魚体表面の粘性物質に関する研究—VIII.

各種魚類の粘性物質に含まれる多糖類の糖組成
その 2 塩基性糖および酸性糖区分の糖組成

榎本則行・長竹浩子・富安行雄

(1963 年 3 月 15 日受理)

STUDIES ON THE EXTERNAL MUCOUS SUBSTANCE OF FISHES—VIII.
QUANTITATIVE ANALYSIS OF THE MUCUS-POLYSACCHARIDE
FROM SOME FISHES
2. BASIC AND ACIDIC SUGAR COMPOSITION

Noriyuki ENOMOTO, Hiroko NAGATAKE and Yukio TOMIYASU*

In the previous report¹⁾ the neutral sugars of mucus-polysaccharides from fishes were investigated. In the present work the basic and acidic sugar-fractions from 6 species of fishes were analyzed quantitatively. The components of basic sugars were found to be galactosamine and glucosamine (Fig. 1). The content of galactosamine was nearly equal to or higher than glucosamine except ray, *Raja hollandi*, in which glucosamine was higher in amount than galactosamine. In eel galactosamine was present 10 fold the quantity as much glucosamine (Table 1).

Acidic sugar was found to be a minute quantity in all the species tested as compared with neutral and basic sugar. Judging from the absorption curve of the reaction product of the acidic fraction with DISCHE's reagent (Fig. 2) and the previous results¹⁾, it was reasonably concluded that the principal component of the acidic fraction was glucuronic acid.

前報¹⁾にひきつづき本報では塩基性糖および酸性糖区分の定量結果について報告する。

実験および考察

I. 試料

前報¹⁾に報告した6種の魚(ドジョウ, ウナギ, アオミシマオコゼ, サバフグ, イサゴガンギエイ, アカエイ)から調製した試料と同一物である。前報においては加水分解した試料を Dowex 50 (H⁺ 型), Amberlite IRA-400 (CO₃²⁻ 型)に通し, いずれにも吸着されないものを中性糖区分とした。本報ではこの処理により, Dowex 50, Amberlite IRA-400 に吸着したものを溶出してそれぞれ塩基性糖, 酸性糖試料とした。

塩基性糖は Dowex 50 から 2N HCl で溶出し減圧濃縮をくり返してできるだけ HCl を除き syrup 状にした。酸性糖は 0.2N H₂SO₄ で溶出し Ba(OH)₂ で中和, 遠心分離して上澄液をとった。沈澱は温水中で2回洗滌, 前記上澄液と合わせ Amberlite IR-120 (H⁺ 型)に通して過剰の Ba を除き, これを減圧濃縮した。両試料は減圧デシケーター中で十分に乾涸した。

II. 塩基性糖の分別定量

イオン交換樹脂クロマトグラフィーによった。本法については GARDELL²⁾, RONDLE 等³⁾あるいは DORFMAN⁴⁾の報告があるが, ここでは RONDLE 等の方法³⁾に準拠して行なつた。

* 九州大学農学部水産化学教室 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Kyushu Univ., Fukuoka, Japan).

Fig. 1. Separation of basic sugars by the column chromatographic method using Dowex 50 resin (exemplified by loach and ray, *Raja hollandi*).

魚種によつて大きな差異が見られた。これらの値の間で強いて共通関係を求めると、海産硬骨魚が 1:1 であることを指摘できるが、淡水産硬骨魚のドジョウ、ウナギの比、海産軟骨魚同志の比などと考え合わせる

200~400 mesh の Dowex 50×8 (H⁺型) を 0.8×43 cm のカラムに詰め、0.33N HCl でよく洗つておく。上記乾潤試料を適量の 0.33N HCl に溶かし、その 1 cc をカラムにかけ 0.33N HCl で溶出した (流速 2 cc/hr.)。原報では 1 cc ずつ分別するようになっているが、著者等は 2 cc ずつ分別してその 1 cc を比色定量に用い、残液は分画の同定に供した。

比色定量は SVENNERHOLM の方法⁵⁾ を用い 530 mμ における吸光度を測定した。溶出曲線の一例を Fig. 1 に示した。

溶出物質の同定は RUELIUS 等の方法⁶⁾ によつた。比色定量の際の同一分画を集めて減圧濃縮し pyridine で pH を 5.0 に調整、ninhydrin で酸化して paper chromatography にかけた。arabinose, lyxose に相当する spot を認め、それぞれ glucosamine, galactosamine と同定した。なお溶出液の 40~60 cc 辺りに微量ではあるが上記 SVENNERHOLM 法で呈色する不明の物質がドジョウ、ウナギ、アオミシマオコゼ、アカエイにおいて見られた (Fig. 1)。

供試魚の定量結果を後記の酸性区の結果と共に Table 1 に示した。

glucosamine : galactosamine の比を見ると 1:1 (サバフグ、アオミシマオコゼ), 1:2.5 (ドジョウ、アカエイ), 1.5:1 (イサゴガンギエイ), 1:10 (ウナギ) と

Table 1. Basic and acidic sugar composition (per cent) of mucus-polysaccharide from fishes.

Species Sugars	Loach ドジョウ	Eel ウナギ	Star-gazer アオミシマ オコゼ	Puffer サバフグ	Ray* イサゴ ガンギエイ	Ray** アカエイ
Glucosamine	4.59	0.65	4.37	13.50	14.31	2.68
Galactosamine	11.59	6.50	4.15	13.10	9.61	6.76
Hexuronic acid as glucuronic acid	0.35	0.16	0.17	0.33	0.21	0.13

The figures are corrected for ash and moisture. loach (*Misgurnus anguillicaudatus*), eel (*Anguilla japonica*), star-gazer (*Gnathagnus elongatus*), puffer (*Lagocephalus lunaris*)

* ray (*Raja hollandi*), ** ray (*Dasyatis akajei*).

とむしろ偶然の一致と考えた方が妥当であろう。ウナギの galactosamine 含量は glucosamine 含量にくらべて非常に多いことが注目される。

III. 酸性糖の定量

乾涸した試料を適量の水に溶解し naphthoresorcinol 法⁷⁾ および *o*-aminodiphenyl 法⁸⁾ の両法によつて glucuronic acid として別個に比色定量した。定量値は前法の方がやや高い値を与えたが、その差は大きなものではなかつた。Table 1 に示した値は上記 2 法の平均値である。

既報⁹⁾ のように酸性糖区分は mannose と共に濃硫酸に溶かし、thioglycolic acid を加えるとピンク色を示した¹⁰⁾ ことから glucuronic acid であろうと推定した。試料の量が少ないため KHYM 等¹¹⁾ のイオン交換樹脂による分離法が応用できないこと、および paper chromatography によつては spot が認められない⁹⁾ ことなどのため、この推定を確かめることが困難である。今回は DISCHE¹²⁾ が報告している galacturonic acid の特異反応を試み、その吸収曲線を求めたところ Fig. 2 のようであつた。

galacturonic acid は 600 m μ に吸収極大をもっているが、本酸性糖

区分は純品の glucuronic acid と同様に特異な吸収極大を示さず、且つこの両者の吸収曲線の形はかなりよく似ていた。この結果から本酸性糖区分には galacturonic acid が存在しないことは明らかである。mannuronic acid でないとの確証はないが、既報の glucuronic acid に特異的なピンクの呈色反応¹⁰⁾ (galacturonic acid および mannuronic acid は不明瞭な褐色を示す) および Fig. 2 から推定して、本酸性糖区分は大部分が glucuronic acid であると考えてよからう。

Table 1 からわかるように酸性糖含量は非常に少なく、既往の諸文献¹³⁾¹⁴⁾ でその存在を認めていないのも当然であろう。

前報¹⁾ の中性糖の定量結果と本報の塩基性糖、酸性糖の定量結果とを総括して考えてみても、棲息環境、分類上の位置などとの間に相関々係はないようである。棲息環境の差異が構成々分の差異として認められたり、構成々分を分類上の基準に用い得ることができたりすればはなはだ興味あることと考えたが、このようなことは本質的には物質形成の遺伝子の問題も入ってくるであろうから非常にむずかしいことであり、そのような関係を期待する方が無理であるのかもしれない。また仮りに成立したとしても、質的關係は重視できても量的關係は重視できないといえるのかもしれない。今までの結果から供試魚の全魚種を通じて、構成アミノ酸や構成糖の種類には差異が見られず、単に量的關係においてのみ差異が見られたということは、やはり魚種本来のものであつて、供試々料を魚類という一つの大きなグループとして考えた場合むしろ当然であるのかもしれない。

Fig. 2. Absorption spectra of the reaction products of the acidic fractions (loach and ray, *Dasyatis akajei*) and of authentic uronic acids with DISCHE's reagent.

摘 要

前報¹⁾ にひきつづき塩基性糖および酸性糖区分の定量を行なつた。塩基性糖では、イサゴガンギエイを除く他の 5 種の魚は galactosamine と glucosamine の含量比はほぼ等しいかあるいは前者の方が高かつた

が、イサゴガンギエイは後者の方が前者よりも高かった。ウナギの galactosamine は glucosamine の 10 倍の値を示し特異的であつた。酸性糖はその含量が中性糖、塩基性糖にくらべると非常に少ない。また galacturonic acid に対する特異反応の吸収曲線 (Fig. 2) および既報⁹⁾の結果から、酸性糖は glucuronic acid が大部分を占めると考えた。

本研究は文部省科学研究費に拠つた。

文 献

- 1) 榎本則行・富安行雄: 本誌, **28**, 510 (1962).
- 2) GARDELL, S.: *Acta Chem. Scand.*, **7**, 207 (1953).
- 3) RONDLE, C. J. M. and MORGAN, W. T. J.: *Biochem. J.*, **59**, 13 (1955).
- 4) DORFMAN, A., ROSEMAN, S., MOSES, F. E., LUDOWIEG, J. and MAYEDA, M.: *J. Biol. Chem.*, **212**, 583 (1955).
- 5) SVENNERHOLM, L.: *Acta Soc. Med. Upsaliensis*, **61**, 287 (1956).
- 6) RUELIUS, H. W. and GIRARD, M. M.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **50**, 512 (1954).
- 7) RATISH, H. D. and BULLOWA, J. G. M.: *Arch. Biochem.*, **2**, 381 (1943).
- 8) TIMELL, T. E., GLAUDEMANS, C. P. J. and CURRIE, A. I.: *Anal. Chem.*, **28**, 1916 (1956).
- 9) 榎本則行・富安行雄: 本誌, **27**, 613 (1961).
- 10) DISCHE, Z.: *J. Biol. Chem.*, **171**, 725 (1947).
- 11) KHYM, J. X. and DOHERTY, D. G.: *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 3199 (1952).
- 12) DISCHE, Z.: *Arch. Biochem.*, **16**, 409 (1948).
- 13) WESSLER, E. and WERNER, I.: *Acta Chem. Scand.*, **11**, 1240 (1957).
- 14) TURUMI, K. and SAITO, Y.: *Tohoku J. Exp. Med.*, **58**, 247 (1953).