

マルトオリゴ糖生成アミラーゼの機能改良

[研究の内容]

マルトペンタオース (G5) は、食品加工素材、血中アミラーゼ活性測定用の臨床検査試薬、輸液のカロリー源などの用途がある。

デンプンを非還元末端から特異的にG5単位で切断する *Pseudomonas* sp.KO-8940 のアミラーゼはG5生産酵素として有望であるが、G5分解活性を持つためにG5の収率は低い。

蛋白質工学的手法でG5分解性の低い酵素を開発した。

[技術の特徴]

1. 種々のアミラーゼの基質結合モデルから推定した G5 生成アミラーゼの基質結合に残基 Trp-57、Glu-61、Try-139 及び Lys-188 を他のアミノ酸に置換した変異酵素を作成した (図 1)。
2. Trp-57 及び Try-139 のアミノ酸置換酵素では、G5 分解活性が著しく低下した (図 2)。
3. その結果、Trp-57 及び Try-139 の改変酵素は、野生型酵素に較べて G5 の収量が 2 ~ 3 倍に増加した。



図 1. G5 生成アミラーゼの基質結合領域と変換したアミノ酸残基

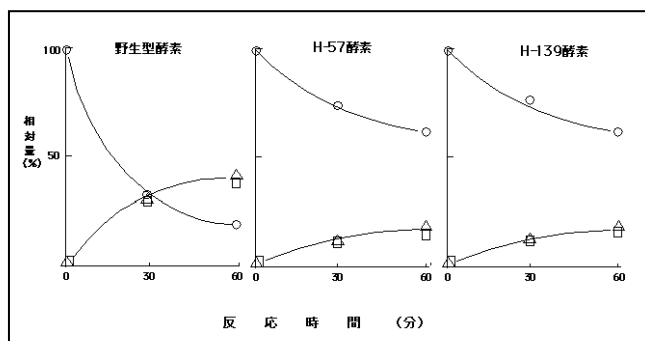


図 2. 改変酵素の G5 分解活性
○、マルトペンタオース (G5) ;
●、マルトトリオース; □、マルトース

[今後の展開]

G5 アミラーゼのデンプン分解活性は、デンプンの枝分かれ構造のために分解率が 30 ~ 40% に達し時点から徐々に低下する。枝きり酵素との併用で、デンプン分解効率を高めることによって反応時間の短縮し、G5 の収量を目指す。



代表研究者: 伊藤 義文
所 属: 応用微生物部 発酵細菌研究室

問合わせ先: 研究交流科 関谷 修三
e-mail: atunisi@nfri.affrc.go.jp

独立行政法人
食品総合研究所