

硫酸基による pH 非依存的リゾチーム活性の阻害

SATテクノロジー・ショーケース2018

■ はじめに

リゾチームは、真正細菌の細胞壁を加水分解する溶菌酵素の一種である。リゾチームはヒトの鼻水や汗などにも含まれており、魚類や鳥類、哺乳類など、多くの生物がもつ。リゾチームの分子量は約14,000、至適pHは5付近(溶菌法では7付近)、至適温度は50℃、高温(pH 4, 90℃)でも80%以上の活性を保つ塩基性タンパク質である (Fig. 1)。

リゾチームは、ワカメやコンブなどの海藻がもつ酸性多糖類の一種であるフコイダンに阻害される。フコイダンはリゾチームの他にペプシンなど数種類のプロテアーゼも阻害するが、この阻害活性はフコイダンの硫酸基の含有率に依存する。また、フコイダンによるリゾチームの阻害は不拮抗阻害と拮抗阻害の混合型であることが明らかにされている(S.Furukawa,1995)。以上のことから、私はフコイダンのリゾチーム阻害はフコイダンの立体構造に関係無く、フコイダンの硫酸基がリゾチームに結合することによって考えた。そこで、私はリゾチームの阻害剤として硫酸基と似た構造を持つ硫酸を用い、これがリゾチームを阻害するか調べた。

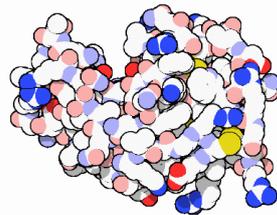


Fig.1 C型リゾチーム

■ 活動内容

1. 実験手法・材料

リゾチームは市販の目薬(ロート スマイルメディクリア40)に含まれるC型リゾチーム、基質には*E.coli*を用いた。反応系(1 ml)の組成は、200 mM リン酸緩衝液(pH 7.0)、0.36 nMリゾチーム、0 Mまたは0.36 nMまたは0.72 nM硫酸、100 μ l *E.coli*懸濁液(OD₆₆₀ = 1.1)とした。これらを混合し、40℃で5分間インキュベートした後、10分間反応させた。溶菌酵素によって*E.coli*の細胞数が減少することを、OD₆₆₀を測定することで検証した。

2. 硫酸によりリゾチーム活性は阻害される

硫酸が、リゾチームの活性を阻害するのかどうかを調べるために、いくつかの濃度の硫酸を阻害剤として用いて、溶菌酵素の活性を調べた。

Fig.2は反応系における各硫酸濃度において、反応時間

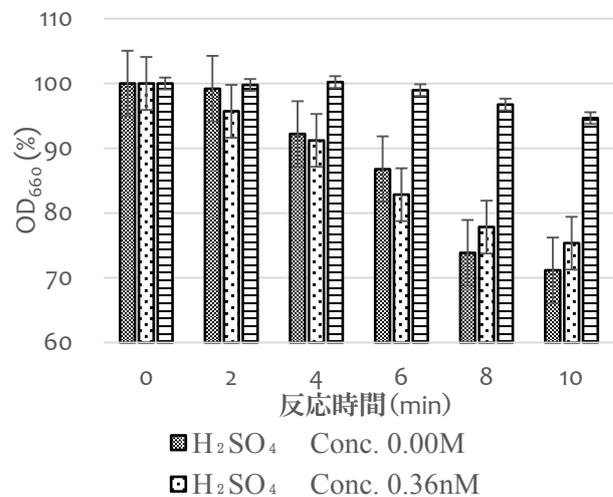
とOD₆₆₀の減少率の関係を示している。0 minのOD₆₆₀の値を100%とすると、硫酸0.00 Mの時のOD₆₆₀の減少率は28.8%、0.36 nMは16.4%、0.72 nMは5.8%であった。この結果から、硫酸の濃度が高いほど減少率が低下していることがわかった。また、それぞれの反応系で pHが7に保たれていることが確認されたことを踏まえ、硫酸がpHに非依存的にリゾチームの活性を阻害することが示唆される。

3. 考察

このようなリゾチームにおける活性阻害の、生物学的意義は次のように考えられる。

フコイダンはコンブ、ワカメ、ヒジキなどの一部の海藻がもつ。これらの海藻はウニや巻貝(腹足綱)などに捕食される。そこで、海藻に含まれるフコイダンがウニや巻貝などのリゾチームを阻害すれば、それらの生物は重要な防衛機能の1つを奪われることになる。

また、魚類とは異なり、ウニや巻貝などの生物は、グラム陽性菌の生息する海底に生息する。グラム陽性菌はリゾチームによって溶菌される。

Fig.2 各硫酸濃度における大腸菌数(OD₆₆₀)の減少率

以上のことから、硫酸基を含むフコイダンを持つことは海藻にとって捕食者に抵抗する手段となりうると考えられる。

代表発表者 宮部 真美(みやべ まみ)
所 属 茨城県立水戸第一高等学校
問合せ先 〒310-0011 茨城県水戸市三の丸3丁目 10-1
TEL:029-224-2254 FAX:029-225-5694

■キーワード: (1)リゾチーム
(2)硫酸
(3)フコイダン