

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	難溶性ペプチド群の機能評価を可能とする“双性イオン液体”の開発				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	伊藤 圭祐
	研究分担者	所属・職名	金沢大学・生命理工学類 ・准教授	氏名	黒田 浩介
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	伊藤 圭祐

講演題目
双性イオン液体を用いた CaSR 活性化ペプチドの探索
研究の目的、成果及び今後の展望
ペプチドは様々な機能を有する生体分子であり、各種疾患に対する医薬品、あるいは機能性食品の有効成分として開発が進められている。しかし、候補となるペプチドの 95%は難水溶性であり、in vitro/vivo の試験で評価できないため、スクリーニング段階で除外されているのが現状である。これら難溶性ペプチド群の大部分は DMSO などの有機溶媒にも不溶であり、また、溶けたとしても有機溶媒の毒性により in vivo 試験に適用できないことが多い。先行研究において、新たな溶媒としてアミノ酸のように双性イオン構造をもつ液体“双性イオン液体”が開発された。双性イオン液体は、いくつかの難溶性ペプチドを溶解できたことに加え、細胞毒性・生体毒性が極めて低いことから、in vivo 試験にも利用が期待できる。実際に先行実験において、非水溶性ペプチドのインスリンを双性イオン液体へ溶解し、マウスへ投与したところ、血糖値が正常に低下することが確認された。これらの事実は、双性イオン液体を用いることで難溶性ペプチド群の機能解析が可能になることを示唆している。そこで本研究では、双性イオン液体のペプチド溶解性を調べるとともに、GPCR への作用を in vitro で解析することで、難溶性ペプチド群から機能性成分候補を探索するための基盤技術を確立することを目的とした。 本研究では Class C GPCR の一種である CaSR を活性化させる機能性ペプチドの探索を進めた。CaSR は Ca^{2+} 恒常性の維持に加えて多くの組織において様々な生理機能に関与する。また近年では“コク味”の受容体として働くことも示唆されている。予備検討において、CaSR がタンパク質であるリゾチームによって活性化することを見出したことから、リゾチームのアミノ酸配列を元にした 300 種類以上のペプチド群を合成し、双性イオン液体を用いて各ペプチドの CaSR 活性化能を解析した。その結果、CaSR の応答評価に用いる宿主細胞の HEK 細胞に対して双性イオン液体は顕著な毒性を示さず、また水にはほとんど溶解しなかった複数のペプチドを溶解することも明らかとなった。最終的に見出した高機能ペプチドは、医薬品として用いられているシナカルセトには及ばないものの、リゾチームタンパク質と比較して 80 倍以上、既知 CaSR 活性化成分であるスベルミンやプロタミンと比較して 10 倍以上高い CaSR 活性化能を有していた。以上の結果より、双性イオン液体は機能性ペプチドの探索における優れた溶媒となる可能性が示唆された。