

マイタケプロテアーゼの動物性タンパク質と植物性タンパク質への作用の違い

班員 畝 くるみ、四方 帆奈美、原田 ありさ、渡邊 柚月
担当教諭 荒邦 陽子

キーワード：マイタケ、タンパク質、プロテアーゼ、分解酵素

Main purpose of maitake protease is decomposing fallen leaves and trees. So, we thought that maitake protease will decompose vegetable protein easier than animal protein. We researched the action on animal protein and vegetable protein that maitake have. As a result, maitake protease can decompose both of animal protein and vegetable protein. In addition, there are proteins which maitake protease cannot decompose easily even if it is best temperature for maitake protease to decompose.

1 はじめに

マイタケは食用として親しまれている担子菌門トビモイタケ科のキノコである。先行研究からこれらは木や落ち葉を分解して養分を吸収する腐生性のキノコであり、木や落ち葉のタンパク質を分解するために必要なタンパク質分解酵素であるマイタケプロテアーゼを、他のキノコに比べ多量に持つことが知られている（図1）（西脇、2010より）。マイタケを入れた茶碗蒸しが固まらないことはよく知られているが、これもマイタケプロテアーゼの影響であり、マイタケプロテアーゼが鶏卵に含まれるタンパク質を分解することでタンパク質が熱凝固できなくなるのが原因である（引用）。

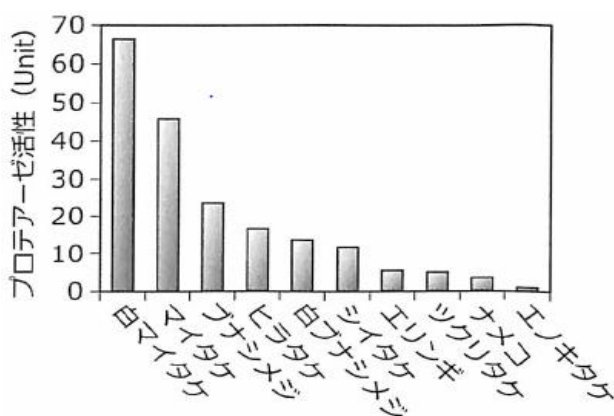


図1 食用担子菌子実体（市販キノコ）のプロテアーゼ活性（西脇、2010より）

木や落ち葉を分解することであるため、植物性タンパク質をよく分解し、動物性タンパク質を分解しにくいのではないかと考えた。そこで本研究では動物性タンパク質と植物性タンパク質に対するマイタケプロテアーゼの作用の違いに注目し実験を行った。

2 マイタケプロテアーゼの動物性タンパク質と植物性タンパク質に対する作用

マイタケは植物性タンパク質を動物性タンパク質よりも分解するという仮説の下、実験1を行った。動物性、植物性の、それぞれ数種類の基質を用意し、マイタケプロテアーゼを作用させ、どれだけ作用したかをニンヒドリン反応の色の変化から計測した。同時に、常温で作用させる常温条件と、最適温度で作用させる最適温度条件で活性の様子を比べることで、マイタケプロテアーゼの活性の違いを調べた。

材料

タンパク質(0.25gまたは0.25mL)を溶かした水溶液、マイタケ抽出液、ニンヒドリン液(1.0w/v%)

ゼラチン、ヤギ由来の抗B血清、鶏肉、無調整豆乳、小麦粉

私たちはマイタケプロテアーゼの本来の働きが

ここでマイタケ抽出液作成方法は、次の方法で作

成した。

マイタケと、マイタケの半分の重さの1%濃度の食塩水をミキサーに入れて、すりつぶした。すりつぶしたマイタケをガーゼでこし、抽出した液を24時間以上おいた。この液を、整水皿に入れ冷凍したものを必要に応じて解凍し、実験に用いた。

方法

(1) 反応させたタンパク質

ゼラチン、血清、鶏肉、豆乳、小麦

(2) (1)を溶かした水溶液 5mL にマイタケ抽出液を 0.25mL 加え、常温(25℃)と最適温度(60℃)で5分間反応させた。

(3) (2)にニンヒドリン液 3mL を加え 10 分間 90℃で湯煎して加熱し反応させた後、10 分以上常温(25℃)で放置して反応を完全に終わらせた。その後、吸光度を yamato の PiCOEXPLORER で測定した。3回測定し、それぞれの条件の吸光度の値の平均を求め、常温条件と最適温度条件の吸光度の平均値に差があるか、t 検定を用いて調べた。

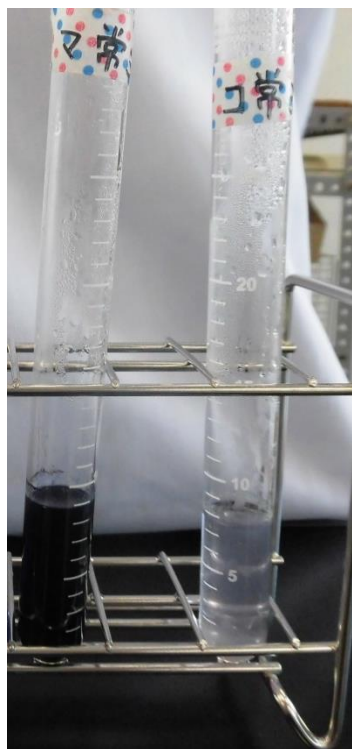


図2 ニンヒドリン反応後の試験管の様子
左：マイタケ入り水溶液
右：コントロール水溶液

結果

表1 動物性タンパク質の基質ごとのニンヒドリン反応の有無

	動物性タンパク質		
	ゼラチン	血清	鶏肉
常温	○	○	○
最適温度	○	○	○

表2 植物性タンパク質の基質ごとのニンヒドリン反応の有無

	植物性タンパク質	
	豆乳	小麦
常温	○	○
最適温度	○	○

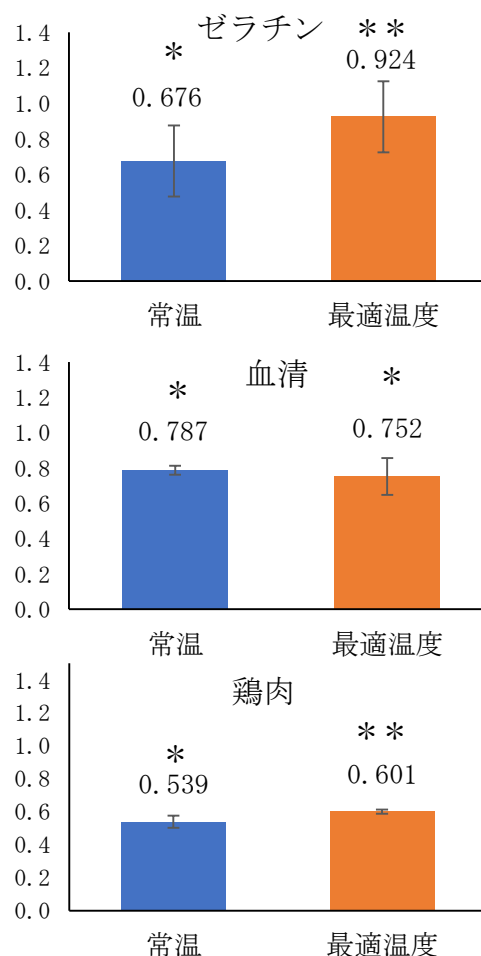


図3-1 動物性タンパク質での常温、加熱時の吸光度(上：ゼラチン、中：血清、下：鶏肉)

(異なるシンボル間で有意差あり $p < 0.05$, t-test)

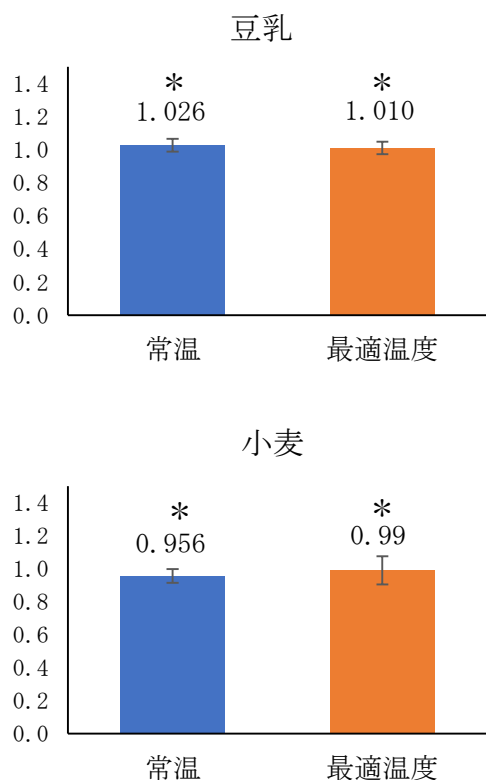


図3-2 植物性タンパク質での常温、加熱時の吸光度(豆乳、小麦)
(異なるシンボル間で有意差あり $p < 0.05$, t-test)

考察

マイタケプロテアーゼは動物性タンパク質と植物性タンパク質のどちらも分解できることが分かった(表1, 2)。また、血清、豆乳、小麦において、常温条件と最適温度条件の吸光度に有意差がなかった(図3)。これは、これらの実験でマイタケプロテアーゼによる分解を反応時の温度に関係がなかったことを示す。この理由として、①60℃でタンパク質が熱変性したことによる影響や、②最適温度であってもマイタケプロテアーゼの活性が高くない基質があることが考えられた。

3 熱変性後のタンパク質に対する活性

熱によるタンパク質の変性と、マイタケプロテアーゼの作用について調べるために、タンパク質を熱変性させた後に、マイタケプロテアーゼを加

え、反応を見た。実験では、ガスバーナーで十分加熱した鶏肉を用いた。それ以外の実験方法は実験1と同じである。

結果

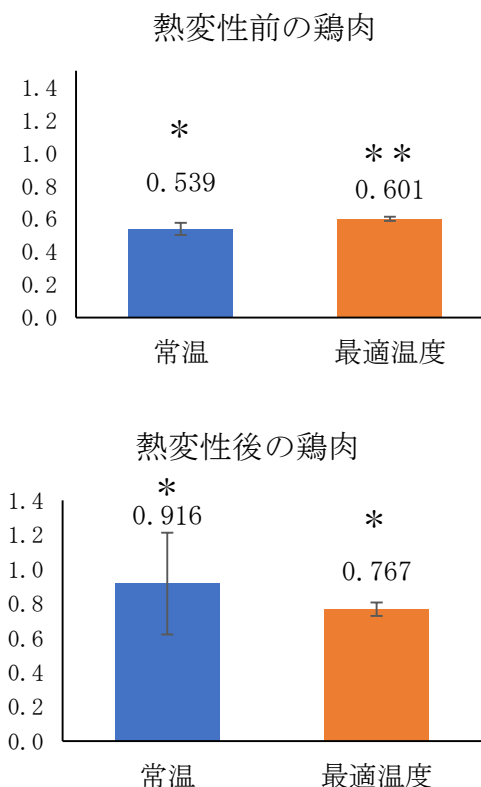


図4 熱変性前(実験1)と熱変性後(実験2)の鶏肉での吸光度

考察

吸光度の値はコントロールを基準とした相対値であるため、有意差の有無で反応の変化を判断する。熱変性前が常温条件と加熱条件で有意差があり最適温度でよく分解したのに対し、熱変性後はこれらの中で有意差がなくなった。このことから、マイタケプロテアーゼは熱変性した基質を十分に分解できないと考えられる。

4 熱変性前の血清に対するマイタケプロテアーゼの活性

実験2よりマイタケプロテアーゼは最適温度であっても熱変性したタンパク質に対しては活性が

高くならないことが分かった。また、調べたところ実験1で用いた無調整豆乳と小麦粉は製造過程で加熱をされており、熱変性したタンパク質を使ったと分かった。それらに対して、血清は製造過程で熱変性されていないが最適温度 60℃では変性すると分かった。この血清を用い反応温度によるマイタケプロテアーゼの活性の違いを調べた。

方法

(1) 反応させたタンパク質

ヤギ由来の抗B血清

(2) (1)を溶かした水溶液 5mL にマイタケ抽出液を 0.25mL 加え、常温(25℃)と、40℃(血清が熱変性しない温度)湯煎で加熱したものをそれぞれ 5分間反応させた。

(3) (1)(2)以外は実験1と同様

結果

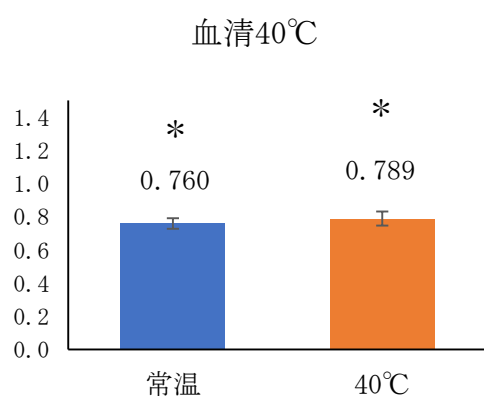


図5 血清を40℃で反応させた後の吸光度

考察

熱変性しない40℃の条件でも、常温条件と40℃の吸光度の値に有意差がなかったことから、血清においては、反応温度とマイタケプロテアーゼの作用には関係がないと考えられる。

5 まとめ

実験1より、マイタケプロテアーゼは動物性タンパク質も植物性タンパク質も分解できる

とわかった(表1, 2)。また、ゼラチン、鶏肉は常温条件と加熱条件の間に有意差があったが、その他の基質である血清、豆乳、小麦では有意差がなかったこと(図3)、実験2より、マイタケプロテアーゼは熱変性したタンパク質に対しては、最適温度であっても常温(25℃)よりも活性が高くないことから(図4)、変性したタンパク質では最適温度であっても活性が高くない可能性と、マイタケプロテアーゼの最適温度であっても活性が高くない基質があることが考えられる。

豆乳、小麦は製造過程で加熱をされており、実験1の前に熱変性していた可能性が高い。血清は製造過程で加熱をされていない。実験3より、血清は熱変性しなくても常温条件と加熱条件の間に吸光度の差がないため(図5)、マイタケプロテアーゼの最適温度であっても活性が高くない基質であると考察できる。

6 参考文献

西脇俊和.マイタケ由来タンパク質分解酵素の食品加工への利用. 農業および園芸. vol.856, 2010. p 601-608.

内田和寿、杉本瑞樹、鈴木健太、高田晋大朗、堀田峻祐. マイタケ由来プロテアーゼの最適温度の検討. 厚木高校研究活動記録. 2017.