

Oxalobacteraceae 科細菌が生成する新規吸水性多糖由来オリゴ糖の NMR 解析

小川和 鋭,^a 池田 洋子,^b 梅村 一之*,^a

NMR Analyses of Oligosaccharides from a New Water-absorbing Polysaccharide Produced by the Family *Oxalobacteraceae*

Kazutoshi OGAWA,^a Yoko IKEDA^b, and Kazuyuki UMEMURA*,^a

^aDepartment of life and Environmental Science, College of Science and Engineering, Iwaki Meisei University, 5-5-1 Chuodai-Iino, Iwaki 970-8551, Japan, and ^bMicrobial Chemistry Research Foundation, 3-14-23 Kamiosaki, Sinagawa-ku, Tokyo 141-0021, Japan

(Received November 17, 2008; Accepted December 12, 2008)

Partial acid hydrolysis of a new water-absorbing polysaccharide (WAP) from the family *Oxalobacteraceae* gave six di-, four tri-, two tetra-, two penta-, and one hexasaccharides composed of mannose, glucose, and/or galactose. The structures of oligosaccharides 1–15 were elucidated by extensive 2D NMR spectroscopic analyses. ¹H- and ¹³C-NMR chemical shift assignments of oligosaccharides 1–14 are presented.

Key words—oligosaccharide, polysaccharide, NMR spectrometry

はじめに

カルボキシメチルセルロースの化学修飾を検討中、部分架橋させることにより、多量の水を速やかに吸収し、かつ粘稠性を生じない性質が発現することが判明したことから、同様の吸水性を持つ多糖を生産する細菌の探索を行い *Oxalobacteraceae* 科の新菌株より新たな吸水性多糖 (WAP) を分離精製すると共に吸水性多糖の構造を明らかにする目的で、部分酸加水分解によって得られたオリゴ糖の NMR 解析を行ったので報告する。

このような吸水性多糖は、現在実用化されている樹脂系吸水性物質とは異なり、安全性及び生分解性の高い吸水性素材として、今後食品・健康・医療や農業・環境分野、さらに機能性素材など多方面への応用が期待されるものである。

吸水性多糖生産菌の検索は、ツアペック・ドックス培地 [組成 (g/l) : スクロース, 30; K₂HPO₄, 1; MgSO₄ · 7H₂O, 0.5; NaNO₃, 2; KCl, 0.5; FeSO₄ · 7H₂O, 0.01; pH 7.0] を用いて行った。その結果、自重の 120 倍の吸収能を持つ多糖 (WAP) を生産

するグラム陰性菌株 (IM944) を分離できた。IM944 株は形態学的性質、生理・生化学的性質、16S rRNA 遺伝子の全塩基配列解析等の結果から *Oxalobacteraceae* 科に属する新種であると判断した。¹⁾

IM944 菌株が生産する吸水性多糖は、常法により抽出した粗多糖 (吸収倍率 200 倍) を水酸化カリウム水溶液中セチルトリメチルアンモニウムブロミドにより処理することで、マンノース、グルコース、ガラクトース (モル比率 1 : 3 : 3) を構成糖とする精製多糖 (WAP) として得られた。WAP は吸水倍率 120 倍を示し、窒素含量 0.3% の白色・繊維状の粉末で、ウロン酸、アミノ糖は含まれていなかった。また WAP は、構成糖及びそのモル比から新規の多糖と推定され、さらに示差走査熱量測定 (DSC) の結果、60.5°C 付近を頂点とするピークの形状を示し、数回の昇降温を繰り返してもほとんど変化がないことから均質であると推定した。¹⁾

オリゴ糖の分離と同定

精製 WAP は希アルカリ溶液や DMSO に難溶であったため、旋光度あるいは分子量の測定は困難であった。そこで、化学構造解析の検討方法として、WAP を部分酸加水分解後、生成したオリゴ糖を分

^aいわき明星大学科学技術学部生命環境学科, ^b微生物化学研究センター

*e-mail: umemura@iwakimu.ac.jp

離し、NMR 及び MS スペクトル測定等により構造解析 (fragmentation analysis) することとした。²⁾

1. WAP の部分酸加水分解、及び分解物の活性炭カラムクロマトグラフィーによるオリゴ糖の粗分画 WAP を 0.2M トリフルオロ酢酸中、封管内で 100°C、2 時間加熱して部分加水分解物を得たのち、これを活性炭カラムクロマトグラフィーで分画、各画分の溶出順と各画分について行ったペーパークロマトグラム上のスポットの移動度を基に、15 種のオリゴ糖を含む 12 区分を得た。

2. 調製ペーパークロマトグラフィーとゲルろ過によるオリゴ糖の分離と精製 得られた 12 の各区分について、調製ペーパークロマトグラフィーを行い、¹H-NMR スペクトルを基に 15 種のオリゴ糖 (1-15) に分離し、さらにゲルろ過での精製、同時に重合度を測定した。

3. オリゴ糖の同定 分離した 15 種のオリゴ糖は比旋光度、MS スペクトルを測定後、¹H-NMR 及び ¹³C-NMR スペクトルを測定、DEPT、¹H-¹H COSY、HMQC、HMBC の技法によりそれぞれの化学シフトを帰属、解析して構造決定を行った。(Fig. 1)

NMR スペクトルから 15 種のオリゴ糖中、6 種の二糖 (1-6) は既知であることが判明し、4 種の三糖 (7-10)、2 種の四糖 (11, 12)、2 種の五糖 (13, 14) と 1 種の六糖 (15) はいずれも新規のオリゴ糖であると判断した。また六糖 15 の構造は *O*-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-*O*-β-D-mannopyranosyl-(1→4)-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-*O*-[β-D-glucopyranosyl-(1→3)-*O*-β-D-galactopyranosyl-(1→3)]-D-galactopyranose であると決定したが、²⁾ 吸収多糖 WAP の構造決定においては、共通の分岐オリゴ糖 (*O*-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-*O*-[β-D-galactopyranosyl-(1→3)]-D-galactopyranosyl) 部位を有するオリゴ糖 7, 11, 13, 14 及び 15 の構造決定が鍵となった。²⁾

4. WAP の繰り返し単位の分子構造 上記の 15 種のオリゴ糖の構造 (Fig. 1) と WAP のメチル化分析の結果から WAP が新規多糖であり、その構造が Fig. 2 に示した七糖の繰り返し単位を持つ分子構造であると推定した。²⁾

- | | |
|----|--|
| 1 | D-Mannp-(1→4)-D-Glcp |
| 2 | D-Galp-(1→3)-D-Galp |
| 3 | D-Glcp-(1→3)-D-Galp |
| 4 | D-Glcp-(1→4)-D-Galp |
| 5 | D-Galp-(1→3)-D-Glcp |
| 6 | D-Glcp-(1→4)-D-Mannp |
| 7 | D-Glcp-(1→4)-[D-Galp-(1→3)]-D-Galp |
| 8 | D-Mannp-(1→4)-D-Glcp-(1→4)-D-Galp |
| 9 | D-Glcp-(1→3)-D-Galp-(1→3)-D-Galp |
| 10 | D-Galp-(1→3)-D-Glcp-(1→3)-D-Galp |
| 11 | D-Glcp-(1→4)-[D-Glcp-(1→3)-D-Galp-(1→3)]-D-Galp |
| 12 | D-Glcp-(1→4)-D-Mannp-(1→4)-D-Glcp-(1→4)-D-Galp |
| 13 | D-Mannp-(1→4)-D-Glcp-(1→4)-[D-Glcp-(1→3)-D-Galp-(1→3)]-D-Galp |
| 14 | D-Glcp-(1→4)-D-Mannp-(1→4)-D-Glcp-(1→4)-[D-Galp-(1→3)]-D-Galp |
| 15 | D-Glcp-(1→4)-D-Mannp-(1→4)-D-Glcp-(1→4)-[D-Glcp-(1→3)-D-Galp-(1→3)]-D-Galp |

→ Stands for β-glycosidic linkage.

Fig. 1. Structures of Oligosaccharides 1-15

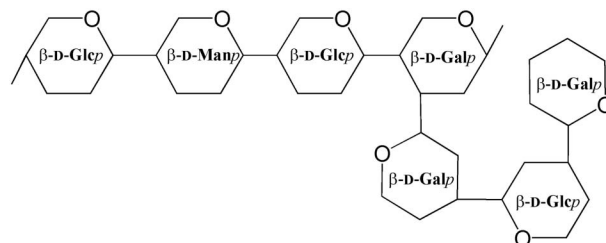


Fig. 2. Structure of WAP

オリゴ糖 (1-14) の解析

本研究において分離・同定された 15 種のオリゴ糖中、既に筆者らによって報告した六糖²⁾を除く 14 種のオリゴ糖 (1-14) の 2D NMR 解析による構造確認と化学シフトの帰属についてその詳細を Tables 1-14 に示した。

実験の部

¹H-NMR スペクトルは Jeol JNM-EX400 及び JNM-α500 スペクトロメーターを用いて D₂O 中 40 °C で 3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム (δ=0) を内部標準として測定した。¹³C-NMR スペクトルは 1,4-ジオキサン (δ=67.4) を内部標準とした。構造解析は 2D NMR 法 (DEPT, ¹H-¹H COSY, HMQC, HMBC) により行った。

Table 1. ^1H - and ^{13}C -NMR Data for Oligosaccharide 1^{a)}

Position	α -Anomer		β -Anomer		
	δ_{C}	δ_{H} (J, Hz)	δ_{C}	δ_{H} (J, Hz)	
β -Manp-(1 \rightarrow	1	100.7	4.75 s	100.8	4.75 s
	2	71.3	4.07 d (4.0)	71.3	4.07 d (8.4)
	3	73.6	3.66 m	73.6	3.66 m
	4	67.4	3.60 dd (1.7, 10.2)	67.4	3.60 dd (1.7, 10.2)
	5	77.1	3.43 ddd	77.1	3.43 ddd
	6	61.7	3.75 m	61.7	3.75 m
\rightarrow 4)-Glc _p	1	92.6	5.23 d (4.0)	96.5	4.67 d (8.4)
	2	71.9	3.59 m	74.6	3.30 dd (1.7, 7.6)
	3	72.0	3.87 dd (1.7, 8.0)	75.0	3.68 m
	4	79.6	3.67 m	79.5	3.68 m
	5	70.7	3.94 m	75.4	3.59 m
	6	60.9	3.77 m	61.1	3.74 m
		3.83 dd (2.2, 10.2)		3.88 dd (2.2, 12.7)	

a) Spectra (δ , ppm) were measured in D_2O at 40°C with a Jeol JNM- α 500 spectrometer. ^1H and ^{13}C chemical-shift assignments were made by DEPT, ^1H - ^1H COSY, HMQC and HMBC experiments. (Spectra of oligosaccharides 2–14 were measured and their chemical-shifts were assigned, respectively, in the same manner as oligosaccharide 1).

Table 2. ^1H - and ^{13}C -NMR Data for Oligosaccharide 2

Position	α -Anomer		β -Anomer		
	δ_{C}	δ_{H} (J, Hz)	δ_{C}	δ_{H} (J, Hz)	
β -Galp-(1 \rightarrow	1	105.3	4.63 d	105.3	4.63 d
	2	72.1	3.63 dd	72.1	3.63 dd (8.6, 8.6)
	3	73.6	3.68 m	73.6	3.68 m
	4	69.6	3.94 d (4.0)	69.6	3.94 d (3.0)
	5	76.0	3.71 m	76.0	3.71 m
	6	62.0	3.78 m	62.0	3.78 m
\rightarrow 3)-Gal _p	1	93.2	5.30 d (2.4)	97.2	4.64 d
	2	68.4	3.98 dd (AB)	72.0	3.66 dd (1.7, 3.0)
	3	80.3	4.01 dd (AB)	83.4	3.81 dd (3.0, 10)
	4	70.1	4.26 dd (<1, 2.4)	69.5	4.20 d (3.0)
	5	71.1	4.12 br.t (6.0)	75.7	3.74 m
	6	62.1	3.74 m	62.0	3.78 m

Table 3. ^1H - and ^{13}C -NMR Data for Oligosaccharide 3

Position	α -Anomer		β -Anomer		
	δ_{C}	δ_{H} (J, Hz)	δ_{C}	δ_{H} (J, Hz)	
β -Glc _p -(1 \rightarrow	1	104.7	4.69 d (7.8)	103.7	4.68 d (8.0)
	2	74.4	3.39 dd (2.0, 7.8)	74.3	3.39 dd (2.0, 8.0)
	3	76.6	3.52 dd (2.0, 7.0)	76.6	3.52 dd (2.0, 7.0)
	4	70.4	3.43 m	70.4	3.43 m
	5	76.7	3.44 m	76.8	3.44 m
	6	61.5	3.74 m	61.5	3.74 m
\rightarrow 3)-Gal _p			3.90 dd (2.0, 11.0)		3.90 dd (2.0, 11.0)
	1	93.2	5.28 d (2.8)	97.2	4.63 d
	2	68.4	3.98 dd (AB)	71.9	3.65 dd (8.0, 12.0)
	3	80.4	4.00 dd (AB)	83.5	3.80 dd (3.0, 12.0)
	4	70.0	4.25 dd (<1)	69.4	4.18 d (3.0)
	5	71.1	4.12 br.t (6.0)	75.7	3.74 m
6	62.1	3.73 m	61.9	3.77 m	

Table 4. ¹H- and ¹³C-NMR Data for Oligosaccharide 4

Position	α -Anomer		β -Anomer		
	δ_C	δ_H (J, Hz)	δ_C	δ_H (J, Hz)	
β -Glc _p -(1→	1	104.7	4.67 d (8.2)	104.7	4.67 d (8.2)
	2	74.7	3.38 dd (1.2, 8.2)	74.7	3.38 dd (1.2, 8.2)
	3	76.8	3.52 dd (1.2, 9.0)	76.8	3.52 dd (1.2, 9.0)
	4	70.7	3.42 dd (<1, 9.0)	70.7	3.42 dd (<1, 9.0)
	5	76.9	3.45 m	76.9	3.45 m
	6	61.8	3.74 m	61.8	3.74 m
→4)-Gal _p			3.92 dd (2.0, 12.6)		3.92 dd (2.0, 12.6)
	1	93.3	5.28 d (4.0)	97.4	4.62 d
	2	69.8	3.89 dd (4.0, 8.0)	73.3	3.57 dd (2.0, 8.0)
	3	70.6	3.97 dd (4.0, 8.0)	74.2	3.76 m
	4	79.4	4.23 br.d (3.0)	78.4	4.17 d (3.0)
	5	70.9	4.13 br.t (7.0)	75.3	3.73 m
6	61.9	3.73 m	61.7	3.73 m	
		3.83 m		3.83 m	

Table 5. ¹H- and ¹³C-NMR Data for Oligosaccharide 5

Position	α -Anomer		β -Anomer		
	δ_C	δ_H (J, Hz)	δ_C	δ_H (J, Hz)	
β -Gal _p -(1→	1	104.3	4.65 d (8.4)	104.4	4.67 d (8.4)
	2	72.3	3.62 dd (1.0, 8.4)	72.3	3.62 dd (1.0, 8.4)
	3	73.6	3.70 dd (1.0, 4.0)	73.6	3.70 dd (1.0, 4.0)
	4	69.6	3.94 m	69.6	3.94 m
	5	76.3	3.74 m	76.3	3.74 m
	6	62.0	3.78 m	62.0	3.78 m
→3)-Glc _p	1	93.0	5.25 d (4.0)	96.7	4.69 d (8.4)
	2	71.9	3.74 m	74.7	3.45 m
	3	83.5	3.93 m	85.8	3.75 m
	4	69.3	3.54 dd (2.0, 12.0)	69.3	3.54 dd (2.0, 12.0)
	5	72.2	3.88 m	76.5	3.52 dd (2.0, 7.6)
	6	61.6	3.79 m	61.6	3.75 m
		3.85 m		3.90 m	

Table 6. ¹H- and ¹³C-NMR Data for Oligosaccharide 6

Position	α -Anomer		β -Anomer		
	δ_C	δ_H (J, Hz)	δ_C	δ_H (J, Hz)	
β -Glc _p -(1→	1	103.6	4.52 d (7.8)	103.7	4.51 d (7.8)
	2	74.2	3.33 dd (7.8, 8.8)	74.2	3.32 dd (7.8, 8.8)
	3	76.5	3.52 dd (8.8, 9.3)	76.5	3.52 dd (8.8, 9.3)
	4	70.6	3.43 dd (9.3, 9.3)	70.6	3.43 dd (9.3, 9.3)
	5	77.0	3.52 dd (5.9, 9.3)	77.0	3.52 dd (45.9, 9.3)
	6	61.7	3.74 dd (5.9, 12.2)	61.7	3.74 dd (5.9, 12.2)
→4)-Man _p			3.94 m		3.94 m
	1	94.8	5.19 d (2.0)	94.6	4.92 d (<1)
	2	71.3	4.0 m	71.7	4.0 m
	3	70.0	3.96 m	72.8	3.77 dd (2.0, 11)
	4	77.9	3.87 dd (4.0, 9.0)	77.6	3.80 dd (2.6, 11.0)
	5	72.1	3.93 m	75.9	3.53 m
6	61.4	3.87 dd (4.0, 9.0)	61.4	3.84 dd (4.0, 9.0)	
		3.93 m		3.96 m	

Table 7. ^1H - and ^{13}C -NMR Data for Oligosaccharide 7

Position	α -Anomer		β -Anomer		
	δ_{C}	δ_{H} (J, Hz)	δ_{C}	δ_{H} (J, Hz)	
β -Glc p -(1 \rightarrow)	1	103.3	4.91 d (8.2)	103.3	4.91 d (8.2)
	2	74.5	3.35 dd (1.4, 8.2)	74.6	3.35 dd (1.4, 8.2)
	3	76.8	3.54 dd (8.2, 8.2)	76.8	3.54 dd (8.2, 8.2)
	4	70.8	3.40 dd (8.2, 8.2)	70.8	3.40 dd (8.2, 8.2)
	5	76.6	3.43 ddd	76.6	3.43 ddd
	6	61.9	3.73 m	61.9	3.73 m
\rightarrow 4)-Gal p -(3 \leftarrow)			3.91 dd (2.0, 12.0)		3.91 dd (2.0, 12.0)
	1	93.3	5.30 d (3.6)	97.3	4.66 d (9.8)
	2	68.8	4.11 dd (AB)	72.3	3.78 m
	3	79.9	4.08 dd (AB)	83.0	3.89 dd (3.0, 9.0)
	4	77.4	4.47 br.d (1.8)	76.5	4.40 d (3.0)
	5	70.8	4.15 br.dd (1.8, 6.4)	75.2	3.74 m
\leftarrow 1)- β -Gal p	6	61.8	3.69 m	61.6	3.76 m
			3.79 m		3.80 m
	1	105.7	4.62 d	105.6	4.62 d
	2	72.2	3.63 dd (8.0, 8.0)	72.2	3.63 dd (8.0, 8.0)
	3	73.5	3.68 m	73.5	3.68 m
	4	69.6	3.95 dd (1.8, 11.0)	69.6	3.95 dd (1.8, 11.0)
5	76.0	3.70 m	76.1	3.70 m	
6	62.1	3.78 m	62.1	3.78 m	

Table 8. ^1H - and ^{13}C -NMR Data for Oligosaccharide 8

Position	α -Anomer		β -Anomer		
	δ_{C}	δ_{H} (J, Hz)	δ_{C}	δ_{H} (J, Hz)	
β -Man p -(1 \rightarrow)	1	100.8	4.75 br.s	100.8	4.75 br.s
	2	71.3	4.07 d (2.2)	71.3	4.07 br.d (2.2)
	3	73.6	3.66 m	73.6	3.66 m
	4	67.4	3.60 dd (<1, 10.0)	67.4	3.60 dd (<1, 10.0)
	5	77.1	3.43 m	77.1	3.43 m
	6	61.7	3.75 m	61.9	3.73 m
\rightarrow 4)- β -Glc p -(1 \rightarrow)			3.95 m		3.91 dd (2.4)
	1	104.3	4.70 d (8.8)	104.3	4.69 d (8.8)
	2	74.1	3.42 m	74.1	3.42 m
	3	75.0	3.72 m	75.0	3.72 m
	4	79.4	3.68 m	79.5	3.68 m
	5	75.3	3.58 m	75.3	3.58 m
\rightarrow 4)-Gal p	6	61.0	3.76 m	61.0	3.76 m
			3.91 m		3.91 m
	1	93.0	5.28 d (2.8)	97.2	4.61 d
	2	69.6	3.90 m	73.0	3.58 m
	3	70.3	3.96 m	73.9	3.76 m
	4	79.2	4.23 br.d (2.0)	78.3	4.17 m
5	70.6	4.13 br.dd (2.0, 6.0)	75.1	3.74 m	
6	61.7	3.74 m	61.5	3.76–3.81 m	
		3.82 m			

Table 9. ^1H - and ^{13}C -NMR Data for Oligosaccharide **9**

Position	α -Anomer		β -Anomer		
	δ_{C}	δ_{H} (<i>J</i> , Hz)	δ_{C}	δ_{H} (<i>J</i> , Hz)	
β -Glc p -(1 \rightarrow	1	104.6	4.70 d (7.8)	104.6	4.70 d (7.8)
	2	74.3	3.39 dd (7.8, 9.0)	74.3	3.39 dd (7.8, 9.0)
	3	76.6	3.53 dd (7.0, 9.0)	76.6	3.53 dd (7.0, 9.0)
	4	70.4	3.44 m	70.4	3.44 m
	5	76.8	3.46 m	76.8	3.46 m
	6	61.6	3.74 m	61.6	3.74 m
\rightarrow 3)- β -Gal p -(1 \rightarrow			3.90 dd (<1, 12.0)		3.90 dd (<1, 12.0)
	1	105.0	4.68 d (7.0)	105.0	4.70 d (8.0)
	2	71.2	3.79 m	71.2	3.79 m
	3	83.1	3.84 dd (2.4, 9.0)	83.1	3.84 dd (2.4, 9.0)
	4	69.2	4.20 br.s	69.2	4.20 br.s
	5	75.6	3.72 m	75.7	3.72 m
\rightarrow 3)-Gal p	6	61.9	3.78 m	61.9	3.78 m
	1	93.2	5.30 d (2.8)	97.2	4.64 d
	2	68.4	3.99 dd (AB)	72.0	3.67 dd (2.0, 9.0)
	3	80.3	4.02 dd (AB)	83.4	3.83 m
	4	70.1	4.26 dd (<1, 1.6)	69.6	4.20 br.s
	5	71.1	4.13 br.t (6.0)	75.7	3.72 m
6	62.1	3.77 m	61.9	3.78 m	

Table 10. ^1H - and ^{13}C -NMR Data for Oligosaccharide **10**

Position	α -Anomer		β -Anomer		
	δ_{C}	δ_{H} (<i>J</i> , Hz)	δ_{C}	δ_{H} (<i>J</i> , Hz)	
β -Gal p -(1 \rightarrow	1	104.2	4.62 d (8.4)	104.2	4.62 d (8.4)
	2	72.3	3.55 dd (2.0, 8.4)	72.3	3.55 dd (2.0, 8.4)
	3	73.6	3.63 m	73.6	3.63 m
	4	69.6	3.88 d (4.0)	69.6	3.88 d (4.0)
	5	76.3	3.66 m	76.3	3.66 m
	6	62.0	3.72 m	62.0	3.72 m
\rightarrow 3)- β -Glc p -(1 \rightarrow	1	104.5	4.66 d (8.4)	104.4	4.67 d (8.4)
	2	74.0	3.53 dd (<1, 8.4)	74.0	3.53 dd (<1, 8.4)
	3	85.4	3.72 m	85.4	3.72 m
	4	69.1	3.50 dd (1.2, 10.0)	69.1	3.50 dd (1.2, 10.0)
	5	76.3	3.44 ddd	76.4	3.44 ddd
	6	61.6	3.70 m	61.6	3.70 m
\rightarrow 3)-Gal p			3.84 dd (2.0, 12.0)		3.84 dd (2.0, 12.0)
	1	93.2	5.23 d (3.6)	97.2	4.58 d (8.4)
	2	68.4	3.92 dd (3.6, 6.4)	71.9	3.60 dd (3.6, 8.4)
	3	80.4	3.95 dd (<1, 2.6)	83.5	3.75 m
	4	70.0	4.18 dd (<1, 3.0)	69.4	4.13 d (3.0)
	5	71.1	4.06 br.t (6.0)	75.8	3.66 m
6	62.1	3.68 m	61.9	3.70 m	
		3.75 m			

Table 11. ^1H - and ^{13}C -NMR Data for Oligosaccharide **11**

Position	α -Anomer		β -Anomer		
	δ_{C}	δ_{H} (J , Hz)	δ_{C}	δ_{H} (J , Hz)	
β -Glc p -(1 \rightarrow)	1	103.3	4.91 d (8.4)	103.3	4.91 d (8.4)
	2	74.6	3.33 dd (2.4, 8.4)	74.5	3.33 dd (2.4, 8.4)
	3	76.8	3.53 dd (2.4, 9.0)	76.8	3.53 dd (2.4, 9.0)
	4	70.8	3.41 m	70.8	3.41 m
	5	76.6	3.44 m	76.6	3.44 m
	6	61.9	3.72 m	61.9	3.72 m
\rightarrow 4)- β -Gal p -(3 \leftarrow)			3.91 dd (2.4, 4.4)		3.91 dd (2.4, 4.4)
	1	93.3	5.30 d (2.6)	97.3	4.66 d (8.4)
	2	68.8	4.11 dd (AB)	72.2	3.79 m
	3	79.7	4.09 dd (AB)	82.8	3.90 dd (2.0, 4.6)
	4	77.4	4.47 br.d (5.0)	76.5	4.41 d (2.4)
	5	70.8	4.15 br.t (6.2)	75.2	3.74 m
\leftarrow 1)- β -Gal p -(3 \leftarrow)	6	61.8	3.69 m	61.6	3.79 m
			3.80 m		
	1	105.2	4.68 d (7.8)	105.3	4.67 d (8.4)
	2	71.3	3.80 m	71.3	3.80 m
	3	83.0	3.84 m	83.0	3.84 m
	4	69.3	4.19 br.d (2.0)	69.3	4.19 br.d (2.0)
\leftarrow 1)- β -Glc p	5	75.7	3.70 m	75.7	3.70 m
	6	62.1	3.78 m	62.1	3.78 m
	1	104.7	4.69 d (8.4)	104.7	4.69 d (8.4)
	2	74.3	3.40 dd (1.8, 8.4)	74.3	3.40 dd (1.8, 8.4)
	3	76.6	3.52 dd (1.8, 9.0)	76.6	3.52 dd (1.8, 9.0)
	4	70.4	3.44 m	70.4	3.44 m
		3.47 m		3.47 m	
		3.74 m		3.74 m	
		3.90 m		3.90 m	

Table 12. ^1H - and ^{13}C -NMR Data for Oligosaccharide 12

Position	α -Anomer		β -Anomer		
	δ_{C}	δ_{H} (J , Hz)	δ_{C}	δ_{H} (J , Hz)	
β -Glc p -(1 \rightarrow	1	103.7	4.45 d (8.0)	103.7	4.45 d (8.0)
	2	74.2	3.26 dd (1.0, 8.0)	74.2	3.26 dd (1.0, 8.0)
	3	76.5	3.46 dd (1.0, 9.0)	76.5	3.46 dd (1.0, 9.0)
	4	70.5	3.36 dd (<1, 9.0)	70.5	3.36 dd (<1, 9.0)
	5	77.0	3.46 dd (<1, 9.0)	77.0	3.46 dd (<1, 9.0)
	6	61.7	3.68 m	61.7	3.68 m
\rightarrow 4)- β -Man p -(\rightarrow			3.88 dd (2.4, 12.0)		3.88 dd (2.4, 12.0)
	1	100.9	4.71 s	100.9	4.71 s
	2	71.1	4.06 d (2.6)	71.7	4.06 d (2.6)
	3	72.6	3.72 m	72.6	3.72 m
	4	77.5	3.76 m	77.5	3.76 m
	5	76.1	3.52 m	76.1	3.52 m
\rightarrow 4)- β -Glc p -(1 \rightarrow	6	61.3	3.78 m	61.3	3.78 m
			3.96 dd (2.0, 12.4)		3.96 dd (2.0, 12.4)
	1	104.6	4.68 d (8.0)	104.5	4.69 d (8.0)
	2	74.3	3.35 dd (2.0, 8.0)	74.3	3.36 dd (2.0, 8.0)
	3	75.3	3.66 m	75.2	3.66 m
	4	79.7	3.63 dd (<1, 8.0)	79.7	3.63 dd (<1, 8.0)
\rightarrow 4)-Gal p	5	75.6	3.51 m	75.6	3.51 m
	6	61.3	3.69 m	61.3	3.69 m
			3.85 dd (1.6, 12.0)		3.85 dd (1.6, 12.0)
	1	93.3	5.22 d (4.0)	97.4	4.55 d (8.4)
	2	69.8	3.83 dd (4.0)	73.3	3.52 m
	3	70.6	3.90 dd (3.0, 10.0)	74.2	3.70 m
4	79.5	4.17 br.d (2.4)	78.5	4.11 m	
5	70.9	4.07 br.t (6.0)	75.4	3.67 m	
6	62.0	3.68 m	61.8	3.76 m	
		3.76 m			

Table 13. ^1H - and ^{13}C -NMR Data for Oligosaccharide **13**

Position	α -Anomer		β -Anomer		
	δ_{C}	δ_{H} (J , Hz)	δ_{C}	δ_{H} (J , Hz)	
β -Manp-(1 \rightarrow	1	100.8	4.75 s	100.8	4.75 s
	2	71.3	4.06 d (2.8)	71.3	4.06 d (2.8)
	3	73.6	3.66 dd (2.8, 8.4)	73.6	3.66 dd (2.8, 8.4)
	4	67.4	3.60 dd (<1, 8.4)	67.4	3.60 dd (<1, 8.4)
	5	77.1	3.43 m	77.1	3.43 m
	6	61.7	3.76 m	61.7	3.76 m
\rightarrow 4)- β -Glc p -(1 \rightarrow			3.95 dd (2.0, 12.0)		3.95 dd (2.0, 12.0)
	1	102.9	4.95 d (8.4)	102.9	4.95 d (8.4)
	2	73.9	3.39 dd (1.5, 8.4)	73.9	3.39 dd (1.5, 8.4)
	3	75.0	3.73 dd (<1, 8.4)	75.0	3.73 dd (<1, 8.4)
	4	79.7	3.67 dd (<1, 8.4)	79.7	3.67 dd (<1, 8.4)
	5	75.0	3.56 ddd	75.0	3.56 ddd
\rightarrow 4)-Gal p -(3 \leftarrow	1	93.0	5.30 d (2.8)	97.0	4.67 d (8.0)
	2	68.5	4.12 dd (<1, 2.8)	72.0	3.78 m
	3	79.4	4.10 dd	82.5	3.91 m
	4	77.2	4.47 br.s	76.3	4.40 d (2.6)
	5	70.6	4.16 br.t (7.0)	75.0	3.73 m
	6	61.6	3.70 m	61.5	3.80 m
\leftarrow 1)- β -Gal p -(3 \leftarrow			3.80 m		3.90 m
	1	105.0	4.68 d (8.0)	104.9	4.69 d (8.0)
	2	71.1	3.80 m	71.0	3.80 m
	3	82.8	3.85 dd (2.6, 10.0)	82.8	3.85 dd (2.6, 10.0)
	4	69.0	4.20 br.d (2.6)	69.0	4.20 br.d (2.6)
	5	75.4	3.71 m	75.5	3.71 m
\leftarrow 1)- β -Glc p	6	61.8	3.78 m	61.8	3.78 m
	1	104.4	4.70 d (8.0)	104.4	4.70 d (8.0)
	2	74.1	3.40 dd (1.0, 8.0)	74.1	3.40 dd (1.0, 8.0)
	3	76.3	3.53 dd (<1, 8.0)	76.3	3.53 dd (<1, 8.0)
	4	70.2	3.44 m	70.2	3.44 m
	5	76.5	3.46 m	76.5	3.46 m
6	61.3	3.75 m	61.3	3.75 m	
			3.90 m		3.90 m

Table 14. ^1H - and ^{13}C -NMR Data for Oligosaccharide 14

Position	α -Anomer		β -Anomer		
	δ_{C}	δ_{H} (J, Hz)	δ_{C}	δ_{H} (J, Hz)	
β -Glc p -(1 \rightarrow)	1	103.7	4.51 d (8.0)	103.7	4.51 d (8.0)
	2	74.2	3.33 dd (<1, 8.0)	74.2	3.33 dd (<1, 8.0)
	3	76.5	3.53 dd (<1, 8.0)	76.5	3.53 dd (<1, 8.0)
	4	70.5	3.43 dd (<1, 8.0)	70.5	3.43 dd (<1, 8.0)
	5	77.0	3.53 dd (2.0, 8.0)	77.0	3.53 dd (2.0, 8.0)
	6	61.7	3.74 m	61.7	3.74 m
\rightarrow 4)- β -Man p -(1 \rightarrow)	1	100.9	4.78 s	100.9	4.78 s
	2	71.1	4.12 d (3.0)	71.1	4.12 d (3.0)
	3	72.6	3.78 m	72.6	3.78 m
	4	77.5	3.82 dd (<1, 9.0)	77.5	3.82 dd (<1, 9.0)
	5	76.1	3.58 m	76.1	3.58 m
	6	61.3	3.84 dd (3.0, 6.0)	61.3	3.84 dd (3.0, 6.0)
\rightarrow 4)- β -Glc p -(1 \rightarrow)	1	103.2	4.94 d (8.0)	103.2	4.94 d (8.0)
	2	74.3	3.39 m	74.2	3.39 m
	3	75.2	3.74 m	75.2	3.74 m
	4	79.9	3.68 m	79.9	3.68 m
	5	75.3	3.56 m	75.3	3.56 m
	6	61.4	3.75 m	61.4	3.75 m
\rightarrow 4)-Gal p -(3 \leftarrow)	1	93.3	5.31 d (3.6)	97.3	4.67 d (8.0)
	2	68.8	4.12 m	72.2	3.77 m
	3	79.8	4.09 dd (<1,3.0)	82.9	3.90 m
	4	77.5	4.47 br.d (3.0)	76.6	4.41 d (2.8)
	5	70.9	4.16 br.t (7.0)	75.2	3.74 m
	6	61.9	3.69 m	61.8	3.78 m
\leftarrow 1)- β -Gal p	1	105.7	4.63 d	105.6	4.62 d
	2	72.2	3.63 m	72.3	3.63 m
	3	73.6	3.68 m	73.6	3.68 m
	4	69.6	3.95 m	69.6	3.95 m
	5	76.0	3.69 m	76.1	3.69 m
	6	62.1	3.78 m	62.1	3.78 m

謝辞 IM944 菌株の同定には、東京農業大学 応用生物科学部醸造科学科 山里一英博士の、吸水性多糖の示差走査熱量測定には、いわき明星大学理工学部環境理学科 前田好美博士の、さらにオリゴ糖の NMR 解析には、微生物化学研究会 長縄博士、およびバイオサイエンスアソシエイツ 近藤信一博士のご協力を戴きました。ここに深く感謝します。

REFERENCES

- 1) Ogawa K., Yamasato K., Maeda Y., *J. Appl. Glycosci.*, **53**, 17–19 (2006).
- 2) Ogawa K., Ikeda Y., Umemura K., *J. Appl. Glycosci.*, **54**, 203–209 (2007).