

— 不凍タンパク質に次ぐ新製品を開発 —
エノキタケ由来不凍多糖の量産化に世界で初めて成功

化学生命工学部 教授 河原秀久

関西大学化学生命工学部の河原秀久(かわはら・ひでひさ)教授らの研究グループは、エノキタケから得られる不凍多糖を発見しました。このたび、共同研究者である株式会社カネカ(本社：大阪市 社長：角倉 護氏)から、不凍タンパク質に次いで、冷凍食品への利用を目的とするサンプル提供が開始されますので、お知らせいたします。これまで、不凍タンパク質と同じ機能を持った多糖が工業化されたのは世界初。エノキタケエキスをを使用することで、安全・安心な食品への実用化が実現しました。

1 不凍タンパク質

不凍タンパク質(antifreeze protein ; AFP)は、1969年に南極海に生息する魚(ノトセニア科)(右図)の血液内に不凍糖タンパク質として存在することが発見されました。以来、多くの寒冷地に棲息する生物種(魚、軟体動物、植物、昆虫、カビ、キノコ、地衣類、細菌などの微生物)からさまざまな構造や機能を有する不凍タンパク質の存在が明らかにされてきました。



図. コオリカマス(市場魚介類図鑑より)
ノトセニア科コオリウオ属

「不凍タンパク質」の名称は、魚血液及び体液中の凍結温度が、南極海の海水の凍結温度より低下する現象から付けられました。

河原教授はカイワレ大根に着目し、4年に及ぶ研究の結果、カイワレ大根から得られるエキスにも不凍タンパク質の活性があることを発見し、その活性に重要なタンパク質を明らかにしました(2005~2008年)。その後、2009年に㈱カネカとの共同研究が本格的に始まり、サンプル提供開始(カネカ不凍タンパク質)後の2012年3月、冷凍麺に初めて採用されました。現在、約50品目に及ぶ様々な冷凍食品(業務用および家庭用)に利用されています。

しかしながら、不凍タンパク質は高温処理に比較的弱く、酸性下では活性が低下するという性質を持っており、一部の冷凍食品への応用が困難な状態でした。

2 非タンパク質性不凍活性物質の発見

不凍タンパク質研究の一環で、タンパク質分解をするプロテアーゼ処理後でも活性を維持している生物種のサンプルが発見されました。Walters KR, Jrらは凍結温度を低下させる活性(熱

ヒステレシス活性)を示す非タンパク質性の高分子化合物を発見しました (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 20210-20215 2009)。その物質は、アラスカに生息している高い凍結耐性を有した甲虫 *Upis ceramoides* (右図) から発見されました。

この非タンパク質性高分子化合物は、キシロマンナン脂質であり、キシロースとマンノースが1:1に β -1,4結合した多糖が基本骨格です。この多糖に脂肪酸が結合することによって、高い熱ヒステレシス活性を示しています ($3.7 \pm 0.3^\circ\text{C}$, 5 mg/ml)。

その後、Waltersらは、植物1種、昆虫6種、カエル1種がこの物質を生産し、凍結耐性を得ていることを明らかにしました。 (*J. Comp. Physiol. B*, **181**, 631-640 2011)。



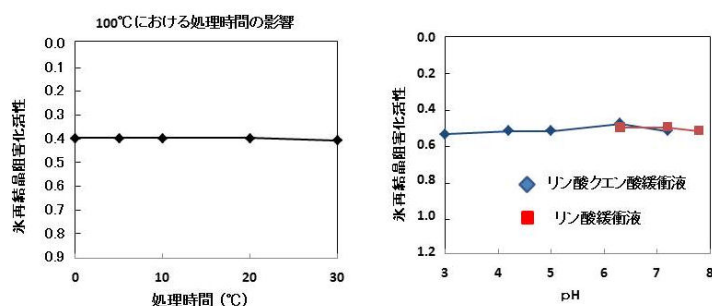
3. キシロマンナンを有するエノキタケ

2009年にWaltersらの論文が発表された際、キシロマンナン多糖骨格が氷結晶に作用する可能性があることから、この物質の糖鎖構造とは違うキシロマンナン骨格でも同じように活性を示す可能性があるかと河原教授は予測しました。そこで、調査したところ、硫酸化されたキシロマンナンを有する海藻 (*Chondrophyucus papillosus*) やキノコ (エノキタケ *Flammulina velutipes* と霊芝 *Ganoderma lucidum*) が存在していることが判明しました。それまでに河原教授らの研究グループは、エノキタケ菌糸を低温馴化 (4°C) に晒した時に、培地中に不凍タンパク質を生産することを明らかにしていました。この不凍タンパク質は、これまでの生物種由来不凍タンパク質の氷再結晶化抑制活性よりも高いことから、アイスクリームなどへ応用が期待されましたが、 30°C で失活してしまうという致命的な欠点があったためにこのタンパク質の工業化を断念しました。そこで、エノキタケはキノコの中で最も凍結耐性が高いという情報を基に、エノキタケのキシロマンナンに関する研究を開始しました (2010年～)。キシロマンナンは、エノキタケの細胞壁の構成成分であり、基本的な抽出方法は Smiderle FR らの方法 (*Phytochem.*, **67**, 2189-2196, 2006) に従って行いました。その結果、キシロマンナンは分子量 24 万~31 万で、キシロース:マンノースの構成比が1:2であることがわかりました。この精製品の熱ヒステレシ

スは、 $0.07 \pm 0.01^\circ\text{C}$ で、ほとんど皆無でした。しかし、氷再結晶化抑制活性は存在し、カネカ不凍タンパク質であるカイワレ大根由来 AFP とほぼ同じ活性のサンプルを調製することが可能でした。

一方、不凍タンパク質の欠点である高温 (左) 及び酸性条件下 (右) での活性についても検討を行いました。

その結果、 100°C 、30分処理しても活性が安定し、pHの高低に関わらず安定していました。さらに、 160°C 以上のフライ条件下でも、揚げ物の物性に良い効果をもたらすことも確認できました。



この不凍多糖の研究は、2010年8月より、有限会社一栄、富士ハイテック㈱、㈱カネカと共同で行ってきました。そして、この10月中旬より、「カネカ不凍多糖」として、本格的にサンプル提供が開始されます。

4. 不凍多糖の冷凍食品への活用

(1) 冷凍時における食品素材および冷凍食品の物理的損傷

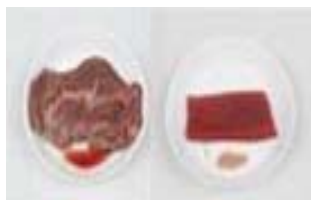
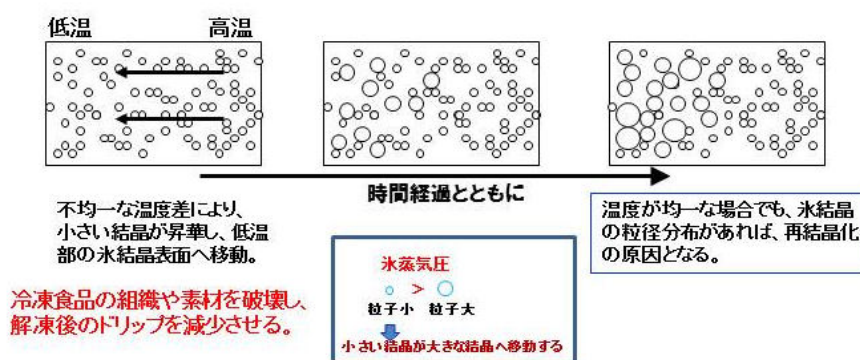


図. 冷解凍後のドリップ

食品素材（肉や魚介類）をマイナス 20℃以下の冷凍庫で長期的に保存し、その後、解凍すると左図に示したような肉汁（ドリップ）が生じます。このため、解凍後に調理した場合、食感が悪くなります。

冷解凍後にドリップが生じるのは、マイナス 20℃以下で起きている氷再結晶化現象が要因のひとつです。氷再結晶化現象は、形成した氷結晶の蒸気圧の差によって冷凍時に起きます。



また冷凍時、食品素材および冷凍食品の表面上で氷昇華現象が起きることで、品質が劣化します。→ 袋が膨らむ 袋内に氷結晶が成長

これらの現象を妨げる物質が、氷再結晶化抑制活性を持った不凍タンパク質と不凍多糖です。

(2) 不凍多糖の応用の可能性

研究室レベルでの評価において、冷凍揚げ物（約 160℃以上）の食感や解凍時の電子レンジ処理での損傷などを軽減できる効果があると判定しています。これまでに不凍タンパク質では十分な効果が確認できませんでしたが、研究室レベルでも確認できたことから、新たな応用性が期待できます。

5. まとめ

これらの研究成果を受け、共同研究を行ってきた株式会社カネカは、世界で初めて、不凍多糖の量産化に成功し、エノキタケから抽出した「カネカ不凍多糖」のサンプル提供を開始します。不凍タンパク質とともに、新たな冷凍食品品質保持剤として実用化が期待されています。

本研究は、カネカの研究者も参加している「文部科学省 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業『地域産業シーズ・ニーズに応えた高付加価値天然素材の発掘およびその製造技術の実用化研究』（平成 20 年～24 年度）プロジェクト」と、カネカの研究者は参加していませんが、『地域資源の高度利用を図るバイオリファイナリーの基盤形成とその実用化』（平成 25 年～29 年度）プロジェクト」の成果の一部です。

この件に関するお問い合わせ先

関西大学 総合企画室 広報課 担当：石田^{いしだ}、依藤^{よりふじ}
〒564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35 Tel. 06-6368-1131 Fax. 06-6368-1266
www.kansai-u.ac.jp

この伝統を、超える未来を。

