

トランスグルコシダーゼの機能改変と将来展開

天野エンザイム株式会社 マーケティング本部

フロンティア研究部 石原 聡

【略歴】

2005年 東京大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻 博士課程修了

2006年 千葉大学 理学部 非常勤研究員

2007年 東京工業大学 統合研究院 博士研究員

2010年 天野エンザイム株式会社 入社

マーケティング本部 フロンティア研究部 研究員

1. はじめに

近年、多くの機能性食品や特定保健用食品などが開発・販売されており、食品の効果により健康維持を図ることが大きな関心となっている。オリゴ糖は食品の加工や物性改善効果に加えて、抗うつ性やビフィズス菌増殖活性などから、特定保健用食品の重要な原料として注目を集めている。

様々なオリゴ糖が製造可能になった背景には、酵素によるオリゴ糖の製造技術が発展したことがあげられる。オリゴ糖の製造は、主に糖加水分解酵素の糖転移反応や脱水縮合反応を利用して行われている。新しい酵素の発見や反応条件の設計により、様々なオリゴ糖が製造できるようになり多彩な用途で使われている。さらに、近年はタンパク質工学技術を駆使して、目的とする酵素を設計できる可能性が広がっている。本発表では、オリゴ糖製造用酵素に関する弊社の機能改変研究について紹介する。

2. トランスグルコシダーゼ (α -グルコシダーゼ)

α -グルコシダーゼは、主にマルトオリゴ糖の非還元末端側の α -1, 4-グルコシド結合を加水分解する酵素である。一部の α -グルコシダーゼは糖転位活性が強く、マルトースを基質として α -1, 6-グルコシド結合を有するイソマルトオリゴ糖を生成する(図1)。このような酵素をトランスグルコシダーゼとも呼ぶ。*Aspergillus niger*起源の α -グルコシダーゼは糖転移活性が高いことから、弊社から「トランスグルコシダーゼL「アマノ」」という商品名で販売されている。(以下、本発表ではトランスグルコシダーゼと表記する。)

産業的な利用において、トランスグルコシダーゼは澱粉分解で生成したマルトースを原料としたイソマルトオリゴ糖の製造や、酒類の生産時に添加してオリゴ糖を生成することで風味を改良する用途で用いられている。また、トランスグルコシダーゼは炊飯後の米粒の周りにオリゴ糖を生成する作用があり、粘りがあり、かつ硬化しにくい炊飯米を製造する用途で利用されている[1]。

米国ではトランスグルコシダーゼを原料としたダイエットサプリメントが販売されている。トランスグルコシダーゼの投与により、食事由来の澱粉からイソマルトオリゴ糖が生成され、その結果として糖吸収抑制、腸内ビフィズス菌の増殖促進などの効果が確認されている。また、ヒト臨床研究からは腸内菌叢が改善され、肥満で低値を示すBacteroides/Firmicutes比が増加し、肥満状態が軽減されることが報告されている[2]。

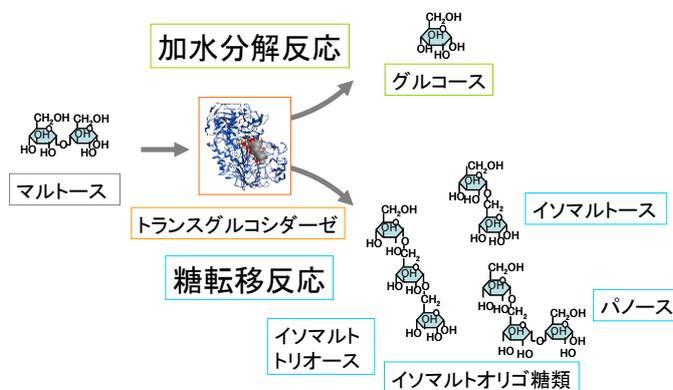


図1 トランスグルコシダーゼの反応図

3. トランスグルコシダーゼのタンパク質工学

トランスグルコシダーゼの産業的な利用を考えた場合には、加水分解活性が低く、かつ糖転位活性が高い事が望ましい。そこで、タンパク質工学によって、トランスグルコシダーゼの糖転位反応性を高める事を試みた。まず、トランスグルコシダーゼの遺伝子をクローニングして、酵母を利用したスクリーニング系を構築した。トランスグルコシダーゼの立体構造は不明であったので、分子モデリングにより酵素の立体構造を予測して、類縁酵素との比較から変異導入アミノ酸を決定した。その上で、生成するオリゴ糖量が増加した変異酵素のスクリーニングを実施した。

その結果、活性中心ポケット周辺にあるアミノ酸に変異を導入することで、野生型よりもオリゴ糖の生成量が増加して、かつ野生型とは異なる結合様式を含むオリゴ糖を生成する、複数の変異酵素が得られた。類縁酵素に幅広く保存されている活性中心ポケットを構成するループ領域にあるトリプトファンに変異を導入した場合は、 α -1,4結合に強い特異性を示して、相対的に α -1,6結合の分解速度が低下した。マルトースを基質とした糖転位反応では、主に α -1,4結合を伸長してマルトオリゴ糖生成量が増加した。一方、より活性中心に近い保存領域にあるセリンに変異を導入した場合は、 α -1,6結合に強い特異性を示して、相対的に α -1,4結合の分解速度が低下した。イソマルトースを基質として、主に α -1,6結合による糖転位反応を行い、イソマルトオリゴ糖生成量が増加した[3]。

このような結果から、トランスグルコシダーゼの活性中心周辺にあるアミノ酸残基は、加水分解とオリゴ糖生成の反応制御において、重要な役割を果たすと示唆された(図2)。

トランスグルコシダーゼの基質選択性は、わずか1つのアミノ酸に変異を導入することで大きく変化することが示された。本知見により、酵素の糖転位反応における結合様式選択性のメカニズムの解明が進むと期待される。さらに、糖転位活性の高い変異酵素を利用したアプリケーション開発にもつなげていきたい。

4. まとめ

酵素の立体構造情報から酵素を「デザイン」することは、多くの研究者による長年の努力により、実用化に近づいている。企業においても商品開発の一層のスピードアップが求められており、従来の研究開発手法に加えて、タンパク質工学による酵素の設計技術を活用していく必要があると考えている。今後は、オリゴ糖製造や糖質科学、糖鎖工学における酵素の利用が拡大するように、糖転位酵素の研究をさらに進めていきたい。

5. 参考文献

- [1] 山城 寛 “ α -グルコシダーゼ(トランスグルコシダーゼ)” 食品用酵素データ集 —取り扱い手法と実践— (監修: 清水 昌) 出版社: シーエムシー出版 (2013年)
- [2] Makoto Sasaki et al., ”Transglucosidase improves the gut microbiota profile of type2 diabetes mellitus patients: a randomized double-blind, placebo-controlled study” BMC Gastroenterology (2013) 13, 81
- [3] Satoru ISHIHARA (WO/2012124520) “Modified alpha-glucosidase and applications of same.”

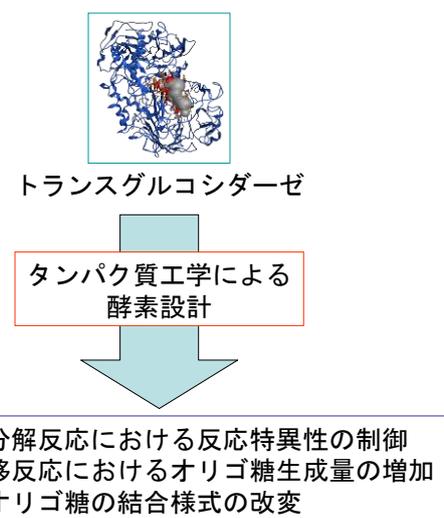


図2 トランスグルコシダーゼのタンパク質工学の概念図