HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	エゾアワビ・デンプン分解酵素の生化学的研究 ： α-アミラーゼとα-グルコシダーゼによる海藻からのグルコース生成［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	佐藤, 琢哉
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第11330号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/55420
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Takuya_Satoh_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）　　氏名：佐　藤　琢　哉

審査委員

主査	教授	澤　辺　智　雄
副査	教授	尾　島　孝　男
副査	教授	都　木　靖　彰
副査	准教授	井　上　晶

学 位 論 文 題 目

エゾアワビ・デンプン分解酵素の生化学的研究

－α–アミラーゼとα–グルコシダーゼによる海藻からのグルコース生成－

我が国の重要な水産生物の一つであるアワビ類の漁獲量は, 1970 年の 6500 t をピークに減少に転じ，近年では 2000 t 程度で推移している。1980 年代以降は，種苗生産，中間育成，稚貝放流などによりアワビ資源量の回復が図られてきたが，未だ漁獲量の増大につながっていない。アワビ資源の回復には計画的な種苗育成と放流事業が欠かせないが，これに加え種苗生産技術の革新につながる栄養効率に優れた人工餌料の開発も期待されている。より優れた餌料開発を達成するためには，アワビの消化酵素の生化学的特性や海藻分解能などの知見を集積する必要がある。本研究は，エゾアワビのデンプン分解酵素であるα–アミラーゼとα–グルコシダーゼに着目し，これらの酵素特性や一次構造などの基本性状の解明を目的とした。さらに，これらの酵素の海藻や陸上植物に含有されるデンプンの糖化能を調べ，アワビの人工餌料を設計するにあたりデンプンの有用性を検討したものである。研究成果の概要は以下の通りである。

１．　エゾアワビ消化液（胃腔内液）から分子量 58,000 および 82,000 の 2 種類のα–アミラーゼ，HdAmy58 および HdAmy82 を単離することに成功し，いずれもデンプンを分解しマルトースとマルトトリオースを生じることを明らかにした。また cDNA 法により一次構造を解析し，HdAmy58 は他種生物のα-アミラーゼと同様な約 500 アミノ酸残基から成る Glycoside hydrolase family (GHF) 13 タイプの触媒ドメインのみから成るが，HdAmy82 は GHF13 触媒ドメインの C-末端側に約 190 残基から成る付属ドメインを有することを明らかにした。

２． エゾアワビ消化液から分子量約 95,000 のα-グルコシダーゼ HdAgl を単離することに成功した。本酵素は，α–アミラーゼの作用によって生じたマルトオリゴ糖を分解しグルコースを生じることを明らかにした。また，HdAgl の一次構造を解析した結果，本酵素は 887 残基から成り，哺乳類の小腸上皮に存在するマルターゼ-グルコアミラーゼ (MGAM) やスクラーゼ-イソマルターゼ (SIM)，リソソーム中に存在する酸性α-グルコシダーゼ（GAA）と 40～46%のアミノ酸同一率を示すことを明らかにした。さらに，HdAgl の発現部位を RT-PCR により解析し，肝膵臓や貝殻筋，外套膜にも発現していることを明らかにした。この結果は，HdAgl 様の酵素が肝膵臓をはじめとする各種組織に発現している可能性を示している。この点について詳細に検討し，リソソーム由来と考えられる NaCl 依存型のα-グルコシダーゼが存在することを見いだした。

３． NaCl 依存型のα-グルコシダーゼ HdAglhp をアワビ肝膵臓抽出物から単離することに成功した。HdAglhp は KCl や NaCl のような中性塩の存在および pH 6.0 以下の酸性条件で活性化される点で消化液由来の HdAgl と異なっていた。また，デンプンやグリコーゲンに対する触媒効率は，HdAglhp の方が HdAgl よりも 5 倍～20 倍も高かった。これらの結果は，HdAglhp がグリコーゲン分解に適した酵素であることを示している。これらの結果に基づき，HdAglhp はリソソーム中でのグリコーゲン分解を触媒する酵素と推定した。なお，cDNA 法により HdAglhp の 933 残基のアミノ酸配列を解析し，それが HdAgl のものと 46%一致することを明らかにした。

４． エゾアワビ消化液のα-アミラーゼ HdAmy58、HdAmy82 およびα-グルコシダーゼ HdAgl を 6 種の紅藻と 2 種の緑藻に作用させた際，海藻中のα-グルカンから生成するグルコース量を検討した。その結果，海藻粉末 50 mg から 0.019～0.96 mg のグルコースを遊離することを明らかにした。特に，エゾアワビにとって好適な餌料として知られる紅藻のムカデノリ・スサビノリ，および緑藻のミル・アナアオサからのグルコース生成量は他の海藻に比べて高いことを明らかにした。これに加え，エゾアワビの酵素は陸上植物由来のデンプンも分解可能であることを明らかにした。特に粒子径の小さいコーンスターチおよび米粉はよく分解されることを明らかにし，陸上植物由来のデンプンもエゾアワビのグルコース源として有用であることを示した。

以上，本研究はエゾアワビにおけるデンプン分解酵素の酵素化学的特性について明らかにするとともに，海藻や陸上植物のデンプンに対する糖化能を解明したものである。本研究で得られた知見は，アワビの炭水化物源としてデンプンが有用であることを示すものであり，アワビの人工餌料の設計において重要な示唆を与えるものとして評価できる。よって，審査員一同は申請者が博士（水産科学）の学位を授与される資格のあるものと判定した。