

微生物β-アミラーゼの開発

天野エンザイム株式会社 産業用酵素開発部

岡田 正通、杉田 亜希子



1. はじめに

β-アミラーゼはデンプンの非還元末端に作用しβ-アノマーのマルトースを遊離する酵素であり、その研究は1924年のKuhnによる麦芽酵素の発見に始まる。その後、オオムギ、コムギなどの麦類、ダイズやインゲンマメなどの豆類、またサツマイモなど様々な高等植物から見出され、現在、産業利用されているβ-アミラーゼは、これらの食糧植物由来である。

一方、β-アミラーゼは当初植物にのみ存在していると考えられていたが、1974年に *Bacillus megaterium* より単離・精製されたのを皮切りに、多くの微生物由来の酵素が発見された。それ以降、微生物β-アミラーゼの工業生産が期待され、実用化を目指して研究開発がなされてきたが、耐熱性が十分でなかったこと、実用化に必要な酵素生産性が得られなかったこと、食品用酵素生産菌として適当でなかったことなどの理由により、これまで工業化には至っていなかった。

近年、中国、インドなど高度経済成長国の穀物消費の増加やバイオエタノール原料としての需要の増加などにより穀物類の価格が高騰傾向にあり、植物β-アミラーゼの安定供給が懸念されるようになった。

天野エンザイムでは、供給不安の無い微生物に給源を求め、実用化に耐えうる耐熱性を有するβ-アミラーゼをスクリーニングした。その結果、現在世界の主流であるオオムギ酵素より耐熱性に優れたβ-アミラーゼを見出した。さらにグループ会社である大和化成との共同開発により、その生産性の問題を解決し、微生物β-アミラーゼの製品化に世界で初めて成功した。

2. 微生物β-アミラーゼの発見と性質

我々は、産業利用可能な耐熱性を有するβ-アミラーゼを安定的に供給すべく、微生物β-アミラーゼの探索を行った。食品用酵素の生産菌として相応しい菌株に給源を求めスクリーニングを行った結果、*Bacillus* 属の一菌株の生産する耐熱性β-アミラーゼを見出した。

本酵素の至適温度は55℃、また55℃まで安定であり、オオムギやコムギ由来のβ-アミラーゼよりも耐熱性に優れており、植物起源では最も耐熱性が高いダイズ酵素に匹敵するものであった。至適pHは8、pH4~9まで広範囲のpH域で安定である。

本酵素をコードする遺伝子はシグナル配列を含めて545アミノ酸のタンパク質をコードしており、成熟酵素は515アミノ酸からなる分子量57.6kDaの単量体として分泌生産される。一次構造上、これまでに報告されている*Bacillus*属の他のβ-アミラーゼとは40~80%、植物由来のβ-アミラーゼとは20~30%の相同性を有する。β-アミラーゼによく見られるGlycosyl hydrolase family 14に属し、活性中心はE202, E397であると推定される。C末側にはStarch binding domainを有しており、これは植物由来β-アミラーゼには見られない構造である。これらのことは、X線結晶構造解析(1.9Å)からも確認された。

既知の微生物β-アミラーゼの特徴として、生デンプン分解活性があることが知られているが、本酵素についても同様に生デンプン分解活性が認められた。ダイズ由来酵素も含め植物β-アミラーゼは生デンプンに作用できないため、デンプンの糊化温度(約60~70℃)以下では作用しない。しかしながら本酵素はそれ以下の温度から反応するため、デンプンが糊化する前での使用など幅広いアプリケーションが可能である。

3. 食品加工への応用

1) マルトースシロップの製造

マルトースはショ糖の30~40%と低甘味であるが、ショ糖よりまろやかな甘味を有し、吸湿性が少ない。また、グルコースと比較して加熱による着色(メイラード反応)が少ないという特徴がある。

以下、図1に液化デンプンからのマルトース生成試験の結果を示す。本酵素は、現在マルトースシロップの製造に用いられているオオムギやコムギ由来の酵素より優れていることがわかる。少ない酵素量でより多くのマルトースを生成することが出来るばかりでなく、反応温度を高くすることが出来るため、反応中の微生物汚染の懸念も低い。また、オオムギやコムギ由来の酵素の反応 pH は酸性側に偏っているため、 β -アミラーゼによるマルトース糖化工程の前工程であるデンプン液化工程の pH 領域である 6 付近での使用には、中性に最適 pH を有する本酵素の方が適している。

2) デンプン加工食品の老化防止

デンプン加工食品の品質維持ポイントとして老化（硬化）抑制が挙げられる。 β -アミラーゼを利用した老化防止は、餅などの和菓子分野で広く利用されている。本酵素を餅に添加した場合も、15°C 3 日間の保存状態で、その柔らかさが維持されていた。これは老化の原因であるアミロースの会合を分解することにより抑制すること、生成マルトースが保湿作用を示すことによるものと推測された。（図2、3）酵素に微量の α -アミラーゼが夾雑している場合、モチがべたついてしまう。しかしながら、本酵素の生産菌は α -アミラーゼをほとんど生産しないため、本用途に適した製品となっている。

4. まとめ

微生物 β -アミラーゼの製品コンセプトを以下にまとめる。

- 世界で最初に工業化された微生物 β -アミラーゼである。
- 植物由来酵素と比較して、安定供給が可能である。
- オオムギやコムギ酵素より耐熱性に優れ、ダイズ酵素に匹敵する。
- 生デンプンに作用するため、幅広い食品への応用が期待できる。
- アレルギー表示が不要であり、グルテンフリー食品にも適用できる
- Kosher 及び Halal 対応、non-GMO 酵素である。

今後、植物酵素の代替のみならず、これらの特徴を生かした新たな用途開発を期待すると共に、安全で環境に優しい触媒である酵素の産業利用が更に広がることを期待したい。

図1 液化デンプンからのマルトース生成試験

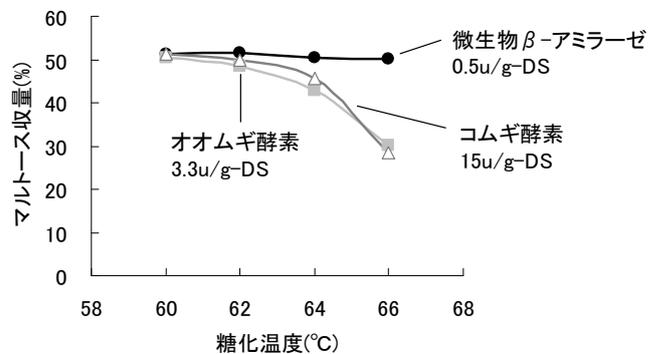
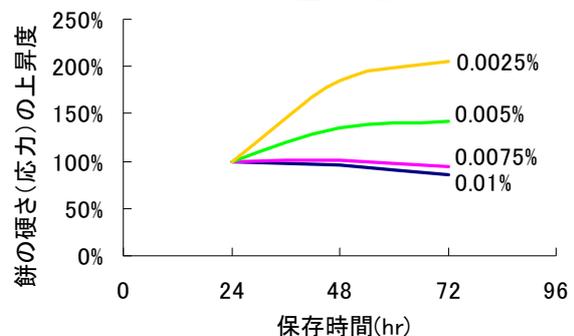


図2 モチの老化抑制効果



図3 モチの老化抑制効果
-酵素添加量の影響-



%: 米粉に対する微生物 β -アミラーゼ製剤の添加量