糖修飾による魚肉タンパク質の機能改変

佐伯 宏樹

1. はじめに

日本人の主要なタンパク質源である魚類は、アミノ酸バランスに優れた筋肉タンパク質を含んでいる。しかし、魚類は一般に鮮度低下が速やかに進行し、畜産動物よりも肉質が変化しやすい。また魚体の大小・漁期・成熟度などによって一般成分が変動する特徴があり、食品素材として一定の品質を保障することが難しい。漁獲された魚肉タンパク質のすべてを高度利用するためには、これら変動要因の影響を受けない新規な利用形態を開発する必要がある。植物・乳・鶏卵タンパク質については、分子修飾によってその性質を変換して産業的に有用なタンパク質を開発する試みが行われている。筆者の研究室でも、水産資源の高度利用を目的として、魚肉タンパク質を糖修飾して食品機能を改変し、汎用性に富んだ食品素材に変換する試みを行っている。本稿では、その研究の一端を紹介したい。

2. 魚肉タンパク質への糖鎖の導入

タンパク質に糖分子を導入する方法については、対象タンパク質の性状や目的に応じた各種の化学的・遺伝子工学的的手法が開発されてきた¹⁾。食品タンパク質の機能改変を目的とした分子修飾法としては、メイラード反応を利用した糖修飾技術²⁾が有名である。メイラード反応は、アミノ化合物と還元糖の間で起こる縮合反応で、その進行には化学薬品や触媒物質を必要としない。魚類の筋肉タンパク質画分（一般に筋原線維と呼ぶ）や筋肉の主要タンパク質であるミオシンを、還元末端をもつ各種糖類と混合したのち凍結乾燥し、つづいて30～60℃に保持したところ、グルコース、リボース、デキストラン、各種オリゴ糖などさまざまな種類の還元糖をタンパク質リジン残基のε-アミノ基に結合させることができた。しかし、後述するさまざまな機能改変効果を得るためには、魚肉タンパク質の変性を抑制しながら糖修飾する必要があった。

一般にメイラード反応は、環境相対湿度の上昇に伴って速やかに進行するが、魚肉タンパク質の場合も、60%以上の環境湿度下で各種還元糖が速やかにタンパク質と結合した。しかしこの条件では、糖修飾と同時に魚肉タンパク質の変性凝集が起こった。グルコースやリボースを用いた修飾反応では、これらの糖自体がタンパク質の熱変性を抑制する効果をもつので、反応過程におけるタンパク質の熱変性を抑制することができた。一方、タンパク質変性を抑制する効果をもたないオリゴ糖や多糖類を用いた糖修飾の場合には、熱変性防止効果のあるソルビトール（還元末端をもたない）を共存させることで、反応過程でのタンパク質変性を抑制する必要があった。しかしこれらの条件を満たした場合でも、反応過程で共存する水分量が7%を超えると、魚肉タンパク質の著しい不溶化が起こった。この理由は、魚類の筋肉構成タンパク質が熱的に不安定であるため³⁾、変性防止効果をもつ糖類が存在しても水分子を介した構造変化が進行したためと考えられる。このように魚肉タンパク質の糖修飾では、糖修飾反応の進行とタンパク質変性の抑制を両立しうる適切な水分環境の設定が必要である⁴⁾。

3. 糖修飾による魚肉タンパク質の機能改変

表1に、糖修飾によって得られた魚肉タンパク質の機能変化をまとめたが、糖の種類によってさまざまな性質改変が認められる。本来、筋肉の主要タンパク質であるミオシンやアクチンは、生理的塩濃度下($I < 0.16$)では溶解しない。しかし単糖⁴⁾やオリゴ糖⁵⁾で修飾すると、低塩濃度溶媒に対する溶解性が著しく向上した。一方、デキストランのような多糖修飾⁶⁾では、筋肉の水溶化効果は認められなかったが、熱安定性の向上と乳化特性の大幅な改善が認められた。またアルギン酸オリゴ糖修飾では、水溶化機能を保持しながら熱安定性の向上と乳化特性の改善が同時に達成できることも、明らかとなった⁷⁾。

なお糖修飾反応を継続すると、リジン残基の修飾度合いは増加するが、改変された筋肉タンパク質の水溶性も徐々に失われた。この溶解性の低下はメイラード反応の初期生成物であるケトアミンの減少とよく対応していた。したがって、魚肉タンパク質の機能改変を目的として糖修飾を行う際には、メイラード反応を初期段階で制御する必要がある。

SAEKI, Hiroki 北海道大学大学院水産科学研究科 (041-8611 函館市港町3-1-1)・教授、博士(水産学)。1981年東京水産大学水産学部増殖学科卒業。専門は水産食品学、食品機能化学。

Function Improvement of Fish Meat Protein by Glycosylation

糖修飾の進行

図1 糖修飾による魚肉タンパク質の水溶化

左: 糖修飾の進行に伴う魚肉懸濁液の変化。右: アルギン酸オリゴ糖修飾したコイ筋肉タンパク質の溶解度のイオン強度依存性 (タンパク質に対して20%重量の糖を導入した)。

4. 糖修飾によるミオシン水溶化の分子機構

糖修飾によって起きる機能改変の分子機構を明らかにすることは、タンパク質本来の性質を理解することにつながる。そこで、糖修飾によって起こるミオシン水溶化の分子機構の解明を試みた。ミオシン分子は生理的イオン強度下では会合して不溶性のフィラメントを形成する。筋肉線維を形成する原動力であるこの性質は、ミオシン分子中のロッドと呼ばれる α -ヘリックス構造部位が担っている。電子顕微鏡観察およびゲルろ過クロマトグラフィーの結果によると、0.1 M NaCl (pH 7.5) で形成したロッドフィラメントは、糖修飾の進行に伴って徐々に解離し、モノマーとして溶解するようになった。この現象は、反応性リジン残基の消失によるロッド分子間の反発力の増加と、ロッド分子表面部位に導入された修飾糖が物理的障壁としてはたらく、ミオシンフィラメントの会合を阻害したことが主因と思われる⁸⁾。

5. 糖修飾魚肉タンパク質の実用化研究

魚肉を汎用性のあるタンパク質素材とするには、筋肉タンパク質の水溶化はひとつの方策である。優れた機能性を有しながら水溶化ができれば、冒頭で述べた魚類特有の問題点をおおむね克服した素材化ができる。糖修飾による筋肉タンパク質の水溶化は、魚類だけでなく貝類、さらには畜産動物など広範な筋肉に応用できることを確認している。また最近の研究⁹⁾で、糖修飾によって魚肉タンパク質

表1 さまざまな糖類で修飾した魚肉タンパク質の機能

修飾に用いた還元糖	水溶化	熱安定性 向上	乳化能 改善
グルコース, リボース (DP=1)	+	-	+
マルトース (2)	+	-	+
マルトトリオース (3)	+	-	+
アリギン酸オリゴ糖 (平均 DP=6)	+	+	++
デキストラン (平均分子量: 78 kDa)	-	+	++

DP: 重合度 (+, ++: 機能改変の効果あり, -: 影響なし)

に新しい生体調節機能が付与できる可能性が見いだされつつある。これらの知見を受けて筆者らの研究グループでは、未利用・廃棄水産物中の魚肉を原料とした糖修飾タンパク質の製造開発に取り組んでいる¹⁰⁾。

文 献

- 1) 井本泰治: タンパク質工学研究法 (生物化学実験法 40), 学会出版センター, 東京, 1996, pp.117-121
- 2) Kato, H. R. Ibrahim, H. Watanabe, K. Honma, K. Kobayashi: *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 433 (1989)
- 3) 新井健一, 川村久美子, 林 恵美子: 日水誌, **39** (1973)
- 4) S. Katayama, H. Saeki: *Fish. Sci.*, **70**, 158 (2004)
- 5) R. Sato, T. Sawabe, H. Kishimura K. Hayashi, H. Saeki: *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 17 (2000)
- 6) K. Fujiwara, T. Oosawa, H. Saeki: *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 1257 (1998)
- 7) R. Sato, S. Katayama, T. Sawabe, H. Saeki: *J. Agric Food Chem.*, **51**, 4376 (2003)
- 8) S. Katayama, Y. Haga, H. Saeki: *FEBS Lett.*, **575**, 9 (2004)
- 9) 佐伯宏樹, 水谷亮介, 高橋寛行: 平成17年度日本農芸化学会大会講演要旨集, p.11 (2005)
- 10) 佐伯宏樹: 化学と生物, **42**, 776 (2004)