

卵白リゾチームの甘味性に関する研究 (第1報)

—卵白リゾチームの甘味性とその構造に関する一考察—

古川真一・森島深雪

(家政科)

<緒言>

植物由来の甘味性タンパク質には、モネリン (西アフリカ原産の植物の実, *Dioscoreophyllum cumminsii* Diels, 通称 *Serendipity berry*) を代表にソーマチン (西アフリカ原産植物の実, *Thaumatococcus daniellii* Beth), ミラクリン (西アフリカ原産の植物の実, *Richadella dulcifica*), そして最近発見されたクルクリン (東南アジア, キンバイザサ科の植物, *Curculigo latifolia*) などのものがある¹⁾。いづれも重量比較での甘味度はショ糖の数百倍~数千倍に達すると言われている。現在, それらの分子構造と甘味性発現に関しての研究がなされているが, 分子構造上の甘味サイトを確認したという報告はない。一方, 動物由来のタンパク質中で甘味性を示すものの報告はほとんど皆無であり, 食品中に含まれるアミノ酸やジペプチドやトリペプチドなどオリゴペプチドの数種類に限定されている。我々は, ニワトリ卵白中に存在するリゾチームが, 上述の甘味性タンパク質ほどではないにしろ甘味性を有することを発見し²⁾, その甘味性に対して興味を持った。動物性タンパク質である卵白リゾチームの示す甘味性とその分子構造との相関が明らかになれば, 既報の植物由来の甘味性タンパク質との間でその分子構造において比較生化学的な検討が可能となり, そのことは最終的には甘味性を示すオリゴペプチドの人工開発においても大いに貢献するものと考えられる。

本著は, 安価な資材からの甘味性オリゴペプチド開発を最終目的として, 既報の化学構造上の Data をもとに, 既報の甘味性タンパク質と卵白リゾチームのアミノ酸一次構造を中心に比較検討し, 卵白リゾチームの甘味性を示す分子構造上の甘味サイトの存在位置を推測したものである。

<方法, 結果および考察>

卵白リゾチームの甘味性を示す分子構造上の甘味サイトの検索は, 1. 既報の甘味性タンパク質とのアミノ酸一次構造の比較, 2. 卵白リゾチームの立体構造上での検索の二つの方法により行った^{3),4)}。

1. 既報の甘味性タンパク質とのアミノ酸一次構造の比較

ソーマチン, モネリン, ミラクリンおよびクルクリンのアミノ酸一次構造と卵白リゾチームのアミノ酸一次構造を中心に比較検討した。検討した項目は, 1) アミノ酸の種類と数, 2) ホモトリペプチド, ホモジペプチドの種類と数, 3) 植物由来の甘味性タンパク質中存在するヘテロトリペプチドの存在とした。

1) アミノ酸の種類と数

既報の甘味性タンパク質と卵白リゾチームを構成するアミノ酸の種類と数の比較を行った。モネリンはAと鎖とB鎖を別々に比較検討した。Table 1に示されたように, 卵白リゾチームのアミノ酸中で含有量の多いものはアスパラギン, アラニン, グリシン, アルギニンおよびセリンであった。また, それぞれの甘味性タンパク質ではほぼ共通して多いアミノ酸残基は, アルギニン, アスパラギン, アスパラギン酸, グリシン, ロイシン, セリン, バリンなどであった。卵白リゾチームのアミノ酸残基においてこれらのアミノ酸と共通に多いのは, アルギニン, アスパラギン酸, グリシンおよびセリンであったが, 全体の卵白リゾチームのアミノ酸の種類と数における特徴はソーマチン, ミラクリンや, クルクリンの何れとも類似していなかった。

2) ホモトリペプチド, ホモジペプチドの種類と数

既報の甘味性タンパク質中のホモトリペプチド, ホ

Table. 1 Comparison of Amino acid sequence in the Sweet Proteins.^{6),7)}

Peptide	Thaumatococin	Monelin		Miraculin	Curculin	Lysozyme
		A	B			
Ala	16	2	1	6	6	12
Arg	12	5	2	11	7	11
Asn	10	1	4	6	13	13
Asp	12	3	2	13	9	8
Cys	16	0	1	7	5	8
Gln	4	1	2	3	6	3
Glu	6	3	6	9	0	2
Gly	24	3	5	17	14	12
His	0	0	0	1	3	1
Ile	8	2	6	8	4	6
Leu	9	4	2	10	13	8
Lys	11	4	5	12	4	6
Met	1	0	1	1	0	2
Phe	11	2	3	14	1	3
Pro	12	4	2	13	2	2
Ser	14	2	0	13	7	10
Thr	20	1	3	15	5	7
Trp	3	0	1	2	2	6
Tyr	8	5	2	7	5	3
Val	10	2	2	19	8	6
Total	207	44	50	191	114	129
N-terminal	Ala	Arg	Gly	Asp	Asp	Lys
M. W	21,000	10,700		24,600	12,000	14,800

Table. 2 Repeating tri-and di-peptide sequence in the Sweet Proteins.⁶⁾

Peptide	Thaumatococin	Monelin		Miraculin	Curculin	Lysozyme
		A	B			
Ala-Ala-Ala	1					1
Gly-Gly-Gly	1			1		
Pro-Pro-Pro		1				
Arg-Arg-Arg				1		
Asn-Asn-Asn					1	
Ala-Ala	2					1
Gly-Gly	3			1		
Asp-Asp	1					
Leu-Leu	1	1			2	1
Pro-Pro	1			1		
Thr-Thr	4			1		
Cys-Cys	1				1	1
Phe-Phe	1			1		
Ser-Ser	1			3		1
Trp-Trp						1
Lys-Lys			1			1
Ile-Ile		1				
Tyr-Tyr				1		
Val-Val				1		
Glu-Glu				1		
Arg-Arg					1	
Asn-Asn					1	

モジペプチドの種類と数の比較をした。Table 2はその結果と卵白リゾチームとの比較をまとめたものであるが、ソーマチンとミラクリンにおいては、ホモトリペプチドやジペプチドの数も種類もかなり多い。それに対して、卵白リゾチームアミノ酸配列中にも Ala-Ala-Ala, Asn-Asn-Asn のホモトリペプチドや数個のホモジペプチドが存在したが、ソーマチンやミラクリンなどとは類似してはいなかった。

3) ヘテロトリペプチドの種類と数

ソーマチンとモノニン中には5か所、ミラクリンとクルクリンでは4か所に類似のヘテロトリペプチドが存在することが報告されているが⁶⁾、これらのトリペプチドの存在を卵白リゾチームのアミノ酸配列で検索した。ソーマチン、モノニン間では、Thr-Arg-Gly, Ala-Asp-Ile, Ile-Asp-Ile, Asp-Ile-Ser および Gln-Tyr-Gly がミラクリンとクルクリン間では Pro-Val-

より明らかなように、卵白リゾチームの分子内で疎水性アミノ酸が局在する部分は、配列番号20-34, 53-63, 78-88, 105-111であった。また、その部分の疎水性力はそれぞれ80, 480, 77, 530, 61, 710および43, 760であった。この部分以外のアミノ酸は比較的親水性であり、甘味サイトの可能性を有することが考えられる。しかしながら、S-S結合と疎水性部位においては人間の有する甘味リセプターとの間で甘味サイトをつくるには障害が大きいものと考えられるため、それらを除いた親水性アミノ酸の部分で、しかも立体構造上リゾチーム分子の表面に露出している部分とそのサイトになり得る可能性が高いと考えられる。そこで、現在までに報告されている卵白リゾチームの立体構造図を用いてリゾチームの表面に露出しているアミノ酸配列部を検索した (Fig. 2)。それによると、アミノ酸

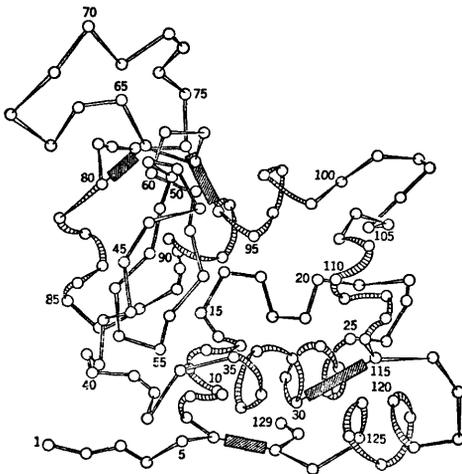


Fig. 2 Conformation of Egg White Lysozyme. (1965. Blake *et al.*)⁵⁾

配列番号の20~24部分, 41~51部分, 66~73部分および116~120部分が顕著であることが明らかになった。しかし、20~24部分, 66~73部分, 116~120部分には疎水性が強いアミノ酸配列やS-S結合があり、甘味サイトが存在する可能性としては低いと思われる。それに対して41~51部分は、ヘテロペプチドの Gly-Ser-Thr が存在すること、リゾチーム分子上では親水性アミノ酸が一番多い部分であること、またさらに、

表面に最も露出している部分でもあることなどから総合的にみて、甘味サイトの存在部分としては最も条件が整っている。このことから、リゾチームの41番目~51番目アミノ酸配列を、甘味性を示すアミノ酸分子構造上の甘味サイトと推定した。今後は、この部分を中心に1つの方法としてパーソナルコンピューターを用いて、卵白リゾチームの立体構造のシュミレーションによりさらに詳しく検索し、また実験的には、これらの位置のアミノ酸を化学修飾することや卵白リゾチームのポイントミューテーション合成法により立体構造を変化させ、そのことと甘味性との関連により明確な甘味サイト部の位置付けを行う予定である。

<要約>

甘味性を有する卵白リゾチームの化学構造を基に、その甘味性を示すアミノ酸配列の位置検索を行った。

甘味性を有する他のタンパク質、ソーマチン、ミラクリン、クルクリンにおける、アミノ酸の種類と数、ホモ・トリペプチドにおいては類似性はなかった。また、アミノ酸の疎水性度とリゾチームの立体構造による甘味サイト検索により、リゾチーム41~51番目のアミノ酸配列部が甘味サイトであると推定した。

<文献>

- 1) 栗原堅三 (1990): 味覚・嗅覚, 化学同人, pp. 25~71.
- 2) 森島深雪, 古川真一 (1990): 本学家政学研究会誌, No. 18, p. 15.
- 3) 林 勝哉, 井本泰治 (1974): リゾチーム, 南江堂.
- 4) 濱口浩三 (1990): 蛋白質機能の分子論, 学会出版センター.
- 5) 石井信一 (1977): タンパク質の化学修飾法, 廣川書店, p. 4.
- 6) R.B. Lyenger *et al.* (1979): *Eur. J. Biochem.* **96**, 193.
- 7) 社団法人日本生化学会 (1979): 生化学データブック I.
- 8) ジャンクラウドシェフテル等 (1988): 食品タンパク質ハンドブック N T S, p. 16.

(受理 平成4年7月6日)

Abstract

Studies on Sweetness of Egg White Lysozyme I

—On Relationships of Sweetness and Conformation
of Egg White Lysozyme—

Shin-ichi FURUKAWA and Miyuki MORISHIMA

(Department of Home Economics)

Sweetness of egg white lysozyme was investigated to speculate sweetness site on the primary amino acid structure. Results obtained were as follows.

- 1) Amino acid compositions (a kind and number of amino acid, homogenous di-peptides and tri-peptides, heterogenous tri-peptide) were not similar to those of other sweet proteins, such as Monellin, Thaumatin, Miraciline and Cruculine.
- 2) Sweetness site on the primary amino acid structure of egg white lysozyme was speculated to be amino acid number of 41—51 region by analysis of hydrophobic regions on the amino acid sequences and profiles of the conformation.

(Received July 6, 1992)