

## 29R-am02

ヒアルロニダーゼはコンドロイチン 4-硫酸に対しヒアルロン酸と同程度の強い加水分解活性をもつ

○山田 修平<sup>1,2</sup>, 本田 智子<sup>2</sup>, 金岩 知之<sup>2</sup>, 水本 秀二<sup>2</sup>, 菅原 一幸<sup>2</sup>(<sup>1</sup>名城大薬,  
<sup>2</sup>北大院生命)

【目的】コンドロイチン硫酸 (CS) の生体内における代謝は、その構造類似体であるヒアルロン酸 (HA) と同様の経路を介すると考えられており、HA 分解酵素として知られているヒアルロニダーゼ (HYAL) によって低分子化されると予想されている。しかし、HYAL の CS に対する作用の解析は不十分である。今回、ヒト HYAL ファミリーの HYAL1 と PH-20 を用いて、CS や HA への作用の定量的な解析を行った。

【方法】HYAL1 および PH-20 の遺伝子を組み込んだタグ付きのベクターをそれぞれ構築し、組み換えタンパク質を調製した。この精製タンパク質を酵素源として、分子量の異なる 4 種類の HA と硫酸化パターンが異なる 3 種類の CS バリエーションに対して消化を行った。反応産物の還元末端を蛍光標識し、陰イオン交換クロマトグラフィーを用いて、消化物の定量的な解析を行った。また、速度論的解析によってそれぞれの基質に対する親和性を評価した。さらに、消化によって生じたオリゴ糖の構造解析を行い、両酵素が認識する硫酸化構造を解明した。

【結果・考察】HYAL1 は HA と CS-A (コンドロイチン 4-硫酸) に対して同程度の作用を示した。また、CS バリエーションどうしを比較すると、硫酸化されていないコンドロイチンよりも硫酸化構造をもつ CS をより早く分解した。一方 PH-20 は、HA、コンドロイチン、CS-A に対して同程度に作用したが、CS-C にはほとんど作用しなかった。また、両酵素は pH に依って最もよく認識する基質が変化した。今回、HYAL が CS-A に対し HA と同程度の強い加水分解活性をもつことを初めて示した。生体内における CS 代謝の主要な部分は、これまでの研究者達の予想どおり、HYAL が担っているようである。

【文献】Honda *et al.*, *Biomolecules*, **2**, 549-563, 2012.