

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

主論文の要旨

論文題目 食品のおいしさを制御するペプチド分子の
構造活性相関および網羅的探索技術の開発

氏名 松本 凌

論文内容の要旨

1960年代から2010年代まで、食事から摂取されるカロリー量は増加しており、多くの国で肥満や糖尿病人口が増えている。肥満や糖尿病は心疾患など様々な合併症を誘発することで人々の生活の質（Quality of Life）を下げるだけでなく、少子高齢化社会を迎える我が国において医療費増加の原因となるため、「未病」の段階で生活習慣を改善することが重要である。

カロリーは主に3大栄養素である炭水化物・脂質・タンパク質から構成され、炭水化物、特に砂糖の過剰摂取は肥満・糖尿病の原因となる。食事中の砂糖使用量の削減は、肥満や糖尿病の発症リスク低減に繋がるため、食品・飲料メーカーは砂糖の一部または全部を高甘味度甘味料（HIS：High Intensity Sweetener）で置き換えた製品（焼き菓子、ソフトドリンク、乳製品、缶詰食品、ジャムなど）を販売している。

しかしながら、HISは砂糖の味を完全に再現できないのが課題である。たとえばHISは（1）高濃度で使用すると苦味・金属味・渋味などの異味を生じる、（2）砂糖にはない後甘味が残る、（3）短時間で繰り返し摂取すると甘味が減弱するなどの課題がある。これらの課題を解決するために他の呈味・香気成分（酸味料などの食品添加物や香料）を活用して食品の味バランスを調整しているものの、それら呈味・香気成分自体が持つ味や匂いが付与される、食品の開発コストが上がるといった別の課題が生じてしまう。それゆえ、上記課題を克服する新たなHISもしくはそれ単体では食品の味を邪魔しない甘味増強成分が求められている。

現在、新たなHIS・甘味増強成分を探索するために、甘味受容体（T1R2/T1R3）タンパク質を用いたスクリーニングが盛んである。たとえば計算科学的（*in silico*）ア

アプローチや細胞生物学的アプローチ (*in vitro*) によって、2010 年には T1R2/T1R3 Positive Allosteric Modulators (PAMs) が世界で初めて報告された。これら PAMs はスクラロースやスクロースの甘味強度を増強しつつ、使用濃度では苦味などの異味を呈さず、かつこれら 2 つの甘味料の甘味質にも悪影響を及ぼさなかった。それゆえ T1R2/T1R3 PAMs は、HIS が抱える課題を解決し得るツールとして期待が集まっている。しかしながら、なぜ T1R2/T1R3 PAMs が甘味を増強できるのか、構造的・機能的知見は未解明な部分が多い。

本論文では、より強力な T1R2/T1R3 PAMs の開発および T1R2/T1R3 と相互作用しやすい PAMs の化学構造解明を目的に、我々が過去に見出した 2 種類のペプチド型 T1R2/T1R3 PAMs (IN4260 および IN4150) を元に構造活性相関の検証を行った。また、ペプチド型の構造類縁体をより効率良く合成して構造活性相関の検証スピードを向上させる網羅的探索技術の開発も実施した。

本論文は、高甘味度甘味料と甘味増強成分 (第 1 章)、IN4260 の構造活性相関と新規テトラペプチドの同定 (第 2 章)、IN4150 の構造活性相関と各種 HIS に対する T1R2/T1R3 刺激活性の促進効果検討 (第 3 章)、遊離型ペプチドアレイによる新規呈味ペプチドスクリーニングシステムの開発 (第 4 章)、甘味増強成分・呈味ペプチド探索の今後の展望と解決課題 (第 5 章)、で構成されている。以下に各章の詳細について述べる。

第 1 章では、カロリー過剰摂取がもたらす社会課題、HIS の産業応用と課題、T1R2/T1R3 と PAMs、ペプチド型 T1R2/T1R3 PAMs についてまとめた。

第 2 章では、IN4260 の化合物構造を Head、Linker、Tail という 3 部位に分割し、それを元に 38 種類の構造類縁体を合成して構造活性相関を検証した。38 種類の構造類縁体がスクロースの T1R2/T1R3 刺激活性をどの程度促進するか評価し、Tail 部分の疎水性構造がスクロースの T1R2/T1R3 刺激活性の促進に寄与していることを見出した。また IN4260 と同等の促進効果を有する新規テトラペプチドの同定にも成功した。

第 3 章では、IN4260 と Linker 構造が異なる IN4150 の構造活性相関の検証を、19 種類の構造類縁体を新たに用いて実施した。Linker、Tail 構造の寄与度を考察すると共に、IN4260 および IN4150 に匹敵もしくは凌駕する新規化合物が取得できるか検証した。IN4150 の Tail 部分の疎水性が増強効果に寄与していることを再確認し、IN4150 によるスクロースの T1R2/T1R3 刺激活性の促進効果における重要構造を明らかにした。また IN4260 および IN4150 が、スクロース以外の甘味成分 11 種類の T1R2/T1R3 刺激活性を促進するか検討し、Linker 構造の差異で促進できる甘味成分

に違いがあることを見出した。

第4章では、ペプチド型 T1R2/T1R3 PAMs のような呈味ペプチド/呈味修飾ペプチドのペプチド-細胞相互作用や、食品添加物としてのペプチドの細胞内への送達機構、呈味ペプチドの安全性評価などをより効率的に実施するために、フォトリンカーペプチドアレイを活用したスクリーニングシステムの開発を行った。本章では、フォトリンカーペプチドアレイ 1 スポットからペプチド-細胞相互作用アッセイに十分なペプチド量が合成できること、呈味ペプチド/呈味修飾ペプチドの細胞内導入機序などを検証できることを実証し、新規技術として確立した。

第5章では、第2章から第4章を通じて得た結果・考察を踏まえて、T1R2/T1R3 PAMs の現状と課題を明確にすると同時に、今後の展望についてまとめた。

本研究では、ペプチド型 T1R2/T1R3 PAMs の Tail 部位構造がスクロースの T1R2//T1R3 刺激活性の促進効果に重要な役割を担っていることを明らかにした。さらに、構造活性相関の検証過程からスクロースの T1R2/T1R3 刺激活性を強く促進する新たなテトラペプチドを同定し、ペプチド型 T1R2/T1R3 PAMs の新たな構造的知見を見出した。また、ペプチド型 T1R2/T1R3 PAMs を効率よく合成でき、かつペプチド-細胞相互作用を幅広く評価できる新規ペプチドスクリーニングシステムも確立した。我々が見出した T1R2/T1R3 PAMs の構造的知見とスクリーニングシステムは、食品分野の開発に留まらず、未病を志向した創薬探索・開発の研究においても応用されることが期待される。