

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 13631 号
------	---------------

氏 名 伊藤 雅子

論 文 題 目

食品タンパク質由来コレステロール吸収抑制ペプチドの探索に関する研究

(Study on search for bioactive peptides suppressing cholesterol absorption from edible protein)

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	清中 茂樹
委員	名古屋大学	准教授	清水 一憲
委員	名古屋大学	准教授	柴田 貴広

論文審査の結果の要旨

伊藤雅子君提出の論文「食品タンパク質由来コレステロール吸収抑制ペプチドの探索に関する研究」は生理活性ペプチドの1つであるコレステロール吸収抑制ペプチドに着目し、その特徴である胆汁酸結合活性を指標に胆汁酸高結合ペプチドの探索を試み、主成分分析法でその物理化学的特徴を明らかにするとともに、実際の産業利用を想定し、食品タンパク質からの高結合ペプチドの探索を行い、塩基性アミノ酸を含むペプチドを製造することで簡便に高活性ペプチドが得られることを明らかにしている。各章の概要は以下の通りである。

第1章では、生理活性ペプチドの現状を整理するとともに研究の目的および意義を述べている。

第2章では、所属研究室で提案している小規模ペプチドライブラリーと主成分分析法を用いた探索法を用いて、胆汁酸に高結合するペプチドの探索を試みた。具体的には、まず4残基・512種類の基本ペプチドをペプチドアレイ上にライブラリーとして合成し、胆汁酸との結合活性について評価した。その結果を使って、基本ペプチドの物理化学的特徴量を変数とした主成分分析を行い、胆汁酸結合活性と相関のあるPCAモデルを選別した。選抜したモデルで、第1主成分(PC1)と第2主成分(PC2)を使ったPCスコアプロット図を作製し、高活性および低活性のペプチドが集中する領域を描出することに成功した。次に、この領域が胆汁酸との結合活性が高いペプチドの選択に有効であることを確認するため、4残基及び6残基の、各500個のランダムペプチドライブラリーをデザインし、PCスコアプロット図にプロットした。基本ペプチドを使用して決定した高結合領域と低結合領域に含まれるペプチドを合成し、胆汁酸結合活性を評価したところ、高結合と推定したペプチドの結合活性の平均は、低結合と推定したペプチドの平均より、4残基ペプチドで8.3倍、6残基ペプチドで3.0倍と高く、高結合ペプチドを選択できていることを明らかにした。

第3章では、第2章で探索できた胆汁酸に高結合する新規なペプチドの実用化を進めるため、特定した高結合ペプチドの特徴とペプチド製造法とを有機的につなげる方法を検討した。具体的には、胆汁酸に高結合する新規なペプチドの特徴を明らかとするため、結合活性を評価した4残基及び6残基の各90個のペプチドの、構成するアミノ酸と結合活性の観点から再評価した。任意の位置に、塩基性アミノ酸、リジン(K)、アルギニン(R)を含むペプチドは、それらを含まないペプチドより有意に胆汁酸結合活性が高かった。さらに、4残基及び6残基の、各500個のランダムペプチドのC末端アミノ酸をKまたはRに変換したペプチドの主成分分析を行い、変換前のペプチドのPCスコア図と比較した。変換後のペプチドで高結合領域に存在したペプチド数は、K、R共に著しく増加し、特に4残基をRに変換した場合において6割を越え、塩基性アミノ酸を有するペプチドが、胆汁酸に高結合なペプチドである特徴を新規に明らかにした。一般に、私たちが摂取するタンパク質は、酵素により加水分解されること、また、酵素には特異性があり、例えば、トリプシンはK、RのC末端側を、キモトリプシンはW(トリプトファン)、Y(チロシン)、F(フェニルアラニン)のC末端側を切断することが知られている。そこで、塩基性アミノ酸を有するペプチドの効率的な生産に、トリプシンの利用が有効であることに着目した。食品タンパク質として6種類の乳タンパク質、および米の主要なタンパク質であるグルテリンを選択し、これらのタンパク質のアミノ酸配列から、トリプシン分解により生成が想定される4、5、6残基ペプチド(乳タンパク質由来の22個、グルテリン由来の22個)を選出・合成し、胆汁酸ミセル崩壊活性を評価した。その結果、驚くべきことに44個中41個ものペプチド(93%)に活性があり、K、Rを含むペプチドは、胆汁酸ミセル崩壊活性を有する可能性が高いことが分かった。以上より、トリプシン分解で小分子ペプチドを分離するだけで、コレステロール吸収抑制ペプチドが効率的生産できることを明らかにした。

第4章では、本研究の結論と今後の展望を述べている。

以上のように本論文では、ペプチドの物理化学的特徴量を変数とした主成分分析により、胆汁酸と高結合する新規のペプチドの探索に成功し、塩基性アミノ酸(K、R)を有するペプチドが胆汁酸との結合活性が高いという新たな特徴を明らかにした。これらの評価方法並びに得られた結果は、トリプシンを使うことで食品タンパク質から簡便にコレステロール吸収抑制ペプチドを製造できることを明らかにしており、生理機能ペプチドの実用化のために重要な結果で、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伊藤雅子君は博士(工学)の学位を受けるに十分な資格があると判断した。