

半合成多糖セロウロン酸の海洋生分解性を初めて証明

～ホタテガイから分解酵素を発見～

ポイント

- ・セルロースの TEMPO 酸化によって得られるセロウロン酸を分解する酵素をホタテガイから発見。
- ・陸上とは異なり、海洋では軟体動物がセロウロン酸分解を担う一員であることを示唆。
- ・セロウロン酸の海洋生分解性を初めて証明。

概要

北海道大学大学院水産科学研究院の井上 晶准教授と尾島孝男教授の研究グループは、同大学院水産科学院修士課程の工藤真隆氏、ミュンヘン工科大学のエリザ ヴェルナー氏とともに、再生セルロース^{*1}など低結晶性セルロースの TEMPO 酸化^{*2}によって人工的に合成されるセロウロン酸を分解する酵素をホタテガイから発見、単離しました。詳細な機能解析の結果、この酵素はセロウロン酸を最も良く分解することを明らかにしました。

陸上では、セロウロン酸を分解する細菌と真菌が数種類知られていましたが、地球の約 70% を占める海洋ではセロウロン酸を分解する能力をもつ生物についての知見は全くありませんでした。本成果により、セロウロン酸の海洋における生分解性を初めて証明するとともに、軟体動物二枚貝のホタテガイがその分解を担う一員であることを明らかにしました。今後、海洋生物によるセロウロン酸分解物の代謝機構の解明とその科学的知見に基づく海洋環境保全や水産生物の増養殖などに関わる新技術の開発が期待されます。

なお、本研究成果は、2020年11月2日（月）公開の *Carbohydrate Polymers* 誌にオンライン掲載されました。



本研究のイメージ図

【背景】

セルロースの TEMPO 触媒酸化は、産業的に重要なセルロースナノファイバーを製造するためのコア技術のひとつとして利用されています。この方法で再生セルロースなどの結晶化度が低いセルロースを処理すると、全てのグルコースの 6 位のヒドロキシメチル基がカルボキシ基へと変換された半合成多糖のセロウロン酸 (β -1,4-ポリグルクロン酸) が得られます (図 1)。セロウロン酸は、水によく溶け、2 価金属イオンの存在下でゲルを形成するなどのセルロースとは異なるユニークな性状を示します。このため、セロウロン酸の効率的な生産法が開発されて以来、魅力的な新素材として有効利用が期待されると同時に、自然環境での生分解性が注目されてきました。現在までにセロウロン酸を分解できる生物としては、陸上で数種類の細菌と真菌が知られていますが、地球の約 70% を占める海洋ではそのような生物に関する報告は無く、セロウロン酸の海洋生分解性については不明なままでした。

【研究手法】

ホタテガイの中腸線 (通称ウロ) から、タンパク質を抽出し、セロウロン酸やアルギン酸^{*3} など 6 種の酸性多糖類に対する分解能を調べました。その結果、薄層クロマトグラフィーによりセロウロン酸の分解だけが確認 (図 2) されたため、その分解を担う酵素の精製を進め、性状を明らかにしました。さらに、本酵素の遺伝子をクローニングし、それを用いて組換え酵素を作出し、詳細な機能解析を進めました。

【研究成果】

セロウロン酸をエンド型切断様式^{*4} でグリコシド結合を脱離反応により分解し、主に不飽和 2~4 糖を生じる新規の分解酵素を単離、同定しました。

この酵素のアミノ酸配列は、海産軟体動物 (アワビ、サザエ、及びアメフラシなど) のアルギン酸分解酵素と比較的高い同一率 (37-44%) を示しました。そのため、精製した酵素を用いてアルギン酸分解実験を行いました。その分解活性はセロウロン酸の場合と比べて微弱であり、わずか 1.8% でした。

これらの結果は、ホタテガイがセロウロン酸の分解に優れた酵素をもつことを示唆しており、セロウロン酸分解能力をもつ動物の初めての発見です。さらに、これまでに不明であったセロウロン酸の海洋生分解性を証明する最初の事例となります。

【今後への期待】

海洋生物は陸上生物と比較してユニークな構造や性状を示す酵素をもつことが知られています。従来のセロウロン酸生分解性の研究では、陸上の微生物がその対象とされてきましたが、本研究により海洋環境では軟体動物のホタテガイがセロウロン酸を分解する能力をもつことが明らかになりました。今後の研究の進展に伴って、他の海洋動物でもセロウロン酸を分解するものが発見されると予測され、海洋生分解性についての研究が加速すると期待されます。

ホタテガイの中腸腺は、廃棄されることが多い組織ですが、糖質、脂質、及びタンパク質などの分解酵素を含むことが報告されています。今回、これまでに知られていなかったセロウロン酸分解酵素の存在が明らかになったことは、この非可食部位の有効利用の可能性を拡大するものです。

論文情報

論文名 Identification and characterization of cellouronate (β -1,4-linked polyglucuronic acid) lyase from the scallop *Mizuhopecten yessoensis* (ホタテガイ・セロウロン酸リアーゼの同定と性状解析)
著者名 井上 晶¹, 工藤真隆², Elisa Werner³, 尾島孝男¹ (¹北海道大学大学院水産科学研究院, ²北海道大学大学院水産科学院, ³ドイツ・ミュンヘン工科大学)
雑誌名 *Carbohydrate Polymers* (糖質科学の専門誌)
DOI 10.1016/j.carbpol.2020.117306
公表日 2020年11月2日(月)(オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院水産科学研究院 准教授 井上 晶 (いのうえあきら)

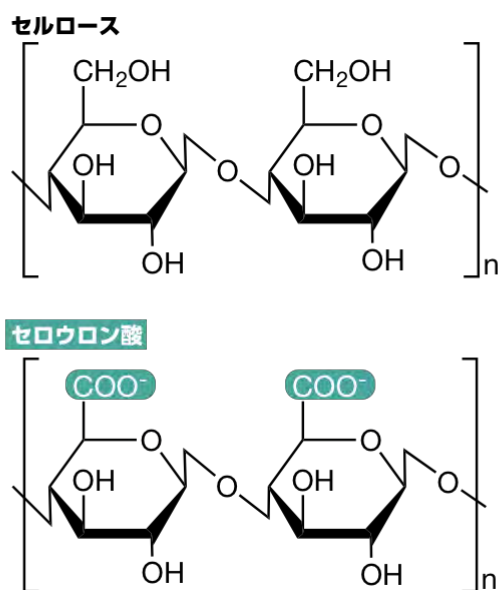
T E L 0138-40-8591 メール inouea21@fish.hokudai.ac.jp

配信元

北海道大学総務企画部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

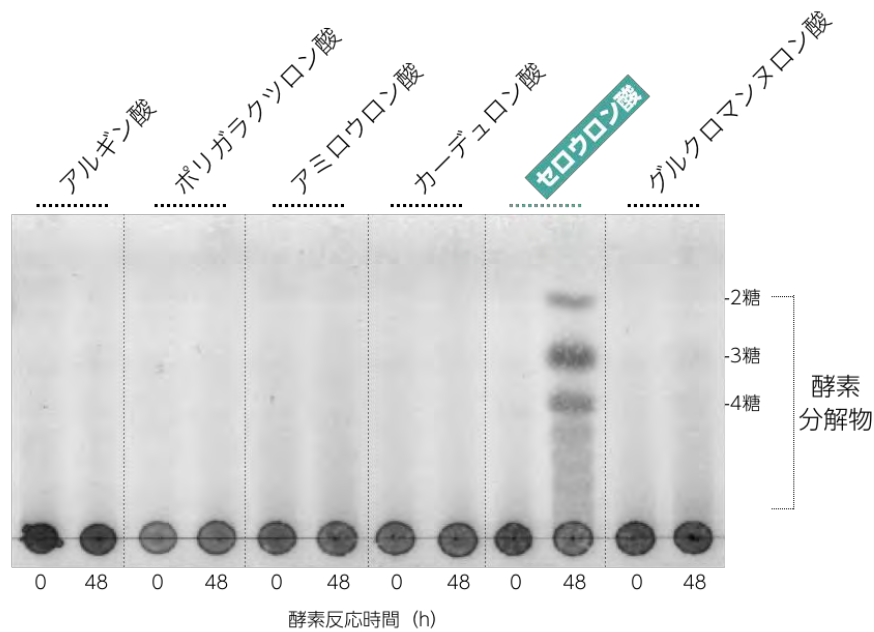
T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール kouhou@jimu.hokudai.ac.jp

【参考図】



セルロースのC6位の1級ヒドロキシ基が、セロウロン酸ではカルボキシ基へ酸化されている。

図1. セルロースとセロウロン酸の構造



ホタテガイ中腸線のタンパク質と各酸性多糖を混合し、その反応液を薄層クロマトグラフィーにより調べた。
 天然由来酸性多糖として、アルギン酸及びポリガラクトuron酸を使用した。
 半合成酸性多糖として、水溶性でんぷん、カドラン、セルロース、及びコンニャクマンナンをそれぞれTEMPO酸化することにより調製したアミノuron酸、カーデュロン酸、セロuron酸、及びグルクロマンuron酸を使用した。

図 2. ホタテガイから抽出したタンパク質による各種酸性多糖分解

【用語解説】

- * 1 再生セルロース … 植物由来の天然セルロースを化学処理により溶解し、再沈殿して得られるセルロースの総称。代表的な例としては、繊維のレーヨンやキュプラなどがある。
- * 2 TEMPO 酸化 … 有機フリーラジカルの 2,2,6,6-テトラメチルピペリジン-1-オキシラジカル (TEMPO) を触媒として用いる酸化反応のこと。セルロースを TEMPO 酸化した場合には、グルコースの C6 位のヒドロキシメチル基が選択的にカルボキシ基へと変換される。
- * 3 アルギン酸 … コンブやワカメなどの褐藻のネバネバ成分として知られている細胞壁を構成する酸性多糖類。褐藻を摂餌する動物や褐藻に付着する細菌は、アルギン酸分解酵素をもつ場合が多い。
- * 4 エンド型切断様式 … 直鎖状の構造をもつ多糖類の内部のグリコシド結合をランダムに切断すること。