

「特異な酵素活性による自然免疫を賦活化するオリゴ糖生産法の開発」

研究者名: 熊谷 祐也 所属・役職: 北海道大学大学院農学研究院 特別研究員	番号: H26 FT-1	研究分野 生産技術	研究キーワード 褐藻類、特異的酵素分解、 オリゴ糖、抗腫瘍性作用
--	--------------------	--------------	--

背景・目的

ラミナリオリゴ糖は自然免疫を賦活化するオリゴ糖であり、褐藻類の貯蔵多糖であるラミナリンを酵素的に分解することで得られる。これまでの酵素は賦活化能を持たないサイズのオリゴ糖まで分解した。申請者は放線菌から低分子のオリゴ糖を生成せず、適度な長さのオリゴ糖だけを生じる効果的な新規酵素を見出した。ここでは特異活性を持つ酵素を用いて効率的にオリゴ糖を生産する方法を開発する。それにより付加価値を持つオリゴ糖の生産法や褐藻類の新規利用法を提案する。

研究の成果

- 本研究により酵素の作製法およびオリゴ糖生産法の2つの大きな成果が得られた。
1. 放線菌 *Kribella flavida* DSM17836からラミナリペンタオース(L5)を特異的に生成する酵素遺伝子の取得に成功した。大腸菌発現系において本酵素KfGH64の過剰発現が確認でき、1ステップでの精製が可能であることを示した。
  2. KfGH64はラミナリンを加水分解することが可能であり、生理活性を有する5糖以上のオリゴ糖を効果的に作製することができた。カードランは $\beta$ 1→3グルカンの多糖であり、カードランの前処理条件を検討することで約70% (w/w) の分解が可能となった。それにより簡便にL5の作製ができるようになった。

将来展望

$\beta$ 1→3グルカンは免疫賦活化能や抗腫瘍性作用を持つ多糖であり、同様にラミナリオリゴ糖も生理活性を持つ。多糖では分子量、分枝の違い、コンフォメーション構造などに多様性があり、どの性質が生理機能の発現を担っているか突き止めるのが難しい。しかし多糖およびオリゴ糖における活性の発現はデクテン-1糖認識タンパク質を介して行われることから、オリゴ糖構造による自然免疫発現の仕組みを知ることが有意である。本研究によりラミナリオリゴ糖の簡便な生産法が確立できた。今後はこれらを用いて生理活性が発現するメカニズムの解明、またKfGH64の活性を利用した褐藻類におけるラミナリンの生理機能判定につなげていきたい。

