

345

乳酸菌の溶菌に対するニワトリリゾチームとM-1酵素の相乗効果 ○小林 修、畠中芳郎、東原昌孝、檜山圭一郎（大阪市工研）

【目的】乳酸菌はニワトリリゾチームや*Streptomyces globisporus* 1829 株の生産する溶菌酵素、M-1 酵素の単独使用では耐性を示す菌株も少なくなく、プロトプラストの調製が難しい。演者らは、リゾチームとM-1 酵素が同じN-アセチルムラミダーゼでありながら、同時に作用させると相乗効果を示し、単独では十分に作用しない菌株についても良好に作用することを見出した。この相乗作用について若干の検討を行った。

【方法及び結果】乳酸菌は、主として *Streptococcus bovis* IFO 12058 を用い、一晚培養した洗浄菌体を 20 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.2) に懸濁し、それにリゾチームとM-1 酵素を同時に加えるか、またはどちらか一方を加えて、37℃で一定時間インキュベートしたのち、他の酵素を加えた。酵素作用による溶菌は 660 nm の吸光度を 5 分間隔で記録することにより追跡した。リゾチームを作用させた後、M-1 酵素を加えた場合、直後の濁度低下は両酵素を同時に加えたときよりさらに速くなり、その程度はリゾチームの作用時間が長いほど著しかった。ところがM-1 酵素を先に作用させ、後にリゾチームを加えた場合は逆に両酵素を同時に加えた場合より遅くなり、M-1 酵素の作用時間が長いほど遅くなった。この現象は *S. bovis* IFO 12058 以外の菌株でもみられた。

Synergistic effects of hen egg white lysozyme and M-1 enzyme on lysis of lactic acid bacteria

○Osamu Kobayashi, Yoshiro Hatanaka, Masataka Higashihara, Keiichiro Hiyama (Osaka Mun. Tech. Res. Inst.)

【Key words】synergistic effect, lysozyme, M-1 enzyme

キュウリキチナーゼの構造解析

346

(日大・農化) ○鳥居英夫、鈴木孝枝、堀迫秀紀、萩原 淳、
加藤 順、大石邦夫、

目的) 植物キチナーゼは、植物体内に基質となるキチンの存在を認めた報告がないため、その生理的役割は、キチン質を持つ植物病原微生物や害虫に対する生体防御機構が有力視されている。

我々は、キュウリの精製キチナーゼ及び粗抽出液はともに *F. oxysporum* の細胞壁を分解せず、またその生長も阻害しないことを観察したことから、キュウリキチナーゼの生体防御機構への関与を疑問視している¹⁾。また、キュウリ体内には、キチナーゼとは別にキチン結合レクチンが存在するが、このレクチンの血球凝集活性を阻害する物質の存在が明らかにされている。しかし、キュウリキチナーゼを作用させることで、この物質によるレクチン阻害活性が失われることから、この物質は、キチナーゼの基質ではないかと示唆された²⁾。このような事がキュウリ以外の植物にも存在するのかを調べる目的でキチン分解活性ではなく、マウス抗キュウリキチナーゼ抗体を用いた免疫学的な手法で、キュウリキチナーゼと類似なタンパクを、各種植物中から探索した事はすでに報告したが³⁾、本報告では、タンパクの一次構造レベルでの比較・検討を行った事について述べる。

方法・結果) 精製したキチナーゼについて SDS-PAGE を行い、PVDF 膜にエレクトロブロッティング後、タンパクバンドを S-ピリジルエチル化し、プロテインシークエンサーで N 末端アミノ酸配列を分析し、18 残基を決定した。その結果、Hevelin の N 末端 Cys-rich domain と 8, 10 残基目以外はすべて一致していた。また、他の報告のあるキチナーゼと比較した結果、キュウリキチナーゼは class I キチナーゼに属するものと思われる。また、すでに報告されているキュウリの誘導キチナーゼ⁴⁾とは高い相同性がみられなかった。

キュウリキチナーゼ N 末端 : EQCGROANGALCPNNLCC

1) Nakajima, K., et al. : Advances in Chitin and Chitosan, eds. by Brine, G. T., et al., Elsevier Appl. Sci., London and New York, p. 419 (1992).

2) Kato, J., et al. : Proc. Chitin Enzymology, May 1993.

3) 鳥居ら : 平成 5 年度キチン・キトサン・シンポジウム講演要旨集 p. 39

4) Metraux, J. P., et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86, p. 896 (1989).

Structure of Cucumber Chitinase

○Torii, H., Suzuki, T., Horisako, H., Ogiwara, J., Kato, J., and Oishi, K.,

(Dept. Agr. Chem., Nihon Univ.)