

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 13589 号
------	---------------

氏 名 今井 健人

論 文 題 目

中長鎖生理活性ペプチドの探索と産業利用に関する研究
(Study on exploring of proteolyzable bioactive peptides and their industrial application)

論文審査担当者

主査	名古屋大学	教授	本多 裕之
委員	名古屋大学	教授	村上 裕
委員	名古屋大学	准教授	清水 一憲
委員	名古屋大学	教授	柴田 貴広

論文審査の結果の要旨

今井健人君提出の論文「中鎖鎖生理活性ペプチドの探索と産業利用に関する研究」は、天然アミノ酸からなる中鎖鎖の生理活性ペプチドの効率的な探索法と胃での加水分解を避けて腸に送達させる方法の開発に関する研究であり、高温焼成シリカゲルによる腸送達に成功するとともに、送達に適したペプチドの特徴を疎水度-等電点のグラフ上に明示的に明らかにし、その特徴に合致したペプチドの探索に使える多変量解析法を開発するとともにそれを食品タンパク質に応用することにも成功している。各章の概要は次の通りである。

本論文は、5章で構成されており、研究の背景を記述した序章に続き、結果を記述した第2章から第5章の4部で構成される。

第2章では、生体内で作用する生理活性ペプチドの多くは、全身の細胞や腸管内部で働くものがほとんどであるにも関わらず、生理活性ペプチドが経口摂取後、消化酵素によって分解され失活してしまうという課題に対して一つの解決策を提案している。すなわち、食品添加物としての使用実績豊富な多孔性シリカゲルに注目し、これを用いた生理活性ペプチドの腸デリバリー手法の開発を行った。その結果、焼成温度600℃で表面加工した孔径10 nmの多孔性シリカゲルを用いることで、疎水性かつ負電荷性といった限られた領域であるが、ペプチドを効率よくデリバリーできる可能性を示し、内部に担持したペプチドの60%をそのままの形でデリバリーできることを明らかにした。

第3章では、第2章で開発したシリカゲルの、苦みペプチドの除去担体としての応用を検討した。タンパク質は加水分解すると苦味ペプチドが産生し、風味を悪くしてしまうが、開発したシリカゲルの吸着特性を詳細に調べた結果、疎水性や塩基性といった苦みペプチドが持つ物理化学的性質のペプチドを中性条件下で選択的に吸着でき、その特性をポリスチレン系担体、活性炭などの担体との比較実験を行ったところ、焼成多孔性シリカゲルが最も苦味ペプチドに対する選択性が高く、また、加水分解物のなどの夾雑ペプチド存在下でも選択性が保持されることを明らかにした。さらに、実際に食品由来ペプチド混合物を対象物として、ヒトを使った官能評価を試みた結果、開発したシリカゲルで処理することで有意に苦味が除去できることも明らかにした。

第4章では第2章で開発したシリカゲルの生理活性ペプチドへの応用のため、実際にこのシリカゲルに適応できるペプチドの設計を行った。具体的には、生理活性を保持し、高い腸デリバリー能を持つdual functional peptidesの設計と設計指針の開発を行った。対象として胆汁酸結合活性を指標とするコレステロール吸収抑制ペプチドに着目した。既報で知られている11種類の胆汁酸結合ペプチドをベースに残基置換改変を行い、第2章で記述した物理化学的特徴カラーマップを利用し、スクリーニングを行った。その結果、6残基ペプチドIYWEMYのスクリーニングに成功し、このペプチドは陽性対象であるVAWWMYと同様に、高いミセル崩壊活性を有し、かつVAWWMYよりも高いシリカゲルによる腸送達特性があることを明らかにした。このことから、本章で提案された生理活性ペプチドの改変指針は、生理活性を保持しつつ、経口投与後、分解されない性質を付与する設計指針として有用であることが示唆された。

第5章では第4章で開発したペプチドの設計指針を、食品タンパク質由来ペプチドの探索に産業応用できるように改良を行った。第4章で作成した設計指針は、創薬などペプチドを自由に設計して良い条件であれば有用であるが、機能性食品開発の場合には多くの制限要素がある。そこで、多変量解析と、可食性タンパク質断片ペプチドデータベースを用いて設計指針の改良を行った。具体的には、スクリーニングすべきペプチドが持たなければならない性質として、①生理活性を保持していること、②天然タンパク質中にその断片があること、③疎水性で負電荷性の性質を持っていること、④酵素分解によって切り出し可能であること、の4点に着目し、これら4つの性質をすべて満たすペプチドをスクリーニングすることを目標に設計指針を改良した。その結果、前半3つの性質を備えたペプチドとして、VYVFDE、IFIYDE、WEFIDF、VEEFYC、ELYEFCという5種類のペプチドをスクリーニングすることに成功した。これらの中でも、VYVFDE、WEFIDF、VEEFYCの3種類はトウモロコシのレグミンタンパク質、トリ肉のミオシンタンパク質、銀杏のグロブリンタンパク質に含まれており、産業応用に都合のよい貯蔵タンパク質に含まれていることを明らかにした。また、酵素によるスクリーニングの結果、VEEFYCに関して、C末端にSが付いた形ではあるが、VEEFYCSという形で酵素サーモライシンを用いることで銀杏のグロブリンタンパク質から取り出せる可能性を示した。

以上のように本論文では、中鎖鎖の生理活性ペプチドの産業応用で課題になっている消化管内での分解を防ぎながら腸にまで送達できる新規手法の開発に成功した。また、この担体が苦みペプチドの除去に関して既存の吸着剤に比べて高い選択性を示すことも明らかにし、さらに、ペプチドの探索の段階でドロップアウト率の低いペプチドをスクリーニングできる指針を提案することに成功した。これらの評価方法並びに得られた結果は、経口投与を摂取方法とする食品添加物として使える生理活性ペプチドへの効率的な探索を実現するために重要であり、工学の発展に寄与するところが大きいと判断できる。よって、本論文の提出者である今井健人君は博士(工学)の学位を受けるに十分な資格があると判断した。