Osaka University Knowledge Archive

Title	Lysozymeの基質特異性について
Author(s)	山本, 和彦
Citation	大阪大学, 1967, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29083
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【19】

氏名・(本籍)	山本和彦（やまもとかずひこ）
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 1134 号
学位授与の日付	昭和42年3月28日
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**Lysozyme の基質特異性について**
論文審査委員	(主査) 教授 松島 祥夫 (副査) 教授 奥貫 一男 教授 本城市次郎 教授 成田 耕造

論文内容の要旨

Lysozyme の基質特異性を調べるため，合成低分子基質を合成し，又キチンを部分化学修飾し，これ等に対する Lysozyme の作用機作を研究した。

細菌細胞壁ムコ多糖体は Lysozyme により muramic acid グリコシドを選択的に加水分解される事実から，muramic acid グリコシドに特異的に作用するものと考え，phenyl N-acetyl α 及び β-muramide [phenyl 2-acetamido 3-O-(D-1′-carboxyethyl) 2-deoxy α 及び β-D-glucopyranoside] 及びこの methylester [phenyl 2-acetamido 3-O-(D-1′-methylcarboxylate ethyl) 2-deoxy α 及び β-D-glucopyranoside] を合成し，Lysozyme の作用を調べたが全く加水分解されなかった。

Salton 等の報告によると，細菌細胞壁ムコ多糖体の Lysozyme による分解生成物中，最小単位は二糖 N-acetyl D-glucosaminyl β (1→6) N-acetyl muramic acid であるから，二糖 β-phenyl glycoside [phenyl 2-acetamido 3-O-(D-1′-carboxyethyl) 6-O-(2-acetamido 2-deoxy β-D-glucopyranosyl) 2-deoxy β-D-glucopyranoside] を合成した。この際 glucopyranose の6位水酸基は4位と比較して，反応性が高いことから，phenyl N-acetyl β-D-muramide methylester の4位水酸基を保護せず，Acetobromoglucsamine と縮合せしめ，合成経路を短縮した。この場合，(1→6) 結合をメチル化法と水酸基プロトンの核磁気共鳴吸収スペクトラムによって確証した。この二糖の β-phenyl glycoside も Lysozyme の作用を受けなかった。従って二糖間の結合が β (1→6) 結合でなく，キチンオリゴ糖の知見から推定されるように，β (1→4) 結合の方が妥当であると考えて，β (1→4) 異性体の合成を試みたが薄層クロマトグラム上で一応確認出来たのみで，非常に収率が悪く，副生成物より単離するには至らなかった。

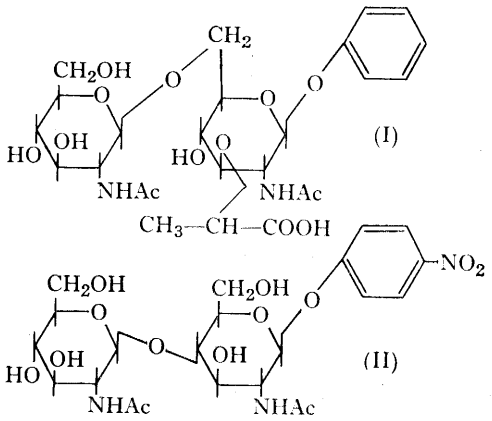
キチンオリゴ糖の場合は N-acetyl D-glucosamine グリコシドで Lysozyme の加水分解が起るが，これに反し，細菌細胞壁ムコ多糖体では，N-acetyl D-glucosamine ではなく，かならず N-acetyl muramic

acid グリコシドが加水分解を受けるむじゆんを解明するため，キチンの水酸基を部分的にメチル化した標品を基質として，Lysozyme の作用機作を追究した。Lysozyme による分解生成物の組成の分析は全て標準物質を合成し，同定した。部分メチル化キチンの Lysozyme による分解生成物の還元末端としては，N-acetyl D-glucosamine, これの mono-O-methyl 置換体のほかに 3,6,-di-O-methyl 置換体が存在することが認められた。次に二糖分画では，還元末端には 3,6, di-O-methyl 置換体も存在するが非還元末端には，3,6, di-O-methyl, 6-O-methyl 置換体は全く認められず，Glucosamine のみが認められた。しかし 3-O-methyl 置換体は Glucosamine とのクロマトグラフィーによる分離が悪いため，その存在に関しては正確な結果は得られなかった。

以上の実験結果から，Lysozyme は muramic acid グリコシドに特異的に作用するものでなく，二糖単位で特異性が示され，単糖間のグリコシド結合は β (1→4) 結合を必要とし，特に興味深いことは，二糖単位の還元末端となる部位の水酸基は重要でなく，これに続く単糖の少なくとも 6 位水酸基は酵素反応に重要な役割をはたしていることが明らかになった。

論文の審査結果の要旨

卵白リゾチームは或る種の細菌を溶解する作用があるが，この現象の本質は，細菌細胞壁中のムコペプチド多糖鎖の加水分解であることが知られている。しかし，この多糖の化学構造は，まだ十分に解明されているとはいえず，リゾチームの基質特異性は充分明らかではない。本研究は，化学構造の完全に明らかな低分子合成基質を用いて，リゾチームの基質特異性の一端を明らかにすると共に，細胞壁多糖の化学構造の解明に資することを目的とし，またキチンのO-メチル誘導体を合成し，この物質に対するリゾチームの作用を検討して，その作用機作の一端を明らかにすることを試みたものである。



まず化合物（I）を合成したところ，これに対しては，ほとんどリゾチームの作用が認められなかった。一方，（II）に対しては，リゾチームの作用が認められているので，細胞壁多糖中の N-アセ

チルグルコサミンからN-アセチルムラミン酸への結合は，当初となえられていた1→6ではなく，1→4結合である可能性を強く示唆する。

また，部分メチル化キチンが可溶性であり，かつリゾチームの良好な基質となることは，本研究によりはじめて示されたものであるが，酸素反応生成物の分析により，酵素による多糖の切断点に位置する単糖部には，遊離水酸基を全くもたないものが存在し得ること，およびこの単糖部に隣接する単糖部には，その6—位の水酸基にメチル置換を受けたものが存在しないことが判明した。

一般に，酵素反応が起るためには，酵素—基質複合体の生成が必要であり，複合体の生成は酵素—基質間の種々の相互作用によると考えられるが，リゾチームの基質では，その化学構造上，水酸基による酵素との水素結合の形成が大きな役割を演じると思われる。上述の実験結果から，切断点にある単糖部は，複合体形成にあまり関与せず，むしろこれに続く単糖部が水素結合形成に寄与すると考えられる。

以上の研究において，山本君は新物質である多くの糖誘導体を合成し，糖化学ならびに酵素化学に知見を加えたので，理学博士の学位論文として十分価値あるものと認めた。