

異なるフコイダン画分を分解する2種類のフコイダン分解酵素の構造と基質特異性

【目的】昆布由来のフコイダンは少なくとも2種類の分子種を持つ(Abs. XVIIth Jap. Carbohydr. Symp., T.Sakai *et al.*, p159, 1996)。ウロン酸を含むU-フコイダンを特異的に分解するフコイダンリアーゼ(FDL)とF-フコイダンを特異的に分解するフコイダナーゼ(FDA)の遺伝子をそれぞれクローニングし、大量生産を試みた。

【方法・結果】FDL生産菌(*Flavobacterium sp.*)およびFDA生産菌(*Alteromonas sp.*)より各酵素を精製後、アミノ酸配列分析を行い合成DNAを作製し、PCRカセット法、サザンブロット法等を用いてクローニングを行った。FDL生産菌ゲノムから2646bpと2445bpのORFを持つ2種類のFDL遺伝子が単離され、これらの遺伝子は約500bpのスペースを介して同方向に並んでいた。一方、FDA生産菌からも2094bpと2115bpのORFをもつ2種類のFDA遺伝子が単離された。各アイソザイムの推定アミノ酸配列間の相同性はそれぞれ70%、56%と高かったが、核酸あるいは蛋白質の配列データベース上の既知配列で高い相同性を示すものは見られず、これらは新規な遺伝子であった。大腸菌により発現された各酵素はそれぞれのフコイダンを分解した。FDLではグルクロン酸、マンノース、フコースからなる3糖(1~3分子の硫酸基を含む)を1単位として1単位で切るものと2単位で切るものが、FDAではフコースのみからなる7糖(12分子の硫酸基を含む)を1単位として1単位で切るものと3単位(以上)で切る酵素がそれぞれ得られた。これらの酵素の利用により、2種のフコイダンの構造がより詳しく解析可能となった。