

卵白ペプチドナノファイバーを用いた疾患予防食品の開発

京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科・助教 和久 友則

■ 目的

ストレスや老化のために生体内で異常凝集したタンパク質は、細胞死を誘導してアルツハイマー病やパーキンソン病などの様々な疾患を引き起こすことが知られている。タンパク質の異常凝集の抑制は、これらの疾患の予防に重要である。助成者の研究室では、卵白の主成分タンパク質であるオボアルブミン(OVA)のN末端領域に相当するフラグメントペプチド (pN₁₋₂₂, acetyl-GSIGAASMEFCFDVFKELKVHH) に着目し、このペプチドによる病原タンパク質の異常凝集抑制について研究している。これまでに、pN₁₋₂₂ は中性 pH 条件下では球状のナノ粒子を形成する一方で、酸性 pH 条件下では線維状の会合体を形成することが分かっている。また、このナノ粒子はアルツハイマー病の原因タンパク質の異常凝集を抑制することも分かっている。本研究では、pN₁₋₂₂ が酸性条件下で形成するナノファイバーに着目し、これを基盤とするアルツハイマー病やパーキンソン病などの疾患予防食品を開発することを目的とする。一般的に、ナノ粒子などのペプチド会合体を食品として経口投与すると、胃中での酵素消化によって分解され活性を失うという問題点がある。ペプチドナノファイバーはβシートが規則的に積層した構造をとるため、酵素消化を受けにくく、生体内での安定性の高い凝集抑制剤となることが期待される。

■ 方法

pN₁₋₂₂ ペプチド、その断片ペプチド (pN₁₋₈, pN₁₋₁₆, pN₉₋₂₂, pN₁₀₋₁₆) および改変ペプチド (pN(0), acetyl-GSIGAASMKFCFDVFKELKVHH ; pN(-1), GSIGAASMEFCFDVFKELKVHH ; pN(+5), acetyl-GSIGAASMKFCFKLVFKLVHH-amide, 下線部が改変部位) を 100mM リン酸カリウムバッファー (pH 2.2) に溶解し、65°C で 1 時間加熱した。ペプチドが形成する会合体の形態は電子顕微鏡により観察した。ペプチドの二次構造は円二色性分光光度計により測定した。

■ 結果および考察

pN₁₋₂₂ を疾患予防食品として実用化するためには、腸管吸収や脳内移行性を促進するための配列をさらに付加することが必要であるが、ペプチドの鎖長はできるだけ短いほうが好ましい。そこでまず、22 残基の配列中でナノファイバー形成に必要な領域 (ミニマル配列) を明らかにするために、4 種類の断片ペプチド (pN₁₋₈, pN₁₋₁₆, pN₉₋₂₂, pN₁₀₋₁₆) および 3 種類の改変ペプチド (pN(0), pN(-1), pN(+5)) を設計し、その自己組織化挙動と二次構造形成挙動について調べた。その結果、N 末端および C 末端側の 6-14 残基を削除することで、ナノファイバー形成能を失うことが分かった。また、N 末端の脱アセチル化、9 残基目のグルタミン酸のリシンへの置換、9、13、17 残基目の酸性アミノ酸のリシンへの置換によっても、ナノファイバー形成能が失われることがわかった。また、pN₁₋₂₂ が形成するナノファイバーがインスリンの凝集に与える影響を評価したところ、タンパク質の凝集を促進することが明らかになった。一方、pN₁₋₂₂ ペプチドの酸性アミノ酸をすべてリシンに置換したペプチドは、タンパク質の凝集を抑制することが分かった。

■ 結語

将来的な pN₁₋₂₂ ナノファイバーの機能化を念頭におき、ナノファイバー形成に必要なミニマル配列を特定することを目的として pN₁₋₂₂ の断片ペプチドおよび改変ペプチドの会合体形成を調査した。しかし、今回設計したペプチドはいずれも pN₁₋₂₂ とは異なる挙動を示した。従って、今回の検討で改変した部位はいずれもナノファイバー形成に重要であり、ミニマル配列を特定するためには今回得られた知見を基にしたさらなる検討が必要である。また、pN₁₋₂₂ が形成するナノファイバーはタンパク質の凝集を促進する性質をもつことがわかった。一方、pN₁₋₂₂ ペプチドの酸性アミノ酸をすべてリシンに置換したペプチドは、タンパク質の凝集を抑制することが分かった。今後、この知見をもとに、pN₁₋₂₂ ナノファイバーのタンパク質異常凝集抑制機能を改善することをねらいとして、ナノファイバー形成能に影響を与えない領域をカチオン性残基に置き換えたペプチドを設計する。