今日の話題

難分解性セサミノール配糖体の分解酵素の発見 期待されるセサミノールの量産化

ゴマの摂取がヒトの健康に有益な効果をもたらすことは古くから知られ、紀元前3世紀に中国で著された本草学の古典にすでにそうした効能の数々が記述されている。わが国の科学者はこうしたゴマの健康促進効果の科学的解明に先駆的な役割を果たし、ゴマ特有の二次代謝産物ゴマリグナンがその鍵物質であることを明らかにした⁽¹⁾。ゴマリグナンの一つセサミンの栄養生理機能については特に理解が進み、健康補助食品の成分として大きな市場が開拓されている。セサミノール(図1)もまた、セサミンにはないユニークな健康促進効果が期待されるゴマリグナンの一つである。

肝臓で部分的な代謝を受けることによって初めて抗酸化作用を発現するセサミンとは異なり、セサミノールはそれ自体で強い抗酸化活性を示す⁽²⁾。食用油のなかでゴマ油が例外的に酸敗しにくいことのおもな理由も、ゴマ油にセサミノールが含まれることによる⁽²⁾。この強い抗酸化活性と関連して、セサミノールには変性LDLの生成抑制作用やDNAの酸化障害の抑制作用などがあることも示されている^(3,4)。こうしたことから、健康食品素材や化粧品素材としてセサミノールに高い期待が寄せられてきた。セサミノールはゴマ種子中では配糖体(セサミノールトリグルコシド, STG; 図1)として存在し⁽⁵⁾、これは生理活性がマスクされた化学形態とみなすことができる。STGは、ゴマ油の製造の過程で大量に副成するゴマ搾り粕に含まれるため、ゴマ搾り粕からこれを抽出してセサミノールに変換することは、安価な天然資源から高付加価値物質を取得できる有効なアプロ

チであると古くから考えられてきた⁽⁶⁾。しかしながらSTGは、おそらくその β -1,2-結合を含む分岐グリコン構造やかさ高いアグリコン構造のため、酵素的分解が著しく困難であり、その有効利用が妨げられてきた。最近になって、単独でSTGを効率良く分解してセサミノールを生成する酵素(STG-hydrolyzing β -glucosidase from *Paenibacillus* sp.: PSTG)が見いだされ⁽⁷⁾、バイオアクターによるSTGからのセサミノールの生産に大きな期待が寄せられるようになった。

PSTG生産微生物(KB05489株)はゴマ搾り粕から単離され、*Paenibacillus* 属細菌の新種であると推定された。この微生物の細胞抽出液から各種のカラムクロマトグラフィーによりPSTGが均一状態に精製され、全長の同酵素遺伝子も取得された。PSTG遺伝子には753アミノ酸からなるタンパク質がコードされ、その推定アミノ酸配列は、同属の微生物が生産するグルコセレブロシダーゼ(糖脂質分解酵素)⁽⁸⁾の配列と最も高い類似性(同一性63%)を示した(PSTGはグルコセレブロシダーゼ活性を示さない)。系統解析の結果、PSTGはグリコシドヒドロラーゼ(GH)ファミリー3のメンバーであることがわかった。GHファミリーとはグリコシダーゼをアミノ酸配列の類似性に基づいてファミリー単位に分類したもので、現在130以上のファミリーが知られている。GH3ファミリーはGHファミリーのなかでも大きな部類に属し、そのグリコン特異性は多様であるが、それらの酵素反応はいずれもアノマー炭素立体保持型である。同ファミリーは系統的にさらに少なくとも6つのク

図1 ■ セサミノールおよびセサミノール配糖体の構造と、セサミノールトリグルコシドの可能な酵素的分解経路

STG, セサミノールトリグルコシド (2,6-O-ジ(β-D-グルコシル)-β-D-グルコシルセサミノール)；2-SDG, 2-O-(β-D-グルコシル)-β-D-グルコシルセサミノール；6-SDG, 6-O-(β-D-グルコシル)-β-D-グルコシルセサミノール；SMG, β-D-グルコシルセサミノール。

ラスターに仕分けされ⁽⁹⁾, PSTGはそのうちのクラスター5に含まれる。

さて前述のようにPSTGは、単独でSTGからのセサミノール生成を効率良く触媒できる初めての酵素である。STGの酵素的分解の可能な経路(図1)のなかで、PSTGのこのユニークなSTG分解能力がどのルートで達成されているのかが調べられた。PSTGによるSTG分解の過程で、反応系に少量のSMGと比較的多量の6-SDGが一過的に蓄積すること(セサミノール配糖体の略号とその構造は図を参照), ならびにグルコースの2量体や3量体が生成せず単量体のみが蓄積することが確認され, 本酵素によるSTG分解は, グルコース残基を一つずつ切り離していくβ-グルコシダーゼ活性に基づくことがわかった。PSTGはまた, 既往のβ-グルコシダーゼでは分解されにくいとされるβ-1,2-グルコシド結合を, β-1,6-グルコシド結合やβ-1,4グルコシド結合よりも好んで切断することもわかった。PSTGのSTG分解活性を100%としたとき, 2-SDGと6-SDGに対する分解速度比はそれぞれ124%と53%であった。以上の結果を総合すると, PSTGによるSTG分解は, 図1に示した可能な反応経路のなかでc→f→gを主たる経路とし,

a→e→gをマイナーな経路として進行することが示唆された。

今後, PSTGやPSTG生産微生物を用いたバイオリアクター研究が進展し, セサミノールの量産化が達成されることが期待される。また単一の酵素でSTG分子中のすべてのβ-グルコシド結合を分解できるというユニークな特異性が, この酵素の構造のどのような特徴に起因するのかについて, 今後, 同酵素の立体構造を明らかにしたうえで解明していく必要がある。

- 1) 並木満夫編著: “ゴマ その科学と機能性”, 丸善出版, 1998.
- 2) M. Nagata *et al.*: *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 1285 (1987).
- 3) M. H. Kang *et al.*: *Life Sci.*, **66**, 161 (2000).
- 4) T. Osawa: *Mech. Ageing Dev.*, **111**, 133 (1999).
- 5) H. Katsuzaki *et al.*: *Phytochemistry*, **35**, 773 (1994).
- 6) 栗山健一, 無類井健夫: 農化, **67**, 701 (1993).
- 7) A. Nair *et al.*: *PLoS ONE*, **8**, e60538 (2013).
- 8) T. Sumida *et al.*: *J. Biochem.*, **132**, 237 (2002).
- 9) A. J. Harvey *et al.*: *Proteins: Struct. Func. Genet.*, **41**, 257 (2000).

(中山 亨, 東北大学大学院工学研究科)

プロフィール

中山 亨 (Toru NAKAYAMA)

＜略歴＞1981年筑波大学第2学群農林学類卒業／1983年京都大学大学院農学研究科農芸化学専攻修士課程修了／1986年同博士課程修了／1986年サントリー株式会社入社／1994年神戸学院大学栄養学部助手／1998年東北大学大学院工学研究科生物工学専攻助教授／2005年同大学大学院工学研究科バイオ工学専攻教授，現在に至る＜研究テーマと抱負＞植物生化学，微生物生化学，生命現象の酵素科学＜趣味＞ガーデニング，バロック音楽鑑賞