

30P-am005

ヒアルロニダーゼ 4 : 新規コンドロイチン硫酸特異的エンド型加水分解酵素の同定
○金岩 知之¹, 水本 秀二¹, 菅原 一幸¹, 山田 修平¹(¹北大院生命)

【目的】コンドロイチン硫酸 (CS) の代謝分解を担う特異的なエンド型分解酵素は同定されておらず、構造のよく似たヒアルロン酸 (HA) を分解するヒアルロニダーゼ (HYAL) が代行していると考えられている。そこで、その探索を目的として、HYAL ファミリーの中で酵素活性の報告のない HYAL4 に着目し、CS に対する分解活性を解析した。

【方法】HYAL4 遺伝子を組み込んだベクターを構築し、タグ付のタンパク質として強制発現させた。タグを利用して精製した酵素を、多様な CS (CS-A、CS-B、CS-C、CS-D、CS-E) や HA に作用させ、その分解活性をゲル濾過や陰イオン交換 HPLC を用いて解析した。また、HYAL4 による CS-D の主要な分解産物をゲル濾過で分画し、それぞれに含まれる主成分の配列決定も行なった。

【結果・考察】HYAL4 は CS を分解したが、HA にはほとんど作用せず、その最適 pH は 5.0 であった。消化産物の還元末端、非還元末端の解析の結果、HYAL4 はエンド- β -N-アセチルガラクトサミニダーゼであり、高等生物で初めて同定された CS 特異的なエンド型の加水分解酵素であった。特に、高硫酸化 CS である CS-D をよりよい基質とした。CS-D の分解産物の詳細な解析結果から、HYAL4 は CS 構造中の特定の配列を認識して作用することが判明し、-GlcA(2-O-sulfate)-GalNAc(6-O-sulfate)-GlcA-GalNAc(4-O- or 6-O-sulfate)- (GlcA はグルクロン酸を GalNAc は N-アセチルガラクトサミンを表す) という配列中のガラクトサミニド結合を最もよく切断した。この新規の CS 特異的な加水分解酵素は、組織や細胞における CS 特異的な機能の解明に役立つと考えられる。また、バクテリア由来の CS 脱離分解酵素に替わり、脊髄損傷の治療に応用できる可能性もある。