

新規エンド型フコイダンリアーゼによる酵素分解法および酸加水分解法を用いたフコイダンの構造解明

ガゴメ昆布(*Kjellmaniella crassifolia Miyabe*)から fucoidan を調製する方法を確立し、cellulose acetate 膜電気泳動的にほぼ均一な fucoidan を得た。次に海洋から fucoidan 資化性菌を単離同定し、*Favobacterium sp* SA-0082 株を得た。本菌株が培地中に分泌する酵素を fucoidan に作用させると生成物として（以下 sulfate を S と略記）L-Fuc(3-O-S) α 1-3(Δ _{4,5}GlcA β 1-2)D-Man, L-Fuc(2,4-O-diS) α 1-3(Δ _{4,5}GlcA β 1-2)D-Man(6-O-S)、および L-Fuc(3-O-S) α 1-3(Δ _{4,5}GlcA β 1-2)D-Man α 1-4_D-GlcA β 1-2L-Fuc(3-O-S) α 1-3)D-Man 等が確認された。一方 fucoidan を 0.3N のシュウ酸により加水分解すると(-4D-GlcA β 1-2D-Man α 1-)が約 40 単位結合した構造物が残った。以上の結果より fucoidan には -4D-GlcA β 1-2(L-Fuc(3-O-S) α 1-3)D-Man α 1-あるいは-4D-GlcA β 1-2(L-Fuc(2,4-O-diS) α 1-3)D-Man(6-O-S) α 1-等が併せて約 40 単位結合した構造があること、および本酵素はこの繰り返し構造中に多数存在する -Man α 1-4GlcA-結合を脱離的に切断する新規な endo-fucoidan-lyase であることが判明した。

シグマ社製 (Fucus 属由来) Fucoidan の構造を解析するため fucoidan の酢酸酸性化加水分解物の還元性末端を 2-aminopyridine で蛍光標識(PA 化)し、各 PA 化 fucoidan オリゴ糖を単離した。各々の構造を MS および NMR により解析し、Fuc、Fuc(2-O-S)、Fuc(3-O-S)、Fuc(4-O-S)、Fuc(5-O-S)、Fuc α 1-2Fuc、Xyl β 1-3Fuc、Fuc(2-O-S) α 1-2Fuc、Fuc(2-O-S) α 1-4Fuc(3-O-S)、Fuc(3-O-S) α 1-4Fuc(2-O-S)、Fuc(5-O-S) α 1-4Fuc(3-O-S)、Fuc(2,3-diS) α 1-3Fuc、Fuc α 1-4(Fuc α 1-2)Fuc(3-O-S)等の構造を解明した。上記の結果より硫酸基は fucose の 2,3,4,5 のどの位置にも結合するが fucose は 2,3,4 位への結合が多いことが分かる。すなわち、fucofuranose は非還元性末端にある可能性が高いことおよび fucose の結合は非常に多様性に富むことが判明した。