

トランスグルタミナーゼによる食品タンパク質の物性改良

味の素（株）食品総合研究所
久保田 浩二

トランスグルタミナーゼ（以下 TGase）は、タンパク質及びペプチド鎖中のグルタミン残基の γ -カルボキシアミド基と各種一級アミン間のアシル転移反応を触媒する酵素と定義されており（図1のa）、アシル受容体としてタンパク質中のリジン残基の ϵ -アミノ基が作用すると、分子内、分子間に ϵ - $(\gamma$ -Glu)Lys架橋結合が形成される（図1のb）。また一級アミンが存在しない場合は、水がアシル受容体として機能しグルタミン残基が脱アミド化され、グルタミン酸残基になる反応を触媒する（図1のc）¹⁾。

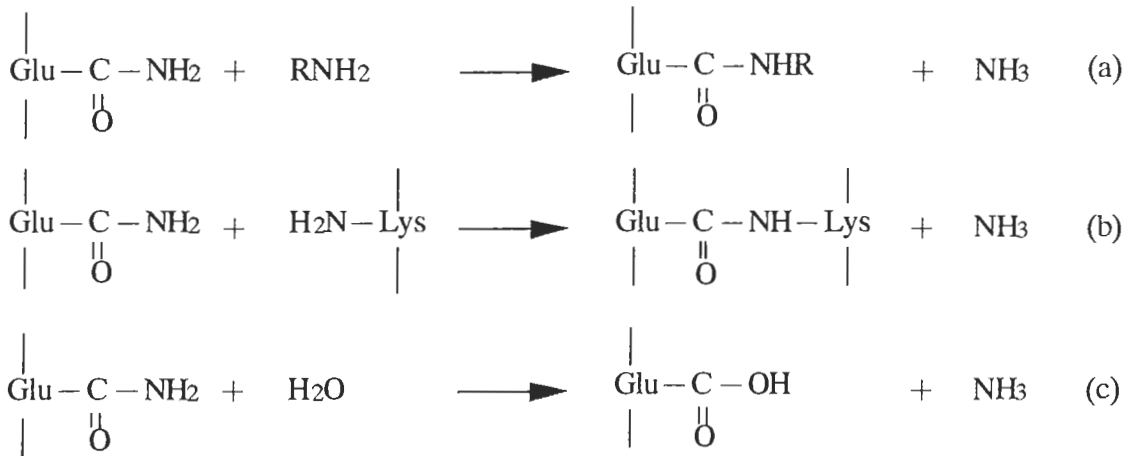


図1 タンパク質に対するトランスグルタミナーゼの作用
 (a) タンパク質分子に1級アミンを導入
 (b) タンパク質に分子間架橋を形成
 (c) タンパク質分子を脱アミド化

TGaseは、血液、毛嚢、脳、肝臓、表皮等といった動物の諸組織、血液細胞及び血漿等に広範に存在し、従来からその酵素学的性質及び生理作用などについて多くの研究がなされている²⁾。一方、この酵素に関する研究が京大グループ及び当社グループによって展開され、食品加工分野のみならずその周辺分野にも幅広く応用可能であることが明らかにされてきている^{3,4)}。このような有用性の認識が深まるに連れ、酵素の安価な量産技術の確立が課題となった。そこで、京大の伊倉らは、モルモット肝TGaseの一次構造解析と、その遺伝子の塩基配列の決定を行い⁵⁾、この遺伝子を発現ベクターに組み込み、大腸菌中で発現させることに成功し、遺伝子工学で量産化の道を拓い

た⁶⁾。一方、当社及び天野製薬(株)共同研究グループは、TGase活性を有する微生物を丹念に探索した結果、その産生菌を発見し、通常の醗酵生産法による量産化を可能にした⁷⁾。

さらに、植物にもTGase類似の活性が存在することを示唆する報告が発表されたり⁸⁾、魚肉に内在するTGaseが魚肉の坐り現象に関与していることが示唆され⁹⁾、水産資源にその給源を求める研究などが試みられている。

このように広い範囲に渡って存在し、重要な働きをしてきた酵素ではあるが、量産化の可能性が明らかになることより、その利用研究への“はずみ”がついたと言える。特に食品の分野ではこのTGaseの作用の対象となるタンパク質やアミノ酸は栄養学的にも物性面でも重要な素材であり、これに種々の有効な加工を加える手段として本酵素の期待されるころは大であると考えられる。

1. 微生物起源TGase⁷⁾

現在、実用面で最も期待しうる微生物から生産される新規TGaseの性質、機能、利用について紹介する。本酵素は、1988年、味の素と天野製薬の共同研究によりStreptovorticillium 属の数菌株の培養液中に発見された⁷⁾。それまで知られていたTGaseはすべて動物、特に哺乳類の臓器、血液起源であった。そのため希少かつ高価であり、本酵素を実用的に使用することは困難と考えられていた。大量生産の容易なこの微生物起源TGase(以下MTGase)の発見は、実用的なコストでこの酵素を食品加工などに利用可能にする画期的なものであると言える。この酵素は菌体外に分泌されるので、培養液からの分離精製も容易であった。以下このMTGaseの特性について概説したい。

作用pHの至適条件はpH6~7であるが、pH4あるいはpH9でも相対残存活性30~35%を示し、広いpH範囲で作用することが特徴である。その安定性もpH5~10と広範囲であった。温度に対する影響をみると、50~55℃が至適で、その安定性も40℃までは活性は完全に維持され、50℃で10分間保持しても活性は74%残存し、酵素としては、比較的耐熱性があり、取扱い易いものであった。また、分子量が約40,000、等電点が9.0、Ca²⁺イオンの存在量により活性に影響がないことなどが、従来動物組織由来のCa²⁺依存性TGaseと異なっていた¹⁰⁾。TGaseの利用を考えた場合、Ca²⁺濃度に左右されないので、食品加工などには、非常に有利といえよう。

2. タンパク質基質に対する作用¹¹⁾

牛乳の主要タンパク質である α S1-カゼイン、大豆の主要タンパク質である11S及び7Sグロブリンの5~10%溶液にTGaseを常温で作用させると、ゲル化し試験管を倒置しても流れ落ちなくなる¹¹⁾。さらに、これらのゲルは、加熱操作(100℃、15分処理)するとゲル強度が飛躍的に増大するという特徴

を有している。すなわち、加熱や冷却処理によってゲル化しない α S1-カゼインのようなタンパク質でもTGaseを用いてゲル化させることができ、また、加熱処理のみによって得られる11Sグロブリン、7Sグロブリンゲルよりも強度の強い、異なった物性を有するゲルを調製することができる。また、ゼラチンのような加熱によって溶融するタンパク質に作用させると、得られるゲルは加熱によっても溶融せず耐熱性が付与できることも確認されている¹²⁾。これらのゲル化現象は、系内に糖質、食塩などの塩類が存在しても観察される。さらにタンパク質を予め油脂と混合しO/W型に乳化しても、あるいは天然乳化状態のタンパク質に対してもゲル化を引き起こす。このようなゲル化は、油滴表面に薄く配位していると考えられるタンパク質膜のLys残基とGln残基間で架橋構造が形成されて生ずるものであることが証明されている¹³⁾。

TGaseによるタンパク質のゲル化法は、膜形成にも応用できる。すなわちゲル化反応の直前に型枠の中に流延し、反応後、溶媒をのぞくことにより成膜する。この膜は架橋形成によるものであるため、耐熱性、透明性がある。しかも一般のタンパク質膜に比べ伸長性のある強靱さ等の特性を有しており、可食膜などに応用できる¹⁴⁾。

さらにTGaseは、同種タンパク質間のみならず異種タンパク質間でも架橋反応が進行することが証明されている¹⁵⁾。すなわち、一方のタンパク質のLys残基を予めアシル化し、同種タンパク質間の架橋形成を抑制した後、他方のタンパク質と混合しTGaseを反応させると異種タンパク質間でも架橋反応が起きる。この異種タンパク質間架橋形成によるヘテロポリマーは、両タンパク質の性質を併せ持つような機能の発現が期待される。例えば、単独で高分子化された大豆11Sグロブリンの溶解性が非常に低いのに対し、アシル化 α S1-カゼインとのヘテロポリマーになると α S1-カゼインと同等の溶解性を持つようになることが示されている¹⁶⁾。このような単純混合物では得られない新しい物性（保水性、乳化性、ゲル強度など）、栄養価などを有する新機能タンパク質の創出が可能である。

3. 食品加工への応用

これまで述べてきたTGaseの機能性を活用して、1993年4月に味の素社より「アクティバ」としてMTGase配合の酵素製剤が発売された。その種類も、水産練り製品用のTG-K、畜産加工用のTG-S、食品接着用のTG-B等が挙げられる。

TG-Kは、魚肉すり身ゲルの弾力向上を意図とし、冷凍すり身加工において、冷凍前に加えられたり、水産練り製品の蒲鉾や竹輪などの製造に多く用いられる。例えば、蒲鉾物性に及ぼすTG-Kの効果として、すり身当りTG-K 0.3%添加した蒲鉾の破断強度は、TG-K無添加品に対して、約2倍を示し、強度が顕著に改善される。

TG-Sは、畜肉ゲルの弾力向上に効果的である。蒲鉾におけるTG-Kと同様

にソーセージやハンバーグの物性を向上し、特にハンバーグではレトルト耐性を付与することが可能である。TG-Bは、カゼインNaが副剤として配合されており、食品の接着を可能にし、畜肉、魚介類、魚卵の成形に用いられる。TG-Bによって成形されたこれらの食品は、その後加熱調理しても分離することはない。

この他、水産加工では、低グレードのすり身や種々の魚種への応用、畜肉加工では、低塩化や重リン酸塩代替など、さらには、大豆加工、小麦加工並びに乳加工分野等での応用開発が進展している。

参考文献

- 1) J.E. Folk and J.S. Finlayson, "Advance in Protein Chemistry", Vol. 31, ed. by C.B. Anfinsen, J.T. Edsall and F.M. Richard, Academic Press Inc., New York, 1977, p.1.
- 2) J.E. Folk, *Ann. Rev. Biochem.*, 49, 519(1980).
- 3) 本木正雄, *日本農芸化学会誌*, 61, 486(1987).
- 4) 伊倉宏司, *日本農芸化学会誌*, 62, 1451(1988).
- 5) K. Ikura, T. Nasu, H. Yokota, Y. Tsuchiya, R. Sasaki, and H. Chiba *Biochemistry*, 27, 2898(1988).
- 6) K. Ikura, Y. Tsuchiya, R. Sasaki, and H. Chiba, *Eur. J. Biochem.* 187, 705(1990).
- 7) H. Ando, M. Adachi, K. Umeda, M. Matsuura, M. Nonaka, R. Uchio, H. Tanaka, and M. Motoki, *Agric. Biol. Chem.*, 53, 2613 (1989).
- 8) M. Nonaka, H. Tanaka, A. Okiyama, M. Motoki, H. Ando, K. Umeda, A. Matsuura, *Agric. Biol. Chem.*, 53, 2619(1989).
- 9) I. Icekson and A. Apelbaum, *Plant physiol.*, 84, 972(1987).
- 10) N. Seki, H. Uno, N. Lee, I. Kimura, K. Toyoda, T. Fujita, and K. Arai, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56, 125(1990).
- 11) N. Nio, M. Motoki, and K. Takinami, *Agric. Biol. Chem.*, 49, 2283(1985)
- 12) N. Nio, M. Motoki, and K. Takinami, *Agric. Biol. Chem.*, 50, 851(1986).
- 13) N. Nio, M. Motoki, and K. Takinami, *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1409(1986).
- 14) M. Motoki, H. Aso, K. Seguro, and N. Nio, *Agric. Biol. Chem.*, 51, 993(1987)
- 15) M. Motoki and N. Nio, *J. Food Sci.*, 48, 561(1983)
- 16) M. Motoki, N. Nio, and K. Takinami, *Agric. Biol. Chem.*, 51, 237(1987) .