

酵素の基礎知識 ～酵素の利用と活性測定法～

はじめに

最近、「酵素ダイエット」「酵素ジュース」「酵素パワー」のように酵素という言葉をよく耳にします。確かに酵素は人間にとって、健康を維持するために必要不可欠なものです。さらに、製糖や製油のように工業的にも酵素は様々なところで利用されています。しかし、酵素というものは多種多様で一概に酵素を利用するといっても正しい知識が必要となります。

今回は酵素の基礎知識と、その活性測定法、さらに酵素に関連する機能性評価法をご紹介します。

酵素の働きについて

酵素はある化学反応を触媒します。例えば、ある分解酵素は AB という物質を A と B に分解する反応を触媒します。これは酵素の働きのなかでもよく知られているものです。アミラーゼはデンプンを分解し、プロテアーゼはタンパク質を分解します。また、酵素はこのような分解反応を触媒するものだけではなく、その他の様々な反応を触媒するものもあります。一般に化学反応には熱や光などの大きなエネルギーを必要とし、小さいエネルギーでは長い反応時間が必要になります。触媒は、自分自身は変化することなく、仲介する反応速度を速める、つまり反応に必要なエネルギーを小さくするものです。酵素を使用することにより、反応に必要なエネルギーを少なくし反応時間を短くすることができます（図-1）。

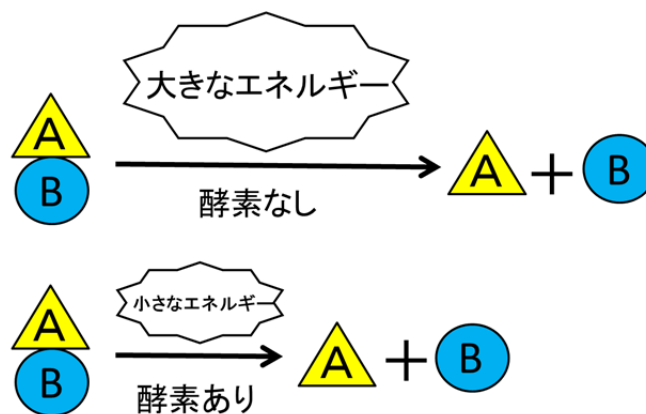


図-1 酵素の触媒作用の例

酵素の一番の特徴として基質（反応）特異性があります。基質とは図-1における物質 AB のような酵素によって化学反応を触媒される物質のことです。基質（反応）特異性とは酵素がある基質（反応）のみを触媒することです。これらの触媒と特異性の二つの働きにより酵素は省エネルギーで目的の働きのみを行うことができるので生物にとってなくてはならないものであり、工業的にも利用価値が高く効率的な生産に必要不可欠なものなのです。

酵素活性

酵素はそれぞれで触媒する力が異なります。このため酵素の量、つまり酵素というタンパク質がその食品に何 g 含まれているかどうかでは酵素の力を評価することはできません。同じ 1 g の酵素でも触媒する力は異なるからです。そこで酵素は酵素活性（力価）で評価します。酵素活性とは酵素の触媒能力の尺度のことです。酵素活性の単位には一般的に「単位」や「Unit」が用いられます。ここで重要になるのは単位の定義です。単位の定義が異なれば同じ数字でも異なる活性を意味します。単位の定義には主に酵素活性の測定条件が記載されています。特に用いた基質、反応温度、反応 pH を明記することは必須です。一例として弊財団の中性プロテアーゼの単位の定義は以下のようになっています。

「カゼイン（乳製）を基質とし、38 ℃、pH6.0 において、反応初期の 1 分間に 1 μ g の L-チロシンに相当する非たん白性のフェノール試薬呈色物質の増加をもたらす活性を 1 単位とした。」

この定義から基質にカゼインを用い、反応温度は 38 ℃、反応溶液の pH は 6.0 ということがわかります。酵素活性はこれまでに述べたように活性測定条件が重要で、測定に用いた条件によって活性を示す数字が異なってしまふことがあります。何かの酵素活性を測定した際に、もしもその結果がすでに示された値と異なっていた場合には、それぞれの単位の定義と測定条件を確認する必要があります。弊財団ではどのような条件で測定したかを明記するために酵素項目の成績書には必ず単位の定義を記載しています。

酵素の種類

酵素は、大きく消化酵素と代謝酵素の二つの種類に分けられます。消化酵素は摂取した栄養素を分解して体に吸収しやすくする酵素で、代謝酵素は吸収した栄養素をエネルギーにする酵素のことです。食品や工業的に利用されている酵素のほとんどは消化酵素です。ここでは消化酵素のなかでも一般的に知られているアミラーゼ、プロテアーゼ、リパーゼについてご紹介します。

① アミラーゼ（ジアスターゼ）

アミラーゼは、デンプン分解酵素のことで、別名ジアスターゼとも呼ばれています。生体内では唾液などに含まれており、比較的熱に強い種類が多く存在します。工業的には製糖によく利用されています。また、はちみつについてはジアスターゼナンバー（DN）として評価されています。これは、はちみつのジアスターゼ活性が加工や偽和により小さくなるからです。このため国産天然はちみつ規格指導要領では DN=10 以上と定められています。アミラーゼには異性体が多く、デンプンをランダムに分解する α -アミラーゼ、マルトース単位で分解する β -アミラーゼ、グルコース単位で分解するグルコアミラーゼ等が知られています。

アミラーゼの活性測定は基質にデンプンを用いて、ヨウ素デンプン反応によりデンプンの分解された時間で活性を算出します。他にもデンプンから生成された還元糖を測定する方法やブルースターチを用いた方法などがあります。

② プロテアーゼ

プロテアーゼは、タンパク質を分解する酵素のことです。生体内では胃液などに含まれており、食品では舞茸やパイナップルなどに含まれています。また、種類も多くパパイヤ、パイナップル、キウイ及びイチジクではそれぞれパパイン、ブロメライン、アクチニジン及びフィシンという固有の名称を持つプロテアーゼもあります。特徴として種類によって至適 pH が大きく異なることが挙げられます。また果物由来のプロテアーゼはシステインプロテアーゼと呼ばれ、活性測定の際にシステイン等の還元剤で還元させないと酵素活性が低くなる可能性があります。その他、納豆には血栓を溶解することで知られているナットウキナーゼというプロテアーゼが含まれています。

プロテアーゼの活性測定には一般的に乳性タンパク質であるカゼインが基質として用いられますが、ヘモグロビンなども用いられることもあります。また、ナットウキナーゼには血栓に関わるタンパク質であるフィブリンが用いられます。酵素反応後はフェノール試薬や UV 法でタンパク質を測定し活性を算出します。プロテアーゼは至適 pH が多様なため活性測定の際には pH に注意する必要があります。

③ リパーゼ

リパーゼは、脂質分解酵素で主にグリセリンと脂肪酸のエステル結合を分解します。熱に弱いものが多く失活しやすい酵素です。プロテアーゼとともに胃腸薬などの医薬品に多く使用されており、またリパーゼのなかでもリン脂質を分解するものはホスホリパーゼと呼ばれています。リパーゼは工業的に油脂の改質などによく利用されています。

リパーゼの活性測定は、基質にオリーブ油や Polyoxyethylene Sorbitan Monolaurate (Tween20) を用いて、遊離した脂肪酸量を中和滴定により測定することで活性を算出します。

この他にもセルロースを分解するセルラーゼ、過酸化水素を分解するカタラーゼ、ペルオキシド結合を分解するペルオキシダーゼなど様々な酵素が存在しています。

酵素阻害試験

生体内には血圧や血糖値を上昇させる酵素が存在します。通常生体内ではこれらの酵素の働きを抑える作用があるため問題ないのですが、その力が弱くなると高血圧や高血糖を引き起こす可能性があります。ある食品にはこれらの酵素活性を阻害する、すなわちこれらの酵素の働きを抑える成分が存在しています。ある食品にこれらの機能があるかどうかを調べる試験を酵素阻害試験と呼び、食品のひとつの機能性評価法として用いられています。血圧上昇にかかわるアンジオテンシン変換酵素 (ACE)、血糖値上昇に関わる α -グルコシダーゼ (AGH) の二つの酵素の阻害試験について紹介します。

ACE 及び AGH 阻害試験

肝臓で作られるタンパク質であるアンジオテンシノーゲンは腎臓から分泌されるレニンという酵素により分解されアンジオテンシン I というペプチドになります。このペプチドが ACE によってさらに分解されアンジオテンシン II になります。このアンジオテンシン II が受容体となり血管収縮やアルドステロン分泌を促進することにより血圧が上昇します。このため ACE 活

性を阻害することができればアンジオテンシンⅡが生成されず血圧の上昇を抑えることができます。

AGHはマルトースのようなオリゴ糖を分解してグルコースを遊離する酵素です。食品から摂取したデンプンは、まずアミラーゼによりオリゴ糖に分解されます。そのオリゴ糖はAGHによりさらに分解されグルコースとなり血液に吸収されます。そのため、AGH活性を阻害することでグルコースの遊離を防ぎ、血糖値の上昇を抑制することができます。

通常、酵素活性を測定する際は酵素に基質を加え、反応生成物を測定することとで酵素活性を算出します。一方、阻害試験は酵素と基質にさらに阻害物質を加えて、加えない場合と比較してどの程度酵素反応の進行を抑えるかを調べる試験です。つまり阻害物質を加えない活性を100%とした場合の相対活性(%)をもとに評価します。図-2にACE阻害試験の結果の例を示しました。この場合、検体2)は相対活性が5%しかなく、すなわち95%の酵素活性を阻害しているのが最も阻害力が強く、逆に検体3)は相対活性が95%であり、ほとんど酵素活性を阻害していないこととなります。また阻害試験にはIC₅₀という評価方法もあります。IC₅₀とはInhibitory Concentration 50の略で、酵素活性を50%阻害する時の試料濃度のことです。試料濃度を変えて阻害率を測定し図-3のようなグラフを作成し、阻害率が50%になる濃度をグラフから算出します。図-3の場合、IC₅₀は3.1 mg/mlとなります。薬剤ではこちらの評価法が広く用いられています。

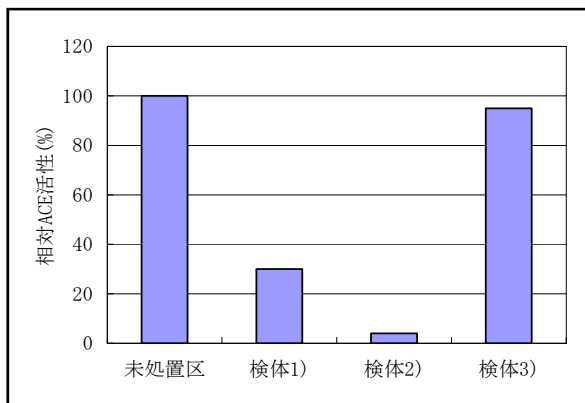


図-2 ACE阻害試験の一例

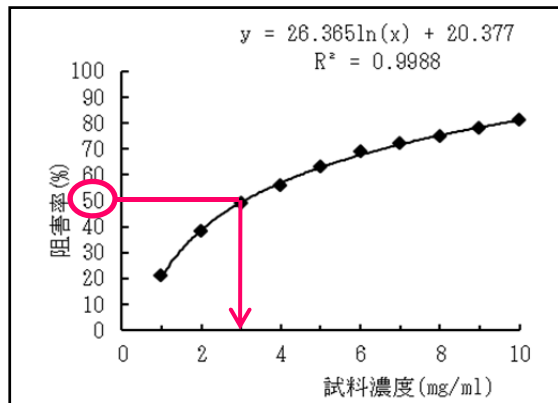


図-3 IC₅₀の一例

おわりに

冒頭で述べたように酵素は最近非常に注目されています。そのため酵素自体が本当に体に良いかどうかは色々なところで議論されています。酵素はタンパク質であるから胃酸で失活してしまう、または生体内の酵素により分解されてしまうなどの意見があります。一方で分解酵素を含む食品は、発酵食品のように栄養素そのものを低分子化し吸収しやすくするため健康に良いという意見もあります。食品から摂取した酵素の生体内での働きについては今後のさらなる研究成果が期待されるところです。いずれにしても本稿で述べたように酵素は非常に多種多様であるため、単に酵素を利用すれば良いわけではなく、目的に適した酵素を選択することが重要です。

最後に弊社では酵素活性、酵素阻害試験について種々の分析試験を実施しておりますので、お気軽にお問い合わせください。