種豚の屠殺からハム、ソーセージの製造に至る畜産加工実習などは、己の生を支えている食なるもとは生き物であり、自分が生きるということは他者の生命を奪うとする厳粛な事例を実地に学ぶ場であつた。都会に育ち、ただ詰め込み勉強によってのみ観念的な知識を身につけていただけにすぎなかった自分には、生きる基本とか生命の尊厳などが体に刻み込まれることであり、仮にこの体験がなかったならば、昨今の若い人のようにマグロの切り身が海を泳ぐような思い込みや、果ては思い入りまでも到る場合も存在したかも知れない。

学生実験では、ガラスのキャピラリーの先端からタンパク質の加水分解物の一滴を灼紙にスポットして、展開、発色した後に組成アミノ酸の同定を可能にしたペーパークロマトグラフィーには瞠目し、この再現性の高い簡便な微量分析法は、やがては体系化されて来るべき時代を切り拓く方法となるであろうとの予感を

覚えた。卒業研究では、栽培法の異なるコメデンプン組成についての比較、検討を行った。当時の食料難の時代には、あらゆる米栽培法が試行された中で、開田米と称して苗が成育するまでの期間だけを十分な灌水を行い、その後は畑地で稲作を行う方法があった。ここで収穫されたコメは陸稲程ではなかったが、水田で耕作されたもののように美味でなかった。現在この原因は平均して約6%ほど含まれるタンパク質にあることが知られていて、この量が低くなるほど美味となることから施肥にも問題の一因が求められているが、当時は成育環境の違いによってデンプン組成に、アミロースとアミロペクチンの量比の変化が起これると考えられた。優れた実験指導者などは皆無の中で、文献のみを頼りに脱タンパク処理を行ったコメデンプンから、Schoh (1944)の方法でブタノール錯体としてアミロースを分別した後の上清におけるアミロペクチン量を比色定量で比較を行う内容の実験であった。当然ながら、両者の間では有為な差を認めるには至らなかったが、このような最初の経験であった多糖の扱いが、将来、自分の専門の分野に進む糸口になろうとは当時は夢想にもしなかった。このような環境に身を置けたお蔭で、遠回りをしたあげくに生命科学に対する憧憬を覚え、化学との接点において生命への理解を深めたいとする気持ちが高まり、研究の道を進むことを考えるようになった。しかし進学を前に化学に対する知識の不足を痛感していたことから、この分野についての基礎的な勉強をさらに深めたいとして農学部の卒業(1959年)後は、同じ大学の理学部化学科の三年次に学士入学をした。

いま、戦後から現在までの有機化学、天然物化学、あるいは生化学の顕著な進展を振り返るとき、そこには、微量でかつ複雑な状態で存在している目的物質の分離技術(クロマトグラフィー)の進展と、単離された微量試料の非破壊的な分析を可能としたスペクトル分析の進展が大きく寄与していることが知られる。それまでは、ともすれば経験とか暗記的な要素が多かった有機化学が、電子論を中心として新しい体系を求めながら反応論とか、構造論などへの系統的な再編が始められようとした頃であり、学生の身でありながらもこのような戦後の荒野に押し寄せる新しい時代の学問の興りがまさに山が動かんとするような音をたてつつあるように聞こえ、時代が動いているとの実感を目前に感じさせられていた。このようなエキサイティングな息吹を象徴するような事例の一つに、フルブライトの留学生としてハーバート大のフィーザー教授のもと

での研鑽から帰国された中西香爾先生が赴任されてきたことだった。当時、先生によって邦訳され「フィーザーの有機化学」(丸善)は、それまでのテキストで踏襲されていた内容が大きく改訂された斬新なもので、その後の有機化学の教育や学習のあり方に大きな影響を与えたことは今でもよく語られている。先生は、新たに開設された「有機化学研究法」などの講義や演習を通じて学生達にスペクトル分析、特に赤外線(IR)スペクトルの徹底した訓練を行われた。この講義は「化学の領域」に連載された原稿がベースになっていたが、出版後はベストセラーとなったと聞き及んでいる⁽¹⁾。

それと同時に先生は、この大学に付属する光学研究所のグループによる「光研DS-301型赤外分光光度計」と命名された国産分光器の試作にも参加され、この第1号機を化学教室に置かれた。当時この種の大型機器が設置された大学などは皆無であっただけに、我々学生にとっては、IRスペクトルが学生実験の簡単な合成物の同定にさえも利用されるきわめて恵まれた環境にあった。その後、他大学などからこの分光器を利用していたIRスペクトルの測定依頼が増える中で、それぞれの分子の特性吸収帯の振動数を整理し、図表化を行い、未知化合物の構造解析に役立てる目的で、研究室内にIRDC(赤外吸収スペクトルデータ委員会)をつくられ、パンチカードに必要事項を記載したデータカードが南江堂より発行された。たまたまこのお手伝いに参加する機会に恵まれ、また偶然にも炭水化物のセクションを受け持つことになって、標準試料の収集と共にそれらについての各種データの測定、文献値との照合、特性吸収帯のチェックなどを行なった。「門前の小僧」の例ではないが、このようにして毎日スペクトルを眺めている日常が続くと、糖質分子の特徴が少しずつ識別できるようになり、スペクトル解析もそれほど苦にならなくなってきた。

またこの頃、同じ理学部の建物(W館)の二階の植物学教室では、三輪知雄教授、西沢一俊助教授(当時)の研究グループによる、糖転移酵素の反応生成物やいろいろな植物多糖の標品が得られていることを聞き、両先生を無遠慮にもお訪ねして珍しい試料を系統적으로ご提供いただいたりした。またこのようなご縁から、植物学科での両先生による植物生化学や生理学などの講義も興味深く聴講させていただいたりもした。

大学院時代—クロマトグラフィーへの興味

このような興味の赴くまま、大学院への進学を真剣に考えるようになった。この時期に、不運にも中西先

生が東北大学に転出されることになった。当時の世相では、未知の地で一人暮らしをする自信もなかったことから、さきの植物学教室の先生方にご相談した結果、大学院の試験を受けることを勧められた。この時の一夜漬での分類学とか形態学の結果は惨たるものであったが、何とか院生となれたのは1961年の春であった。

修士課程では三輪先生のご指導のもとで、クダモ目(管状緑藻 Siphonales)の細胞壁マイクロフィブリルを構成する多糖の化学的な性質から、分類的な考察を課題とした仕事に取り組んだ。「クダモ目は、細胞間の隔壁が存在しないため管状多核とする形態の特徴によってまとめられた一群の藻類なのですよ」と三輪先生が自ら実験台の隅の古い顕微鏡を取り出されて、針でほぐした藻体を覗きながら示して下さった時の鮮やかな緑色を帯びた管状の藻体の美しさは、今でも瞼の裏に焼き付けられている。この藻類の細胞壁にはセルロースの存在が認められないことから非セルロース性植物と呼ばれることもあるが、その壁の主要構成多糖は *Caulerpa* (イワズタ属), *Udotea* (マユハキモ属), *Bryopsis* (ハネモ属) などでは、いずれも β -1,3-キシランであり、同じ目でも *Codium* (ミル属) の場合は β -1,4-マンナンとしていた。このように壁多糖が明らかに性質の異なる二群の多糖から形成されていることは、この目を化学分類的にキシラン群とマンナン群に区別しうることを示唆していた。事実、Feldmannによって明らかにされたこれらの藻類での色素体の存在様式の相異、すなわち、siphonaein とか、siphonaxanthin などのように、homoplasty と称するクロロプラストのみの色素体の状態として存在する場合と、これに多糖起源の白色体 (amyloplast, leucoplast, plast amylogen などと言われる) が共存して heteroplasty と呼ばれて存在する場合とをそれぞれ基準形質として2群に分類して



図1 三輪知雄先生 (1976年)

みると、前者では *Codium*, *Derbesia*, *Bryopsis* などが、後者には *Caulerpa*, *Udotea* などが属し *Bryopsis* を唯一の例外として壁多糖による分類の結果と一致している。このような背景のもとに、まだ調べられていなかった *Avrainvillea* (ハウチワ属), *Vaucheria* (フシナシミドロ属) の2種、および *Dichotomosiphon tuberosa* (チョウチンミドロ) からそれぞれ細胞壁の骨格と見なされるマイクロフィブリルを得て、それらの構成多糖の化学分析を行った。この結果は⁽²⁾、フシナシミドロ属ではマイクロフィブリルの構成はセルロースであることが明らかとなったのに対して、チョウチンミドロモではキシランであり、しかも陸上植物に見られる場合のような β -1,4-結合のキシランではなく、イワズタ属、ハネモ属などのマイクロフィブリルを構成するのと同様な β -1,3-キシランであった。これらの結果は、これまでフシナシミドロ科に所属するとされていたチョウチンミドロを、この科から外すべきとの見解を支持するものであった。また、フシナシミドロの壁多糖はセルロースであったことは、非セルロース性植物であるクダモ目からこれを外す考え方をさらに追加することになった。

三輪先生が退官され学長になられた後の大学院後期(博士課程)では、西沢先生を指導教官として海藻多糖の微細化学構造が、物性などの多糖固有の性質にどのように関連するかとの課題に新たに取り組んだ。主としてコンブ目(Laminariales)を中心にした褐藻類の貯蔵多糖は、ラミナランと呼ばれる β -グルカンであるが、これには熱水に対してはいずれも可溶でありながら、冷水に対する溶解性の相異によって不溶性と可溶性ラミナランとの区別がなされた。不溶性ラミナランは、*Laminaria hyperborea* の藻体を 0.09N 程度の希塩酸



図2 西沢一俊先生(左)と Dr. I. A. Abbott (1971年札幌での国際海藻会議において)

中に浸漬して室温で3日間ほど静置するとき、白色沈殿となって生成する多糖であって、この沈殿を遠心分離後に熱水に溶解してからろ液を冷却することによって分離された。これに対して可溶性ラミナランは、*L. digitata*などの藻体を希酸抽出を行なうときには抽出液中には可溶であり、これに80%以上の濃度までにアルコールを加えたときに始めて沈殿として得られた。糖鎖の主要結合は、メチル化物や部分加水分解物などの同定から、 β -1,3-グルカンであることは以前から知られていたが、微細構造は還元末端にマンニトールが結合することとか、糖鎖内に β -1,6-結合をするグルコース残基が存在することなどの報告もなされていた。

このような知見を背景にしながら、アラメ (*Eisenia bicyclis*) や、イシゲ (*Ishige okamurae*) から精製したラミナランは、いずれも冷水に易溶であり、還元末端にマンニトールを含むものではなかったが、1,6-結合のグルコース残基量は前者では直鎖構造のブロック (inter residue linkage) であり⁽³⁾、後者では分枝構造を形成する分枝点 (inter chain linkage) であった⁽⁴⁾。ラミナランが、仮に β -1,3-結合のみのような同一種の結合だけで形成される直鎖の糖鎖構造であるならば、これはちょうどセルロースのマイクロフィブリルの場合のように、隣りあった直鎖の糖鎖間で多数の分子間水素結合が容易に形成され、超分子構造を構成する状態となりより難溶性な性質となる。しかし、糖鎖の中に β -1,6-結合のような異種の結合をする糖鎖が存在するとき、ちょうど脂質二分子膜において飽和脂肪酸が並んでいる中に *cis*-配置の不飽和脂肪酸が入り込んでねじれ (kink) 構造になったような状態となって、糖鎖間の相互接近が制限され分子間水素結合の形成が阻止されると同時に、ここで新たに形成された三次元的な空間がより開放的に外界との相互作用を可能とし、水和が起りやすくなって溶解性が増す原因となると考えられた。このような化学構造の差異が溶解性などの物性の相違の原因となるとの考え方は、現在の超分子化学の分野では普遍的な考えとなっているが、当時はここまで踏み込むことには勇気を要した。またこの考えは、後に β -1,3-キシランの硫酸化を行なう際に大いに有益であった。

糖鎖の結合位置を決定するこのような研究は、今でこそ箱守法による完全メチル化から Lindberg 法によって部分メチル化アルジトールアセテート誘導体を得て、ガスクロマトグラフィー (GC)、およびガスクロマトグラフィー・電子衝撃質量スペクトル (GC-EIMS) によるフラグメント解析の結果を求めることで、

卒業研究でのルーチンな課題にさえもされている。しかし箱守法が発表されたのは1964年であり、当時はメチル化糖の同定でもペーパーや薄層クロマトグラフィーの手段しかなく、完全メチル化に到るまでも Haworth 法で二年間も反応を続ける苦難の道のりであった。後年にある学会で荒木長次先生 (京都工織大名誉教授) に、この苦勞を愚痴っぽくこぼした時、「私なんか五年間も続けましたよ」と、先生はことなげに言葉を返されたが、その中に秘められた先人の偉業には改めて畏怖の念を覚えた。

新設の埼玉大学理工学部生化学教室へ

大学院を修了した時 (1966年) に、ちょうど埼玉大学に新設された生化学教室の生体物質研究室の助手として採用された。埼玉大学は1949年に旧制の浦和高等学校と埼玉師範学校などが合体して文理学部と教育学部の2学部から成る小規模な新制大学として発足したが、1963年から始まった浦和市郊外への統合移転の時期に工学部が新設され、さらに折からからのベビーブームを契機に拡充が続けられるなどして、現在のような首都圏の総合大学としての姿に大きく変貌していった。当初の拡充は、文理学部の改組から行われた。ここで文理学部の理学科は工学部と統合し理工学部となり、この中で、理学科生物学専攻の教官がそれぞれ形態形成学、生体物質学、生理学、代謝学の四講座に分属し、ここに新規採用の教官が加わり生化学教室が新設された。

赴任後の数年間は、ちょうど時期的に重なった移転地に新築された建物への引っ越しとその後の実験室の立ちあげに忙殺された。同時が、ちょうどこの時に講座の村上進教授が定年退官され、1968年の4月から後任に東大理学部生物化学教室の江上不二夫教授を併任として迎えることになり、ここから始まった新しい研究にかかわる時間が多くなっていった。

当時の江上先生の関心は「化学に強い生化学を目指しましょう」との考えのもとに、コンドロイチン類、ケラト硫酸などのムコ多糖硫酸の構造と活性相関について向けられていて、自然界からのこの種の新規な硫酸化多糖の検索やその構造解析などが課題となっていた。その関係で、実験材料をこれまでのように植物起源に求める場合には、海藻の細胞壁を構成する硫酸化多糖などを選ぶなどは好都合であった。また同時に、動物関係の多糖を扱う機会などがあったことから、新しい興味と共に違った技法などを学ぶ機会を待つことができた。



図3 江上不二夫先生(1968年)

江上先生については江上語録と称されるいくつかの言葉があるが、これらが先生の口から直接に何うときに不思議な説得力があるようだった。その中で「仕事(研究)は面白くやろう」と強調される言葉があった。これは決して「面白くない研究はしなくてもよい」との意味ではなく、今の世の中で重要で面白そうに見える研究は、誰かがその重要性を発見し、人々にアピールを続け、興味を魅きつけたのであって、そのような側面だけに幻惑されてはいけない、とする考えであった。そして今、研究が面白く思えないことは、その研究が決して重要ではないのではなく、自分が面白く発展させる方法とか考え方が不足していることを反省すべきである、との自己責任を強調する内容でもあった。併任であられたため、埼玉大学に来られるのは週一回にすぎなかったが、学生達の些細な発見でも興味深くディスカッションを重ね、次の実験に対してエンカレッジされたり、あるいはスランプに陥っている学生には発想転換の途を一緒に求められたりする時にこのような言葉が聞かされたのだが、そんな時には若い人々に研究の魅力を発見させてゆく教育者の姿を垣間見る思いがあった。研究室の運営についても、大方針は定められた後では、研究は科学者が自主的にかつ自由に行うことが基本である、とのお考えから日常の運営の全てをまかせておられたが、「自分が発見した事

象や物質を大切に育て、重要なテーマにしてゆくこと」を基本とするスジはしっかりと貫かれていた。

新しい教室がそれなりに形が整えられてきたものの、生化学科の創生期にかかわった教官達には、私にとって反面教師とする人々が多かった。例えば、「オレが君を(助手として)採用してやったのだから」と言ったり、「講義とは常に最先端の知見を紹介することにある」とする人では、届いたばかりの雑誌の紹介だけに終わる講義の内容であったりした。バックグラウンドを持たない学部学生達には、当然ながら理解には程遠い内容となり、学期末試験の結果はクラスの三分の二以上が不合格となった。そしてその後の追試験たるや、まさに拷問に等しい苛酷なものであった。また別な教官は、気に入らない学生に対して自分の恣意によって一方的にその非を責めるばかりか、激昂した末に土下座させて謝罪を強いる、などの日常もあった。このような教官達の影響は、結果として学生達に直接ふりかかる被害となり、学内で保健センターでのカウンセリングに訪れる学生の内訳では、生化学科の学生が際だって多いとの事例も示された。教室の大多数の教官は、内心ではこれらの教官に反感があっても触らぬ神とばかりに無関心を装う人々であって、結果的に無力であるばかりか、やがてはこれらを黙認、追従してゆく雰囲気となっていった。その中で自分ひとりが「おかしい、おかしい」と言い続けたことから、人のやり方にいらぬ抗弁をする異端者として扱われ、やがて少数派の立場に転じ、それ以降は乾燥状態が永らく続くことになった。

埼玉大学に限らず、当時のこのレベルの地方の国立大学の研究環境は決して良好なものではなかった。乏しい研究費を巡る日常的な争いなどはともかくとして、最も痛切な悩みは良き研究協力者が得られないことであった。学部の学生達は4年生になると卒業研究を通じて各教官の研究室に所属したが、まだ大学院の設置がなかった当時では、卒業後さらに研究を志向する学生は他大学の大学院に進む道しかなかった。したがって一年間の卒業研究の実態は、ほとんど初歩的な実験に終り、1978年4月に修士課程が設置されるまでは、研究よりもむしろ教育を主体とする内容が毎年繰り返されて、苦勞の割りには成果の積み重ねが乏しく、日々が虚しく思える時代が続いた。江上先生の併任も、1971年3月の東大の定年退官と同時にご自身が創設に関与された三菱生命科学研究所に移られることによって終わり、またこの頃、私自身の身分が変わったこともあって、自分一人で新しい世界を求め道を切

り拓いてゆく立場となった。

激動の'70年代

1960年の後半から'70年の前半にかけて大学紛争が全国を席卷した。埼玉大学でも、浦和市郊外への統合移転による学生の生活の不便度が多くなったことなどから、学寮を中心として紛争の火の手が上がり、全共闘系によって北浦和校舎がロックアウトされた。この時の学生達からは、「学問とは何か」、「大学とは何か」、「何のための研究か」として既存の価値感の問い直しをラジカルに迫る場面があった。このような問いかけは、突き詰めてゆくと「人間とは何か」とする根源的な疑問におつからざるを得ないので、時には答えに詰まってしまうような場面もありながら、その中でこれ迄の自分に培ってきた人生観とか価値感に大きな変化が起こってゆくのを感じた。そして今、もしあの時代の経験がなければ、きっと自分はごく普通の教師の一生を過ごしたのではないかと思ってしまう。

紛争の最中における実験の進展たるやは誠に微々たりもので、取り立てて成果もないに等しかったが、糖質の赤外線吸収スペクトルの解析法についてこれ迄の知見を総説にまとめることができた⁽⁵⁾のがせめてもの救いであった。しかし、このような困難な状況の中でも、藻類については郷愁のような捨てがたい思い入れがあって、その魅力が絶えず自分の周辺につきまとっていたことは嬉しかった。そして、あたかもその魅力に引きずられる形で、春には新入りの学生達を連れて伊豆とか、千葉の海に採集に出かけるのが研究室の恒例であった。この頃の関心には、クダモ目についての化学分類的な考察をさらに確立してみたいとの考えに取り憑かれていた。それに際しては、Feldmannによる色素体の観点からと、細胞壁マイクロフィブリルの構成多糖が一致を見なかったハネモ属について、今までに取り上げられることのなかった新しい形質について比較検討を行い、その去就について明らかにすることをまず考えた。ちょうどこの頃、培養植物細胞においてヒドロキシプロリンを含む細胞壁タンパク質の存在が認められたことから、藻類においてもこの種の壁タンパク質を精製し、そのアミノ酸組成を比較の対象とすべき形質に選び、検討する試みを始めた。

これまで、細胞壁多糖としては、藻体を希酸および希アルカリでの熱処理を行った後の残渣とも言えるマイクロフィブリルを対象としてきたが、細胞壁タンパク質の場合には、このようなドラステックな処理によっては得られず、ホモジェネートした藻体を、タンパク

質の変性が起こらない条件のもとで、極性を変えた種々の溶媒や界面活性剤による徹底的な洗浄と高速遠心分離を、キエルダール法による窒素量が一定になる迄繰り返し返さなければならなかった。イオン交換樹脂のクロマトグラフィーによるヒドロキシプロリンの分解能を高めたアミノ酸分析の条件検討なども、苦勞は多かったが、結果は興味深かった。すなわち、細胞壁多糖がキシランである *Caulerpa*, *Halimeda* からの壁タンパク質には、プロリンを含むが、ヒドロキシプロリンは含まれなかった。これに対して、マンナンである *Codium* では、ヒドロキシプロリンを含むが、プロリンは含まれていなかった。このような結果に対して、*Bryopsis* からの壁タンパク質には、この両方のアミノ酸が含まれていて、あたかもプロリンが水酸化されてヒドロキシプロリンの生成に至る中間の過程にあるような存在であった。ハネモ属がこのような二つのグループの中間的な位置に見られる他の場合は、成熟した藻体から生殖時に配偶子嚢の形成する場合がある。*Caulerpa* のグループでは、藻体全体がそのまま配偶子嚢となる全実性 (holocarp) のケースであり、*Codium* では藻体の一部が配偶子嚢になる分実性 (eucarp) の場合である。これらに対して *Bryopsis* では、ちょうど藻体のハネの部分に配偶子嚢の形成が起こり、茎の部分はそのまま残る形態となるが、これは両者の中間的な場合に相当すると見られている。壁タンパク質のアミノ酸組成の比較においても、*Bryopsis* の位置付けがこの場合と良く一致した結果となった。

この仕事は、黒木宗尚先生 (北大名誉教授) や千原光雄先生 (筑波大名誉教授) らのお勧めをいただいて、1971年に札幌で開かれた第7回国際海藻会議の後の日米セミナーにおいて発表させていただいた⁽⁶⁾。このセミナーでは、館脇昭和先生 (北大名誉教授) によるライフサイクルから見た *Monostroma* (ヒトエグサ属) の分類についての発表もあった。その後先生から何種類かの藻体を分けていただき、各画分の糖組成を比較してみると、水溶性の多糖においてはお互いに際立った変化があることが明らかになった。この体験は、その後クダモ目の比較生化学的な理解をさらに深めるにあたって、取り上げられたある評価形質が、他の藻類に対してはどこまで適用されてゆくものかを考える際に参考になると共に、その後の硫酸化多糖についての検索や研究の端緒ともなった。

札幌での国際海藻会議は、藻類の関係では初めて日本で開催された国際会議であって、それ迄に文献でしか知る機会のなかった多くの人々との面識を得ること

ができたことは、当時の駆け出しの若造にとっては大きな刺激であった。なかでも Dr. W. Yaphe (MacGill Univ.) の agar に関する講演は、荒木長次先生らの寒天はアガロースとアガロペクチンを主体とする多糖であるとの化学的な解明を中心とした見解に対して、クロマトグラフィーを中心に丁寧な分別を繰り返した結果、寒天はアガロース、硫酸化ガラクトタンなど各種の多糖の複雑な集合体として構成される、とする内容であった。この思考、および解明の方法は、それ迄に、生体内での多糖類の存在様式は個々の多糖にあってはそれ程複雑ではないとしても、それらが集合して多様な構造体を形成することからその複雑性が示されることになるのではないかと、漠然としていた考えが明確に証明する内容に思え、その後の自分の仕事を進めるにあたっての大きな拠りどころとなった。Dr. Yaphe とは、それから別刷の交換などを通じての付き合いが続き、その後の彼の研究の関心は、私とほとんど機を同じにして NMR スペクトル解析に移った。化学シフトを比較することによって寒天を中心とする紅藻由来の硫酸化多糖の構造研究の方向に進んだのだが、このような関心のあり方は、同じように海藻多糖についてクロマトグラフィー、スペクトル解析とする関心を持ちながら進んだ自分の姿とまるで重なり合うような不思議な感がしている。

またこの頃、東大を定年になられて東邦大理学部に移られた高宮篤先生が、海洋に囲まれた千葉県での研究を志向された。その結果、先生を代表者として「Bryopsis (ハネモ属) の生物学—総合的研究」と題

する研究班を 1974 年に組織され、ここに「壁構成物質についての比較生化学」とされた課題を担当するようにお誘いをいただいたことから、ハネモを中心としたこれらの藻類における壁を構成する多糖の微細化学構造についての解明を行なう研究を始めた。前述のようにハネモなどの藻類の壁多糖は、 β -1,3-キシランを主要構成としたが、これに常に挙動を共にする約 10% 量のグルコースが、グルカンとしてキシランとは別個の多糖として存在するものか、あるいはグルコキシランのような複合多糖であるのか、について検証を行ったがこの仕事が完了したのはしばらく後になった。

このようにして数々の課題が推移してゆく中で、自分の周辺の流れが自然に海藻多糖の構造研究に向かって作られてゆくような感じさえもあった。その流れにただ身を任せ、心地よさに浸ることは楽しかったが、当時の世相は決してこのような呑気な流れのままにあってはなかった。それまで、昭和元禄と浮かれていた太平の世は「石油ショック」からのパニックによって破綻し、その後の狂乱物価と呼ばれた諸物価の高騰は、大学に大きな影響を及ぼした。中でも大学紛争の時からずっと手つかずにあった学寮経費が、大学財政を逼迫する大きな要因となった。当時の寮生は、毎日の入浴などによって光熱費、水道料などを使い放題でありながら、僅かに月額 300 円しか支払わず、その不足分は全て大学の負担となり、ある部局の経費よりも多くなってしまった。この事態を正常化するための窓口になる学寮主事には、誰もなりてが居ない中で



図 4 日米科学セミナー (1971 年 8 月) の参加者 (第 2 列 右から 4 人目が筆者)

そのお鉢が回ってきてしまった。「学寮予算の不足は文部行政の責任である」とする、ある革新政の主張を教条的に繰り返すだけの学寮委員会や寮生と対して、時には彼らの座り込みによって何度か会議室に軟禁されることも含め、孤軍奮闘のかたちで連日の話し合いを一年以上に亘って続けた。その末に、ついにこれを論破し改訂（値上げ）に到った時には、心身共にもう疲労困憊に至り、充電のためにしばし日本を離れようよとの気持ちになった。

ミシガン州立大学へ

学寮主事となった禍は、皮肉にも実験の時間がなくなり研究費に少し余力が生じるとの福となり、それでも爪に火を点すような形で年賦払いにしてもらった末にGCを購入することができた。定量性、迅速性に優れたこの分析機器の導入によって、どんなに研究効率が向上したことか、遅蒔きながらこの頃をもって我がラボもモダンクロマトグラフィーの時代になったと言える。当然ながら、GCのピークの同定にはGC-MSの手段が必須であり、この方面の研修を志して1976年にミシガン州立大学生化学教室のDr. Sweeleyの研究室にお世話になった。Dr. Charles C. Sweeley（ファーストネームで呼び合う親しい仲でChuckと言った）は、トリメチルシリル化試薬（TMS試薬）によって糖質のGC分析を始めて可能にしたクロマトグラフィーの権威であり、その後は関連する各種の機器分析を駆使して最先端の業績を挙げている人であって、文通を続けていた関係があった。しかし、そのころは主たる関心は既に高速液体クロマトグラフィー（HPLC）にあったため、私の担当した分野も主に蛍光試薬を利用する糖の微量検出法を完成させることであった。この内容およびDr. Sweeleyの人柄についての詳しい紹介などは別に譲るが⁽⁷⁾、ともかく、クロマトグラフィーへの関心は並大抵ではなく、雑談の合間でも「オリゴ糖類の分離には、ペーパークロマトグラフィーのような分配系を利用するのが最も効果的であるから、セルロースパウダーをスラリーにしてガラス管に充填したカラムを造って、高速液体クロマトグラフィーをやってみる」などの思いがけないアイデアが気軽に飛び出してきた。この方法は、液もれのないしっかりしたカラム管があれば確かに効果的な方法であって、帰国後、ある程度のお金の余裕ができたときに大いに活用したことがあった。

GCの問題については、その頃GC-MSの分析において日常的に起こるトラブルの解決が任された。当時は

まだ、キセピラリーカラムの種類やテクニックに乏しく、またデータのコンピューター処理技術の進展がほとんどなかったため、充填カラムを直接ジェット型セパレーターに連結し、そこでキャリアーガスのみを排気して試料ガスをMSのイオン源に導入する方法が一般的であった。しかしこの際、充填剤にコーティングされている液相の一部がカラムから溶出し、この成分の値がバックグラウンドとして、時には試料のピーク強度に匹敵する程にも高く現れるためにMSの誤読の原因になることが多かった。これを解消するために新しいカラム系の試作が求められたが、この内容は通常、5%位の液相量を0.5%以下と少なくすることと、カラムの長さを可能な限り短くして液相の溶出量を最小限にしながらも、かつ理論段数によって示される分解能をできるだけ高く求めるとする、極めて矛盾に充ちた条件をクリアすることが要求された。試行錯誤の結果、クロモゾーブのような多孔質のものではなく、コーニング社から発売されていた粒子の細かいガラスビーズを担体とし、この表層にOV-17系の液相を0.3%量迄コーティングした30cm（one foot）カラムを作り、これによって1,000段以上の理論段数を出す条件を可能としたことで問題は解決された。それからは、キャピラリーカラムの全盛に至までのしばらくの間、このカラムがMSグループによって使われるようになった。

このように異国にあっても、雑事を離れてひたすら研究に没頭できた環境はまさに天国であり、ここで日本で中断していた仕事のいくつかを完成させることもできた。それ以上に勉強になったことは、世界の先端をゆく一流の研究室（ラボ）の日常がいかなるものかをつぶさに観察できたことであった。ラボは研究者の修練の場でもあるから、それなりの厳しさと秩序が要



図 5 Dr. Sweeley と令嬢 Susan (1977年)

求されるのは当然であったが、このラボのポリシーはボスの人柄を反映してか、(まだ慣れない頃に、昨日までハナを垂らしていたような新入りの学生たちが、このボスに対して「Hi, チャック!」と呼びかけるのを聞いて腰を抜かした)、類型的な思考を生産するしかない管理の体制は極力排して、自由な雰囲気と発想を最大限に確保することに努めていた。そしてラボの日常は、「研究は厳しいもの」を信条にしながらも、研究が好きとか、楽しいとか、嬉しいといった主観を大切に、研究に積極的に参加する要素を備えたシステムの中に、夢とロマンを求めて賑やかに毎日が過ぎてゆくとしたものであった。

また、ここでの夏休みには、サンタババーバラ(カリフォルニア)で開かれた第9回国際海藻シンポジウムにも出席して、札幌で知り合った大勢の人々との再会を喜びあったりもした。

新しいラボ体制を目指して

帰国後の1978年に、大学院博士前期(修士)課程が設立され、それ以降の学生との付き合いも卒業研究の1年間だけではなく、3年間を腰を据えてテーマを追求できるようになったのは嬉しかった。しかしここで研究費が飛躍的に増加するような訳でもなく、相変わらず約70万円位の予算で年間を過ごさねばならない悲哀は続いた。70年代はペリキュラー型の耐圧充填剤の開発などによって、HPLCの時代となっていてSweeleyのラボにおいてもこれが重要な課題の一つとされていた。しかし帰国後に、乏しい予算の中から部品を集めて装置を組み立てることに限界もあり、またこのランニングコストの点からもLCを中心にするラボ運営には余り熱が入らなかった。生体試料に関してのGCでは不完全な誘導化を心配する向きもあるが、これは反応に際してのキネティクスを忠実にフォローさえしているならば無用な心配である。それ以上にGCの高い分解能、迅速で再現性に優れた手段は、大きな魅力であった。そして、まだLC-MSなど望むべくもなかった頃であったため、単にピークの溶出位置(あるいは時間)だけを既知試料、あるいは文献値と比較するだけで試料の同定を行う頼りなさ、とか不確定さよりも、MSで認められるような物理定数によっての物質の同定こそが化学の王道であるとの考えが頭を離れず、分取の場合以外はLCよりもGCを繁用する傾向が強かった。

分取クロマトの実際は、適当な長さに切ったガラス管の上下に対して注射針を差し込んだゴム栓を用意

し、この栓の内側にメッシュの細かい布を敷き、管に固定してから管内にゲルを充填するとして手造りのカラムによって溶出を繰り返すものであった。ハネモ属のオオハネモ(*Bryopsis maxima*)からのマイクロフィブリル構成多糖が、キシラン、グルカンの混成であるか、またはグルコキシランであるかについては、この多糖の唯一の溶媒である希アルカリによるゲルろ過クロマトグラフィーで分取を行なうこと以外に方法がなかった。しかしこの手製のカラムでの操作の過程では、どこかで必ず液モレが生じ、この補修のためアルカリにまみれながらの悪戦苦闘をしなければならなかった。この研究課題を担当した院生(福土由紀子さん、現国立ガンセンター研究所)から、「わたし指紋がなくなってしまいました」と掌を見せられたこともあった。オオハネモの壁構成多糖はキシランとグルカンの混在したものであって、キシランは直鎖の β -1,3-結合であり、またグルカンはセルロースであったこと、したがって、これらの藻類をして「非セルロース性植物」と呼ぶのは適当ではないこと、などの一連の論文⁽⁸⁻¹⁰⁾は、見返すたびにこの女子学生一人のみならず、全ての学生達にも通じることだがーの青春の汗と涙が溢ればかりにこもった苦勞の結晶との思いを強くする。

他方、ミル属の壁多糖であるマンナンの微細化学構造は、この多糖があらゆる溶媒に対する難溶性を示すことによって進展が得られなかった。海藻多糖に限らず、一般に多糖は精製が進むほど溶解性が低くなる傾向が多いが、ミル属のマンナンの場合も例外ではなく、これ逆に多糖に試みられたあらゆる溶剤について可溶化の効果はなかった。例えば三輪先生の時代に用いられた飽和塩化亜鉛水溶液でも、マイクロフィブリルの約30%量を溶解しているにすぎないことが追試によって明らかとなった。したがってこれまでの構造に関する限られた報告でも、一部の可溶性多糖や、あるいは部分加水分解物の同定などのように、マイクロフィブリルの糖鎖構造を部分的に類推したに過ぎなかったとも言える。

そんな折に一連のセルロース工業において、ある段階での誘導体を得るにあたって、パラフォルムアルデヒド(PF)とジメチルスルフォキシド(DMSO)の混液中でセルロースを加熱して、ヒドロキシセルロースとして可溶化する過程があることを知り、この方法をミルの壁多糖の溶解に際して応用してみた。反応条件を定めるにあたって、加える試薬の量的な関係と温度および反応時間などの検討を行い、マイクロフィブリルの98%以上を可溶化することができた。得られたヒド

ロキシマンナンは、ヒドロキシセルロースの場合と同様に、水、またはメタノールを加えると、ヒドロキシル基は容易に脱離してマンナンが不溶物として析出したことは、セルロースの場合と同様に、糖鎖間に多くの水素結合の形成を可能にしている多糖であろうと推測された。この推測は、完全メチル化、過ヨウ素酸酸化などでの結合位置の決定を行った結果は、糖鎖は β -1,4-結合のみの直鎖多糖であったこと、またDMSOを移動相としたゲル浸透クロマトグラフィーを行なったとき、非共有結合の状態になった分子種の集合体として高分子量のピークの生成が認められた、などの結果から証明をした。この論文⁽¹¹⁾は、別刷の請求数の多さから反響の大きなものだったとの手応えを感じた。

このようにしてクダモ目のマイクロフィブリルは、ハネモ属や後に触れるイワズタ属の場合のように、直鎖の β -1,3-キシランが β -1,4-グルカン（セルロース）との混在であったこと、また、ミル属のマンナンの事例も含めて、これまで明らかにされている全てのマイクロフィブリル多糖は、陸上植物でのセルロースとか、昆虫、菌糸のキチンの場合と同様に、 β -結合をする直鎖のホモ多糖であることを特徴とすることを認めるものであった。この結果、細胞壁のような生体の基本構造を構成する物質は、当初より複合多糖のような複雑な系によって構成されるものではなく、よりシンプルな化学構造を糖鎖の基本構造としていて、このような類似の糖鎖が多く共存しあうことによってより複雑な糖鎖構造が超分子的に構成されてゆく、とする考えに取り憑かれるようになってしまった。事実、例えばラムナン硫酸とか、ガラクトサン硫酸などの細胞壁由来の水溶性の硫酸化多糖は、一見して複雑な構成をなす複合多糖の一群のようであっても、多くの場合に分取クロマトグラフィーの繰り返しによって夾雑的な構成と見られた単糖量の減少が加水分解物中に認められた。この考えについては、その後の学生達にひたすら証明を求め続けたため、彼等からは随分、恨まれることとなった。いくつかの多糖の精製を目的としたときでも、それはまずホモ多糖として存在するのであろうと考え、これ以外に認められる単糖は精製が不十分なために夾雑する成分であるとしたため、これらを再クロマトグラフィーによってさらなる除去を要求するようになった。このような時、例えばDEAE-セルロースによるイオン交換クロマトグラフィーによって、イオン強度を変化させるなどの条件で溶出を繰り返した場合、夾雑と考えられる単糖の存在量は加水分解中に回を追うごとに減少するのに対して、硫酸化多糖の存在量は際

だって増加してゆく傾向が認められた。このような事実は、シンプルな系の集合によって複雑な系が構成されるとの考えを、自分の中でいよいよ強くする結果となっていった。

究極のスペクトロスコピー—NMR スペクトル

生物物質の研究は、決して珍奇な物質のみを対象とし、そのコレクターとなることではなく、多糖について言えばこの種の生体高分子の高次構造や超分子構造の解析を通じて、やがては生体内での機能相関の解明が目的になる筈である。近年、「構造生物学」とする分野の進展がこのような目的に沿った潮流であろうが、この研究手法の中で最も重要とされるのはNMR スペクトルの解析であり、海藻多糖の高次構造もこの方法を通じて決定を目指すことが時代の趨勢であることを感じていた。同時にまた、コンピューター技術でアシストされた近年のスペクトロスコピーの著しい発展は、糖鎖の構造決定などにおいても、この方法がやがては試験管やピーカーなどで象徴される化学の方法と替わるアプローチとなるのではないかとする予見もあった。これまで言わば行きがかり的に学んできたIRとか、MS スペクトルの解析法をふりかえると、化合物の同定、構造解析から水素結合や回転異性体の研究など多岐な応用にも及んではいたが、コンフォメーション解析をも含めた分子の立体的な全体像を把握するには限界があった。そして現在のところ、原子のレベルで分子の形を知る方法は、NMR スペクトルとX線結晶解析以外にはなく、これらの方法は新しい時代の生化学や分子生物学の分野で必須の方法であるとの確信を待つに到った。NMR スペクトルは、個々の原子核に対する共鳴を分光してスペクトルを得る方法であるから、個々の原子をあたかも一つづつ手に取って見るように明確に区別することができる。また仮に同じ水素原子であっても、それを取りまく化学的環境が少しでも異なれば、エタノール分子のメチル、メチレン、ヒドロキシル基とするように、それぞれ異なる基を形成する水素原子として識別される。さらにまた、これらの異なる原子を結ぶ化学結合に関する情報もスペクトルに敏感に反映されるなど、総体的な利用によって多元的に情報が得られる方法でもある。

このような思いを背景として研究対象を求めていたとき、イワズタ属のキシランについて明らかにしなければならぬ問題が残されていた。これ逆に検討をしたハネモ属や、ミル属のマイクロフィブリル多糖は、いずれもホモ多糖が直鎖で結合をする、 β -グリカンであ

ることを認め、前述のようにセルロースやキチンの場合と同様に、この特徴がマイクロフィブリル構造の基本であろうとの考察を行った。しかし、ここで唯一の例外として、イワズタ属のある種からのキシラシでは、メチル化分析の結果からモノ-メチル-キシロースが得られたことを根拠に分枝構造であるとの報告に接していたので、この藻類の壁多糖についての再検討をNMRスペクトル解析を主体として試みた。

鎌倉の海岸で採集した、フサイワズタの壁多糖のキシランは、ハネモ属の場合と同様に熱水処理によって純キシランとして得られた。この重水酸化ナトリウム重水溶液について、 ^1H 、および ^{13}C の核種のそれぞれ一次元(1D)のスペクトルは、明確に化学シフトの異なるシグナルが6本、および5本が認められた事は、この純化されたキシランが、同種の糖残基が同種の結合のみで重合する直鎖の多糖であって、分枝構造の痕跡すらも認められないとすることの証明であった。また、ここで最も低磁場領域に出現するシグナルの化学シフト値から、このそれぞれは β -結合をするアノメック-プロトン、および-炭素として認められた。近年の技術革新によるNMR測定法の進展のひとつに、超伝導磁石の導入によって得られる高分解能スペクトルに対して、パルスフーリエ変換(FT)とその拡張技術である二次元NMRの測定が可能となったことがある。ここで ^1H と ^{13}C についての二次元(2D)スペクトル(C-H COSY; correlated spectroscopy)を求めると、二個のプロトンが結合する C_3 の同定と、 H_5 の2個のプロトンの各コンフォーメーションを決定することができた。引き続き、DQF(double quantum filter) COSYの測定によって、全プロトンおよび炭素のシグナルの全ての帰属を行なうことができた。NMRの特徴には、NOE(nuclear Overhauser effect, 核オーバーハウザー効果)として分子内での原子間の距離情報を明らかにする方法がある。これは一組のプロトンが双極子相互作用で結ばれているとき、相互作用の大きさは原子半径($1/r^6$)に比例するため、空間的に近接したプロトン間ではその一方をラジオ波で照射すると他方のプロトンのシグナルの強度が変化する効果が観測される。この原理を応用したNOESY(nuclear Overhauser enhancement and exchange spectroscopy)測定法を試みることによって糖鎖の結合位置の決定ができた。すなわち、 β -1,3-結合をするキシランのアノメリックプロトン(axial)に対してその周波数のラジオ波を照射するとき、同じ糖残基内でこれと最も近接する位置にある $\text{H}_3(\text{ax})$ と $\text{H}_5(\text{ax})$ のプロトン、および、結合する糖残基における $\text{H}_3(\text{ax})$

との間にNOEが認められたことによって、 β -1,3-結合であることが明かになった。この結果は、化学構造の確立による確認、および部分加水分解物の飛行時間型質量分析(TOF-MS; matrix assisted laser desorption/time of flight/mass spectrometry)において25糖残基まで規則的に開裂をする一連のオリゴ糖類のピークを同定したことによって、ホモキシランの β -1,3-結合以外の結合は有り得ないとする構造決定を行った。またこれらの結果をもとにして、糖残基に硫酸基をエステルとしての導入を試みた際に、硫酸化が行われ易い水酸基と、行われにくい基についての区別を立体化学的に認めることが可能となった。これらの成果の発表に際しては、上記のように、直鎖で同一の結合をするホモ多糖での糖鎖構造の決定をNMRスペクトル解析のみによって可能としたこと、次いでこの解析の結果は、化学構造およびTOF-MSによって確認をしたこと、とする構成で投稿したところ、レフリーより「今の時代では、まだNMRのみで糖鎖構造の決定を行なったとすることは時期早尚である」との意見が付され、論文構成ではこの順を逆にするようにとのコメントがあり、止むなくこれに従った⁽¹²⁻¹⁴⁾。

この課題を担当した山垣亮君は、卒業研究から博士後期過程の修了までの7年間を通じてNMRの専門家として育ち、この間に約30編以上の論文を発表したことによって、井上科学振興財団から優れた博士論文に贈られる井上研究奨励賞の受賞者の一人になった。さらに、東京大学大学院理学研究科化学教室におけるの助手公募に応じたところ、全国よりの多くの応募者の中から採用していただくことができた。常々、埼玉大学のような地方大学は旧帝大と異なり多くの点でハンディがあることから、このような大学よりも数段立派な業績を挙げなくてはいけないと言いつけてきたこと、及び地方大学にあっても、優れた学生は正当に評価されるべきと信じてきたことが実現した喜びはひとしおであった。

緑藻の硫酸化多糖一構造と活性相関

生体内で中性多糖の水酸基がPAPS(3-phosphoadenosin 5-sulfanophosphate)がドナーとなって硫酸エステル結合が形成された硫酸化多糖については、動物起源の場合ではムコ多糖類などのグループにおいて臨床的にもいろいろな知見が蓄積されているが、植物起源の場合には系統的な知見の集積は今だに乏しい現状にある。植物界における硫酸化多糖の存在は、高塩濃度の水圏の環境に成育する植物の壁多糖においてのみに

限定されるので、海藻類においてこの存在様式が比較生化学の対象にならないか、とする問題がこれ迄も頭を離れなかった。例えば、さきに館脇先生によって示されたヒトエグサ属における多様性の比較を多糖の画分において行ったとき、水溶性の壁多糖の画分での構成単糖に著しい差異が見出されたことがあり。この実態は構造的に多様な硫酸化多糖が壁に存在することを示唆するものであった。臨床的な事例が示すように、硫酸化多糖には広範な活性発現が認められる中に顕著なヘパリノイド活性が存在することから、フィブリノーゲンとトロンビンが共存する系に、この多糖を加えたときの血液凝固阻止活性 (anti-thrombin activity; ATA) を指標とした比較を行ったところ、6 図に示すような変化に富んだ結果を得たこのことから⁽¹⁵⁾、この構造と活性相関について明らかにする研究計画が生まれた。

A) ラムナン硫酸の多様性

まず最初に調べたのは、横浜康継先生 (筑波大名誉教授) にご案内していただき伊豆半島の須崎の磯で採集したヒトエグサ (*Monostroma nitidum*) であって、この水溶性の粗多糖においては標準ヘパリンの約3倍との高いATAが認められた。この藻からの水溶性多糖については、当初はグルクロノキシロラムナン硫酸とするヘテロ多糖として存在するとの報告もあったが、我々が何回かのイオン交換セルロースによるクロマトグラフィーの繰り返した結果は、限りなくホモ多糖に近い状態でのラムナン硫酸が得られ、ATAも約6倍との高い値を示した。ここで約25%量に存在する硫酸基は、脱硫酸化によって定量的に減少されたが、これに伴って活性が減少したことから活性発現には硫酸基が必須であることが理解できた。ここで両者の定量的な相関を求めたとき、完全に活性が失われたときでも約8%量ほどの脱硫酸化されていない硫酸基が存在することは、活性に関与する硫酸基は糖残基の特定な位置にあること、および活性に関与しない基が糖残基の別な位置に存在することを意味し、さきの硫酸化のメカニズムでの考察のように、あたかも外部と接触しやすい多糖鎖の表面に硫酸基が存在する場合と、接触しにくい内部に存在している場合であると考えられた。ラムナン硫酸と脱硫酸化物について過ヨウ素酸化、完全メチル化などの結果を比較して糖鎖結合の位置と硫酸基のエステル結合の位置決定を行うことができた。この際、この課題を担当した原田直樹君 (中外製薬研究所) は、過ヨウ素酸化後のスミス分解物の同定に際して、温和な加水分解の条件を求めて2-

glyceraldehyde-L-rhamnoseのピークをGCによって検出し、GC-MSによって確認したことから、1,2-結合の存在を明らかにしその構造を決定した⁽¹⁶⁾。

他方、これと近縁で食用として栽培もされているヒロハノヒトエ (*Monostroma latissimum*) の場合も、ホモ多糖に近いラムナン硫酸であったが、硫酸基の存在量はヒトエグサの場合よりも少なく、またATAもヘパリンとほぼ同じであった。糖鎖結合は、1,2-と1,3-結合をするラムノース残基が約2:3に存在し、1,2-結合をしたラムノース残基の3,または4位に硫酸基がエステル結合をするものであった⁽¹⁷⁾。いずれの場合も、ヒトエグサ属のラムナン硫酸は、さきにアオサ目の緑藻より得られた *ulvan* と命名された、多量にウロン酸残基を含むものとは性質の異なる多糖種であることは明らかであった。

B) アラビナン硫酸の発見

水溶性の硫酸化多糖の多様性を、クダモ目の化学分類の形質としても比較してみたいと考え、このグループの一連の藻類について比較を行ったところ、ミルの水溶性多糖の単糖構成には、他の緑藻の場合とは大き

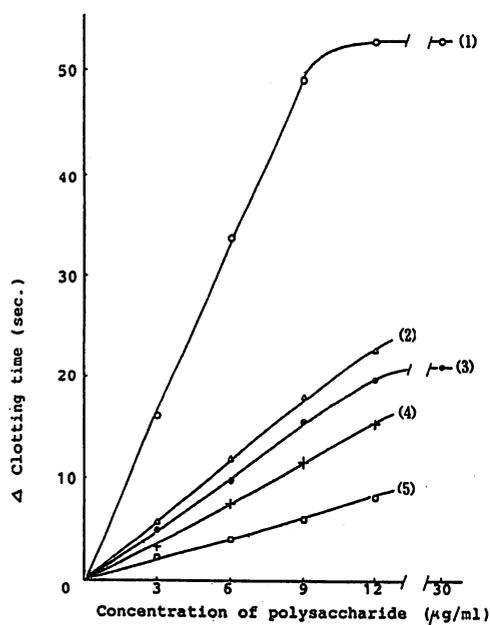


図 6 Anti-thrombin activity of various green algal polysaccharides and heparin. (1); *Monostroma nitidum*, (2); *Ulva pertusa*, (3); Heparin, (4); *Monostroma grevillei*, (5); *Enteromorpha prolifera*.
Anti-thrombin activity of various green algal polysaccharides and heparin. (1); *Monostroma nitidum*, (2); *Ulva pertusa*, (3); Heparin, (4); *Monostroma grevillei*, (5); *Enteromorpha prolifera*.

く異なり、主要構成単糖はアラビノースとガラクトースであった。陸上植物の細胞壁には、複雑な構造のアラビノガラクトタンが存在することから、この海藻の場合は硫酸基は多分ガラクトタン硫酸の形をとりながら、アラビノガラクタンの構造になるものと考えた。それ迄海藻中にこの種の多糖の存在さえも知られていなかったことから、新規多糖ではないかと考えその発見に意欲を燃やした。ところが、この課題を担当した竹下尚男君（花王研究所）は、私の考えよりもさらに別な内容を考えていたらしく、「カラゲenanのように塩化カリウムによって相互に分別ができないか」とする実験計画を持ってきた。確かにカラゲenanの水溶液に、0.3M濃度の塩化カリウムを添加すると、 κ -カラゲenanの沈殿が生じ、上清の λ -カラゲenanとの分別が行われることは良く知られている。しかし私は、カラゲenanの場合は、単糖構成が類似するなどして相互に性質の近接した分子種であることから生じる微細化学構造とか、質量数、荷電状態の違いなどが原因となって溶解性の差異が生じ、これによって分別の効果が認められる極めて珍しい多糖の事例であること、それ故、今回のように構成単糖の異なるような明らかに相互の性質が違う多糖種の間での分別が行われる根拠とはならないこと、また、これ迄にアラビナンが海藻に単独に存在したとの報告は全くないこと、など極めて常識的な考えを並べ立てて一笑に付してしまった。しかし彼はこの考えに固執し、私が帰宅後の深夜にこっそりとこの実験を試みたところ、溶液から沈殿の生成が認められ、遠心分離後の加水分解物には、沈殿ではアラビナン硫酸が、上清ではガラクトタンがそれぞれ明確に分離されたとする結果を得た。この事実は、自分の日常がいつの間にか平凡な常識にどっぷりと浸かったままで、その結果、柔軟、かつ弾力的であるべき思考を失い、反対に硬直化してしまった現実を痛感した。そのような日常から、若い人々の発想を「やってみたらどうだ」としてエンカレッジするのではなく、反対に頭ごなしに否定してしまっていたことでもあり、科学者としての成熟よりも老化の先行を証明したことは、「歳はとりたくないものよ」との思いと共に自分に深く反省を強いた事件であった。

はからずもこのようにして得られたヘパリノイド活性を示すアラビナン硫酸の化学構造は、その後、上原孜君（日清紡研究センター）の修士論文となり、 α -1,3-結合をするアラビノフラノースの直鎖構造をとり、この糖残基の2位に硫酸基がエステル結合をする構造であることが証明された⁽¹⁸⁾。

C)ガラクトタン硫酸

マイクロフィブリル多糖による分類と全く同じカテゴリーで、クダモ目の水溶性多糖は明確にグループ分けがなされた。すなわち、マンナンのグループであったミル属は上述のようにアラビナン硫酸であったが、キシランのグループに属したイワズタ属などでは、このよな痕跡は認められず、ガラクトタンを主体とする硫酸化多糖であった。また硫酸基の含有量を比較するとき、ハネモ属においてはほとんど硫酸基を含まず、したがってATAも示されることはなかった。しかしハネモ属の水溶性多糖のクロマトグラフィーにおける溶出プロフィールの比較によって主要ピークの構成を調べてみると、これもガラクトタンであった。

ガラクトタン硫酸は、紅藻類に広く分布する多糖であることは周知であるが、緑藻にもこのような多糖種の存在が認められるのは興味深い。しかし詳細な比較では、両者は明らかに異なる多糖種であって、なかでも構成単糖のガラクトースの立体配置はいずれの場合もD-型であって、紅藻の場合のようなL-型ではなかった。またレゾルシノール反応による無水糖の存在は検出されなかったなどのことから、あらゆる点で紅藻のガラクトタン硫酸とは異なる多糖であった。このガラクトタン硫酸のDEAE-イオン交換セルロースによる精製においては、常に少量のキシランが共に溶出された。このキシランは、陸上植物に見られるものと同種の β -1,4-結合をする直鎖多糖であり、マイクロフィブリルの β -1,3-キシランから由来するものではなかった。このキシランは、何回ものクロマトグラフィーの操作の度ごとに必ず中性多糖の領域に溶出され、完全除去には到らなかったことは、硫酸化多糖と中性の β -1,4-キシランが非共有結合的な関係で存在していることを示唆した。この種の多糖間の超分子構造についての議論が今後、必要とされよう。

D)中性多糖の硫酸化および硫酸化多糖の修飾

中性糖に化学的に硫酸エステルを結合させて、新規の硫酸化多糖を合成する方法には、以前から幾多の試みがなされているが、いずれもクロロスルホン酸や三酸化イオウなどの試薬を用いてドラスチックな反応条件で行う場合であって、グリコシド結合の分解が起こらない本来の多糖が硫酸化されたものか否かが懸念された。近年、ジメチルフォルムアミドに懸濁させた試料にジシクロカルボジイミド試薬を加え、冷却しながら濃硫酸を滴下するとの温和な条件によって硫酸化が容易に行えるようになった、この反応系を用いて、元の多糖の解重合を起こすことなく、硫酸化 β -1,3-キ

シランなどのように、天然には見出されない新規の硫酸化多糖を調整することが可能となった。

SDS-ゲル電気泳動法は、タンパク質などの荷電分子の見かけの分子量を、微量かつ再現性に優れた結果として求められる良い方法であるが、中性多糖についてはこの方法の適用は原理的に不能である。しかし、我々はこの反応を応用して、硫酸化をした中性多糖についてゲル電気泳動を行なうことが可能とした。分子量マーカとして市販されているプルランをこの方法によって硫酸化し、得られた硫酸化プルランの相対泳動距離を比較することによって、優れた分解能のもとで中性多糖の見かけの分子量を容易に求めることができた。また、この硫酸化の反応によってさらに多硫酸化多糖とするような修飾多糖の合成にも及んだりしたが、別にこの方法は反応時間の制御によって種々のS含有を示す試料を得ることができることから、位置選択的なエステル化の機構を考察することもできた。

反対に、希メタノール塩酸での加水分解によっていたこれ迄の脱硫酸化の方法は、やはり部分的なグリコシド結合の分解も起こることから適当とは言えなかったが、無水メタノール/ジメチルスルフォキシド混液に溶解した硫酸化多糖を加熱しながら還流することによって効果的に脱硫酸を行う方法が最近繁用されるようになった。この反応系では、反応時間によって脱硫酸化の程度を制御することが可能であったので、加熱時間を選択することによって部分的に脱硫酸化が起こった試料を得ることができた。このようにして得られた種々の修飾多糖を利用して、硫酸基の量、結合位置などの活性に対する相関を比較することが可能となった。ATAとか、抗ウイルス活性などに代表されるこの種の多糖の生物活性の発現には、いずれも、脱硫酸化反応の進行にともなってその活性は定量的に減少することから硫酸基の存在が活性発現には不可欠であり、多糖を構成する糖残基の種類、硫酸基の量および糖残基にエステル結合をする位置などが問題となる。この反対に、化学的に硫酸基を付加させる加硫酸化反応によって、例えばラムナン硫酸にさらに硫酸基を付加させた場合、既存の硫酸基による立体障害によって新規のポリ硫酸化多糖を得るまでには到らなかったが、本来のラムナン硫酸の場合よりも高い活性を示した。これまで化学的に合成された硫酸化多糖の抗ウイルス活性発現には、硫酸基の置換度 (D.S.: degree of substitution) が比較的に高いこと (例えば、1.8以上) が要求されていたが、ヒトエグサ科からのラムナン硫酸では0.4から0.7程度で高い抗ウイルス活性が示される

ことから、この活性発現は単に硫酸基の量ばかりではなく、糖残基におきみエステル結合の位置などと共に、糖鎖構造におけるコンフォメーションのとりかたなども要因と考えられる。

E) 硫酸化多糖の構造と抗ウイルス活性との相関

東京学芸大の石川依久子教授の研究室で扱う巨大細胞性緑藻のオオバロニアの藻体は、傷を受けると傷口から遠心的に原形質凝集が拡がり全原形質は無数のプロトプラストに分裂される。ここでは外液のCaイオンの介入が必要であり、このイオンによって凝集を引き起こす原形質物質を生化学的に分析する計画のために1993年に卒論生を一人お預かりすることになった。存在量の極めて少ない物質を得て、一連の分析の結果はアラビノースを多量に含む硫酸化多糖であることが明らかになった。バロニア藻体から硫酸化多糖が特定されたのは初めてのケースであったため、これを翌年、富山で開かれた第18回日本藻類学会で発表した。このとき、ちょうど同じ会場で富山医薬大の林京子先生(医・ウイルス学教室)と林利光先生(薬・生薬学教室)らのグループによる「藻類の抗単純ヘルペスウイルス及び抗エイズウイルス」に関連するご発表があった。ここで材料として用いられたラン藻スピルリナ (*Spirulina platensis*) からの活性物質は、ラムノースを主要構成単糖とする硫酸化多糖であったことは、起源が異なりながらもラムナン硫酸の抗ウイルス活性発現がどのように構造の特徴を反映するものかについて興味をひいた。その後、両先生方に連絡をとり、相互のラムナン硫酸についての情報交換などから始まり、やがて構造解析は主として埼玉大で、活性については富山でとする協同研究が始まり、ここにさきのヒロハノヒトエグサのラムナン硫酸の構造決定で修士課程を修了した李貞範君(富山医薬大)がさらに同大の博士課程に進み、有為な成果を得ることができた^(19,20)。

ラン藻の硫酸化多糖の構成単糖は、クロマトグラフィーにおいて海藻多糖の場合とは異なる挙動が見られたので、アルジトールトリフロロアセテートとか、アルジトールアセテートなどの誘導体としてGCとかGC-MSなどで同定した結果、ラムノースと3-O-メチルラムノースが約2:1で存在するものであった。糖残基に対する硫酸基の置換度 (D.S.) は、約0.15と低く、equatorial配向にエステル結合をするものであった。糖鎖結合については、ラムノース残基のほとんどが1,3-結合のほか、部分的に分枝構造をとった。このような単糖を含む多糖種は、緑膿菌やカンピロバクターのリポ多糖や、ラン藻アナベナ (*Anabaena variabilis*) のリ

ポ多糖などで報告されているにすぎず、海藻多糖では認められていなかった。このように相互に高次構造が異なる多糖種の活性発現と構造との活性相関の比較については今後も大きな興味を持たれる課題であろう。

これ迄にラン藻のラムナン硫酸では、HIVの場合を含むエンベロープ型ウイルスの増殖に対する顕著な抑制効果が認められたが、アオサ目の四種の緑藻（ヒトエグサ、ヒロハノヒトエグサ、ナガアオサ、ヒラアオノリ）の冷水、あるいは熱水抽出で得られた粗多糖におけるウイルス活性の比較では、ATAを示すヒトエグサ科の緑藻より得られたラムナン硫酸の場合において活性が認められ、スピルリナからのラムナン硫酸の場合と同様にウイルスの侵入阻止効果が強く、優れた抗ウイルス剤であることが明らかにされた。また、ATAを指標として精製したとき、精製の進行に伴って活性も増加し、ある種の糖鎖構造とそれに対する硫酸基の量と結合位置が重要であることを示唆している。

多糖の構造生物学 - 構造の重要性について

多糖の糖鎖結合の種類は、タンパク質におけるポリペプチドの比ではなく、同じ糖残基から成るオリゴマーであっても無限に近い異性体数が存在して、このことが多糖を今だに扱にくいものとして敬遠される遠因となっている。それで多糖の構造解析では、理論的には無限に近い数の多糖の一つひとつについて行なわなければならないことも知れない。しかし（これは私の経験による推論にもなるが）、自然界にこれまで認められる多糖で、糖鎖構成にあずかる単糖残基の種類や糖鎖結合の出現頻度などをつぶさに調べるならば、どうも多糖の構造は、数千の数に限定される糖鎖の基本構造の中にまとめられ、このような基本構造が一覧表によって明かになれば、これらの中での組み合わせによる存在とか、またこれらから少し外れた亜種があったとしても、全部で数万種くらいを対象とすることによって、自然界の多糖の構造は明らかにされるのではないかと考えている。やがて、いくつかの基本構造が組合わさった多糖の全体像が明かになり、これらのコンフォメーションや働きについての予測などが可能になる時代になるであろう。構造生物学の分野では、近々に横浜市内に完成する予定である世界最大のNMRセンターや、兵庫県播磨科学公園都市「スプリング8」（大型放射光施設）での世界一の性能を待つX線回折、などの大型機器による貢献から大きな発展が期待されている。

ヒトは10万から14万の遺伝子を持つと言われるが、

これらからつくられるタンパク質の種類は、遺伝子と同じ数かそれ以上となる。遺伝子にはタンパク質がいつ、どこで、どのようにつくられるかが書かれてあるが、そのタンパク質が何をしているのかという最も重要で本質的な知見はない。例えば、遺伝子の変異と病気の関係が明らかになっても、治療薬はほとんどタンパク質に作用するのであるから、タンパク質の形（構造）が不明のまま薬をやみくもに設計するよりも、形が明かにされたタンパク質に働く薬がより効果的であろう。それ故、遺伝子の配列が全て調べられたポストゲノムの時代は、タンパク質の形まで調べないとせっかく調べた遺伝子の知識が活かされないのではない。多糖類についてもこれと全く同じ次元の議論が成り立つ。多糖は、生命の営みを理解するうえに不可欠な生体物質である。ポストゲノムの時代とはこのような生体高分子物質の形を思い浮かべながら、分子レベルで生命現象を解析する時代であると考えられる。そして、繰り返しになるが、分子の形を見極める方法としてのNMRスペクトルの重要性は、X線解析と共により強調されてゆくことであろう。

化学分類と称した問題提起は、あたかも切手のコレクターが基準の設定の違いに従って恣意による分類を行うような内容でもないし、また現象記載の枚挙に終わる作業をしてきたつもりでもない。海藻多糖の多様な形質の比較についての指摘は、高塩濃度の水圏である海洋に成育する海藻における「生きる意味」を求めての生命の原理を追求する研究の過程であって、決して単なる形質の比較のみを目的とするものではない。これまでの分類学とか、系統学においては、生物の諸形質を比べる研究方法が主体であったことは、今後も生物の発見とか、記載において基礎データを得ることとして重要な位置を占めるてゆくことには変わらないし、特にこれからの時代は、分子の「形態」が研究対象となるとしても、この方法の重要性には変わりがないと言えよう。いま生化学、分子生物学で用いられてきた斬新な手法によって生命像についての理解は飛躍的に増加しているが、これ迄に伝統的な方法によって蓄積された情報があつてこそであることを忘れてはならない。このようにして、多糖のように研究の対象が大きな期待が持たれる場合にあるほど、その研究の将来にさらに大きな情熱と関心が持たれてゆくことは当然であろう。

我々のささやかな仕事は、クダモ目がいかに多様な形質を含む一群の藻類であるかの主張であり、もはやこの群が、単にサイホンのような体制であるからとす

る形態的な特徴によってまとめられるものではないことは明白である。現に吉田忠生先生の近著「新日本海藻誌」では、クダモ目はイワズタ目 (Caulerpales), ミル目 (Codiales), ハネモ目 (Bryopsidales) に分けられている。我々の主張が「生きているとはどんなことか」を命題とする生化学や分子生物学の延長線上での問題提起であるから、この立場でクダモ目の多様性をさらに今後の課題としたとき、その対象は種からDNAのレベルに移る内容となることも明らかであろう。葉緑体とかミトコンドリアなどのように、塩基数の少ない部分を比較し、塩基配列の違いを進化の過程での置換と見做して解析する方法などが有益ではないかと考えている。このような塩基配列による分子データの評価も、直線的な塩基配列から、アミノ酸配列を経てタンパク質の立体的な高次構造に変わろうとしているので、多糖の高次構造の解析についても、やがては重要な指針となることに疑問の余地はない。

いま「多様性の生物学」が話題となり多くの成書も出版されているが、これには生命系の生を解明する基礎的なデータ記載から、個々の事実を解析する分子生物学の最先端の課題まで、極めて幅広い問題が含まれている。このうちのどれが欠けても統一されるべき研究の全体像には及ばないことになろう。我々の仕事は、ニュートンの謙虚な言葉の通りに、真実の大海原を前にしてその岸边で貝殻ならぬ海藻を拾う子供に過ぎなかった。やがては有為な若者が、この魅力に溢れた海原に果敢に身を潜らせてゆく時代を期待したい。

エピローグ

大学が学問、研究の場であり続けながら発展するためには、絶えず内部エネルギーの高揚を求めること、そのためには、教官の研究内容に対する相互の点検が恒常的に続けられることが必須であろう。分野の異なる教官同志が、互いに研究領域を紹介し、アドバイスを求め合うことは相互に刺激であり、ひいては教室、研究室の活性化につらなる。しかしこの場合、他者の研究に対する批判、討論を行う場合には、参加者全員がその研究者の創意、業績に対しては徹底的に敬意を払い、これを尊重する厳しいルールが基本として守られなければならない。このことによってのみ相互点検の有益な結果が得られることを心に銘記し、仮にもこのルールに反することは厳しく戒められなければならない。このルールを無視し、批判の基準を恣意的に変え、あまつさえ思想、信条が異なるとして特定の人物に対する人身攻撃を行うなどは論外であろう。そこで

は揚げ足取りの議論に墮すだけであって、研究の場である大学の行なう行為ではない。例えば人の多様性を認めない排他的な行為である「いじめ」は、単一の価値感しか持ち得ない人間がその価値感のみを押し付けようとしているような事例であろうが、多様な思考の中から真実を求める研究の場にあつては、研究者以前よりも人間としての資質さえも欠如しているとしか言えない。人は、自己の主体性を尊重する意識のもとで、はじめて他者の主体性を尊重することができると考えるが、今の社会が抱える環境破壊、差別、暴力などの問題は、他者たる自然とか、人間の主体性を軽視、あるいは否定することから起こる現象であるとしか考えられない。埼玉大学生生化学科にあつては、このようなルールが一部によって無視された結果、そのアクティビティを失い、名称を変更してその歴史が終わったことを、世は他山の石として永く教訓とすべきであろう。

これからの時代にあつて大学を取り巻く情勢は、独立法人化、教官の任期制の導入、などその厳しさをさらに増すことであろう。しかし(いささか感傷めくが)「学びたい」とする志のある学生と、真摯に彼等を迎えようとする教師との連帯関係が成り立つ限り、いかなる逆境に置かれようとも大学は永遠であり、滅びとは無縁と私は確信している。元名大学長であられた飯島宗一先生は、大学における研究、教育と学生との関係を「学問、すなわち人間が過去において文明、文化として造りあげてきたものを継承し、人間の未来を切り拓いてゆくための知的、精神的な営みを共に担う同志的な関係」とされた。

ここに全ての方の名を記すことはできなかったが、34年のその時々において献身的なご協力を下さることによって、私を励まし、支え、そしてエネルギーを提供して下さいました多くの学生、院生の皆様(=同志)に、この稿をお借りして心よりの謝意を捧げたい。私はこれらの人々のお蔭で、数知れない多くの挫折に打ちひしがれる時でも、これを克服し、助けられて研究を続けることができた。これらの人々と、毎年繰り返された試料の採集から始まり、実験室での討論、実験、結果の発表、論文書き、などに過ぎた日々の生活が、私の34年間の存在の証であり、人生の全てであった。そして私は、この人々のそれぞれの成長と発展が繰り返されてゆくことを目の前に認識するたびに、この人々を誇りに思え、共にすごせた自分の人生の幸せをいま噛みしめている。



図 7 学生たちとの飲み会における最近の筆者

引用文献

- 1) 中西香爾 1960. 赤外線吸収スペクトル—定性と演習. 南江堂.
- 2) Maeda, M., Kuroda, K., Iriki, Y., Chihara, M., Nisizawa, K. and Miwa, T. 1966. Chemical nature of major cell wall constituents of *Vaucheria* and *Dichotomosiphon* with special references to their phylogenetic positions. Bot. Mag. Tokyo 79: 634-643.
- 3) Maeda, M. and Nisizawa, K. 1968. Fine structure of laminaran of *Eisenia bicyclis*. J. Biochem. 63: 634-643.
- 4) Maeda, M. and Nisizawa, K. 1968. Laminaran of *Ishige okamurai*. Carbohydr. Res. 7: 97-99.
- 5) 前田昌徹 1968. 糖質の赤外線吸収スペクトル解析法, p.108-120, 蛋白質核酸酵素, 別冊 糖質実験法. 共立出版.
- 6) Maeda, M. and Nisizawa, K. 1972. Cell wall constituents of siphonous green algae with reference to their phylogenetic positions. p.33-44. In: I.A. Abbott & M. Kurogi (ed.) Contribution to the systematics of benthic marine algae of the north Pacific. Jap. Phycol. Soc. Tokyo.
- 7) 前田昌徹 1978. Dr. Sweeley の研究室. 化学と生物 16: 742-746.
- 8) Fukushi, Y. and Maeda, M. 1986. Purification of xylan from the cell wall of *Bryopsis maxima*. Bot. Mar. 24: 387-390.
- 9) Fukushi, Y., Otsuru, O. and Maeda, M. 1988. The chemical structure of the D-xylan from the main cell wall of *Bryopsis maxima*. Carbohydr. Res. 182: 313-320.
- 10) Maeda, M., Fukushi-Fujikura, Y. and Otsuru, O. 1990. Cellulose in the cell wall of the siphonous green alga, *Bryopsis maxima*. Carbohydr. Res. 240: 207-218.
- 11) Kaihou, S., Hayashi, T., Otsuru, O. and Maeda, M. 1993. Studies on the cell wall mannan of the siphonous green alga, *Codium latum*. Carbohydr. Res. 240: 207-218.
- 12) Yamagaki, T., Maeda, M., Kanazawa, K., Ishizuka, Y. and Nakanishi, H. 1996. Structure of *Caulerpa* cell wall microfibril xylan with detection of β -1,3-xylooligosaccharides as revealed by matrix-assisted laser desorption ionization/time of flight/mass spectrometry. Biosci. Biotech. Biochem. 60: 1222-1228.
- 13) Yamagaki, T., Maeda, M., Kanazawa, K., Ishizuka, Y. and Nakanishi, H. 1997. Structural clarification of *Caulerpa* cell wall β -1,3-xylan by NMR spectroscopy. Biosci. Biotech. Biochem. 61: 1077-1080.
- 14) Yamagaki, T., Thuji, Y., Maeda, M. and Nakanishi, H. 1997. NMR spectroscopic analysis of sulfated β -1,3-xylan and sulfation stereochemistry. Biosci. Biotech. Biochem. 61: 1281-1285.
- 15) Hiraoka, A., Harada, N., Uehara, T., Sekiguchi, M. and Maeda, M. 1992. Capillary- isotachopheric analyses of algal acidic polysaccharides and their application to a survey of heparinoid active sulfated polysaccharides in Chlorophyta. Chem. Pharm. Bull. 40: 783-785.
- 16) Harada, N. and Maeda, M. 1998. Chemical structure of antithrombin-active rhamnan sulfate from *Monostroma nitidum*. Biosci. Biotech. Biochem. 62: 1647-1652
- 17) Lee, J.M., Yamagaki, T., Maeda, M. and Nakanishi, H. 1998. Rhamnan sulfate from cell wall of *Monostroma latissimum*. Phytochemistry 48: 921-925.
- 18) Uehara, T., Takeshita, M. and Maeda, M. 1992. Studies on anticoagulant-active arabinan sulfate from the green alga, *Codium latum*. Carbohydr. Res. 235: 309-311.
- 19) Hayashi, T., Hayashi, K., Maeda, M. and Kojima, I. Calcium spirulan, an inhibitor of enveloped virus replication, from a blue-green alga *Spirulina platensis*. J. Nat. Prod. 59: 83-87.
- 20) Lee, J.M., Hayashi, T., Hayashi, K., Sankawa, U., Maeda, M., Nemoto, T. and Nakanishi, T. 1998. Further purification and structural analysis of Calcium spirulan from *Spirulina platensis*. J. Nat. Prod. 61: 1101-1104.

(963-7796 福島県田村郡三春町字大町 178 三春町教育委員会)

編集追記

現在, 著者は福島県三春町の教育長として, 地方からの教育変革に尽力されています。