

生物機能応用科学専攻

氏名	徐 孝珍
学位記番号	生博 甲第 140 号
学位記授与の日付け	平成 15 年 3 月 25 日
学位論文題目	Studies on a Lytic Enzyme Having <i>N</i> -Acetylmuramidase and <i>N</i> ,6- <i>O</i> -Diacetylmuramidase Activities from <i>Streptomyces globisporus</i> (<i>N</i> -Acetylmuramidase と <i>N</i> ,6- <i>O</i> -Diacetylmuramidase の活性を有する <i>Streptomyces globisporus</i> 由来の溶菌酵素に関する研究)
論文審査委員	主査 教授・大宮 邦雄 教授・荒木 利芳 教授・田口 寛 助教授・栗冠 和郎 助教授・木村 哲哉
	独立行政法人食品研究所 科 長・林 清

要 旨

N-アセチルムラミダーゼ (EC 3.2.1.17) は *N*-アセチルムラミン酸と *N*-アセチルグルコサミンの間の b-1,4 結合を加水分解する酵素である。T4 ファージ由来の溶菌酵素や、卵白リゾチム等もこの *N*-アセチルムラミダーゼに属する。卵白リゾチムについては盛んに研究されているが、放線菌 *Streptomyces globisporus* 由来の溶菌酵素の特性についてはあまり知られてないことからその特性を調べた。

放線菌 *Streptomyces globisporus* からクローニングされた、*N*-アセチルムラミダーゼをコードする遺伝子在大腸菌で発現させて、この酵素をイオン交換クロマトグラフィー、SP Sepharose あるいは Mono S などで精製しその酵素特性を解明した。精製酵素の分子量は 23 kDa、最適 pH は 5.3 で、最適温度は 55°C であった。*N*-Bromosuccinimide で不活性化し、Ca, Mg, Zn イオンで活性化した。本酵素はグラム陽性菌の *Enterococcus faecalis* や *Lactobacillus brevis* などを溶菌したが、グラム陰性菌も若干溶菌した。また、本酵素は 6 位の水酸基がアセチル化されたペプチドグリ

カンを持つ *Staphylococcus aureus* の細胞壁も分解したことから、*S. globisporus* からクローニングされた *N*-アセチルムラミダーゼは *N*,6-*O*-ジアセチルムラミダーゼ活性も有することが推定された。

この *N*,6-*O*-ジアセチルムラミダーゼ活性と本酵素の基質特異性を調べるために、*S. aureus* および卵白リゾチムの基質である *Micrococcus lysodeikticus* の細胞壁の分解性を検討した。その結果、リゾチムは 6 位水酸基がアセチル化されたペプチドグリカンを持つ *S. aureus* の細胞壁を分解しなかったのに対して、本精製酵素は *M. lysodeikticus* の細胞壁および *S. aureus* の細胞壁の両者を分解することを確認した。したがって、本酵素は *N*-アセチルムラミダーゼ活性のほかに *N*,6-*O*-ジアセチルムラミダーゼ活性も有することが明らかとなった。そして、その分解産物を分析した結果、代表的な *N*-アセチルムラミダーゼである卵白リゾチムとは異なった基質特異性を持つことが明らかとなった。すなわち、本酵素はムラミン酸にペプチドが結合している部位を加水分解する特性を有することを明らかにした。