

論文審査の結果の要旨

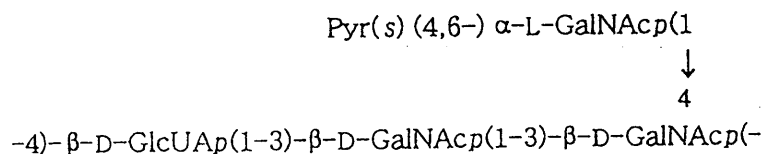
申請者氏名 松 田 政 広

瀬戸内海沿岸でワカメ (*Undaria pinnatifida*) 葉体表面より分離された海洋性細菌WAK-1菌株は3%ショ糖添加ZoBell寒天培地上で2種の多糖を生産することが認められた。本研究はWAK-1菌株の同定を行うと共に、生産される2種の多糖の構造決定と抗ウイルス活性について明らかにしたものである。

WAK-1菌株はグラム陰性、単極鞭毛による運動性を有し、幅0.5–0.7 μm、長さ1.3–1.9 μmの短桿菌でオキシダーゼ、カタラーゼおよびβ-ガラクトシダーゼテスト+、O/Fテスト酸化型、D-グルコースから酸を産生し、L-アルギニン分解および硝酸塩還元能を示した。これらの形態学的、生理・生化学的性状、DNAのGC比(59.7%)から、海洋性細菌*Pseudomonas* sp.と同定した。

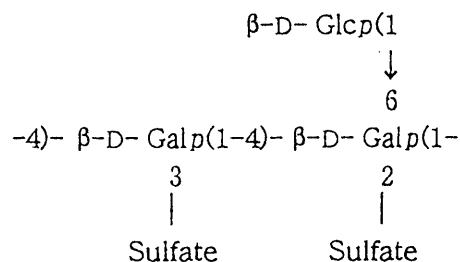
WAK-1菌株が培養中に生じた粘質物をEtOH、CTAB沈殿、DEAE-セルロースイオン交換クロマト分離によって多糖A-1およびB-1を分離・精製した。超遠心分析とセルロースアセテート膜電気泳動分析でそれぞれ均一性の高いことが認められ、平均分子量はそれぞれ 1.6×10^6 と 3.8×10^6 の値を示した。

多糖A-1は酸加水分解、カルボキシル基還元、ペーパークロマト、セルロースアセテート膜電気泳動、HPLC、イオンクロマト、GLC、¹H, ¹³C NMR分析などによりβ-GlcUA_p: β-GalNAc_p: α-GalNAc_p: Pyr = 1:2:1:1からなるムコ多糖で、部分酸加水分解によって得られた精製オリゴ糖はβ-D-GlcUA_p(1-3)-D-GalN_pのアルドバイオウロン酸の構造をもつことを明らかにした。カルボキシル基還元多糖を脱アセトール処理、過ヨウ素酸酸化-スミス分解、箱守、およびPurdie法によるメチル化、GLC-MS、¹H, ¹³C NMR分析などを行った結果より、構造を以下のごとく明らかにした。



多糖B-1は酸加水分解など多糖A-1と同様の手法によりβ-D-Glcp: β-D-Galp: 硫酸基 = 1:2:2からなる硫酸多糖と推定され、多糖B-1とこれの脱硫酸多糖をそれぞれ過ヨウ素酸々化-スミス分解、箱守、およびPurdie法によるメチル化、GIC-MS、¹H, ¹³C NMR分析などを行った。これらの結果より多

糖B-1は下記に示す構造であることを明らかにした。



多糖A-1には抗ウイルス活性は認められなかったが、化学修飾により硫酸基を付与したA1-Sには新たに抗インフルエンザウイルスA型（FluV-A）活性、抗単純ヘルペスウイルス1型（HSV-1）活性が発現した。一方、多糖B-1には抗HSV-1活性が認められ、化学修飾より硫酸基含有量を増加させたB1-Sには新たに抗FluV-Aと抗呼吸器系ウイルスA型（RSV-A）活性が発現した。多糖A-1には各種動物培養細胞に対する毒性は認められなかったが、多糖B-1にはヒトT-リンパ系の白血病細胞MT-4細胞に対して細胞毒性が認められ、また黒色腫HMV-2と子宮頸ガンG-HeLa細胞に対しても弱い細胞毒性が認められた。脱硫酸された多糖B-1には抗ウイルス活性および細胞毒性は認められなくなった。

以上、本研究は海洋性細菌 *Pseudomonas* sp. WAK-1 菌株の生産する2種の多糖の構造を決定すると同時に、その抗ウイルス活性については硫酸基含有率および糖鎖構造が深く関わっていることを明らかにしたものであり、学術上また応用上寄与するところが少なくない。よって審査員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。