

# ペプチド高含有醤油の血圧降下作用について

仲原 丈晴

(キッコーマン株式会社 研究開発本部)

醤油はアジアの伝統的な調味料であり、塩味や旨味、香りを付与するために現在では世界中で広く用いられている。しかしながら、醤油に含まれる塩分が血圧を上昇させるイメージを持たれる場合があり、高血圧の抑制が求められる現代社会においては醤油の持つ課題のひとつとなっている。このような背景から我々は、血圧降下作用を有した醤油（しょうゆ加工品）の開発を目指し、研究を行った。

醤油は、機能性飲料などと比較すると1日あたりの摂取量が少ないため、この中に有効量の機能性成分を含有させることは溶解性やコスト、おいしさの点で多くの技術的困難があった。そこで我々は、従来の醤油にも発酵によって微量のペプチドが生成していることに着目した。このペプチドは、醤油諸味中で原料タンパク質が麹菌プロテアーゼによる分解を受けて生じたものであるが、一般的な醤油ではその大部分はペプチダーゼによってさらに遊離アミノ酸まで分解され、一部の分解されにくいペプチドが最終製品の醤油にまで残存することが知られていた。一方、1990年代以降、アンジオテンシンI変換酵素（ACE）阻害作用を有する食品由来のペプチドが血圧降下作用を発揮することが報告されていた。そこで本研究ではこれらの知見を組み合わせ、醤油の醸造条件を最適化し、諸味中のペプチダーゼ活性を適切にコントロールすることによってACE阻害ペプチドの含量を増加させれば、血圧降下作用を有した醤油が開発できると考えた。研究の結果、通常の醤油と比較してACE阻害ペプチド含有量が顕著に多い醤油（しょうゆ加工品）を開発することができ、経口摂取によって高血圧モデルラットや血圧が高めの人において有意に血圧が低下することを確認した。

これまでに報告された食品由来のACE阻害ペプチドは、食品タンパク質に市販のプロテアーゼ製剤を添加して製造したものがほとんどである。それに対し、本研究は醸造工程を工夫することで元々醤油が持っているACE阻害ペプチドの量を増加させるという、新しいユニークなアプローチであった。

本講演は酵母がメインプレイヤーとして登場するものではないが、ペプチド高含有醤油の開発研究の中で得られた新たな知見として、醤油諸味中の発酵条件と残存ペプチド量の関係、有効成分の同定と定量、動物試験による作用メカニズムの解明、ヒト試験による有効性と安全性の証明などについて紹介し、醸造物の機能性について議論を深める一助としたい。

# 分裂酵母の細胞の形態形成のしくみについて

中野 賢太郎

筑波大学 生命環境系

細胞の形はその生物機能や振舞いと密接に関連する。細胞ごとに固有な形状がどのようにつくられるか、そのしくみは厳密には種によって異なると思われるが、その根底には類似した分子基盤が存在するかもしれない。分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* は、細胞の形態形成の分子機構が比較的によく解明されたモデル生物である。その細胞形状は、長さ  $8-14 \mu\text{m}$ 、直径  $3 \mu\text{m}$  程の円筒形で、増殖に適した条件下では約 2.5 時間で倍加する。二分裂した娘細胞は、最初は隔壁が分離して露出した細胞端（新生端）ではなく、元の細胞端からのみ伸長成長する。やがて新生端からも伸長成長し、一定の長さに達すると細胞中央で隔壁を生じ、均等分裂する。数十年前から、*S. pombe* の形状が異常な突然変異体が単離されており、その原因遺伝子の解析から、細胞の形態形成の分子機構が国内外で広く調べられてきた経緯がある。これまでの報告を整理すると、分裂酵母の細胞の形態形成の基本的背景には、次の5つのしくみが存在する。すなわち、細胞成長を細胞端に限局化する1次元的な細胞極性軸の確立と維持のしくみ、細胞端以外の面で細胞成長を抑制するしくみ、細胞中央に分裂面を限定するしくみ、確実に母細胞が二分裂するしくみ、そしてこれらを DNA 複製や核分裂と連動するしくみである。この機会に、ささやかながら私が関わってきた Rho GTPase の機能や収縮環形成の研究を中心に、本研究分野について紹介させていただきたい。また、電子顕微鏡で細胞形状や細胞内構造を効率よく計測する手法（FIB-SEM、SBF-SEM）について、簡単に紹介させて頂けたら幸いである。

# ここまで来た! 酵母のタイトな変異体作製法

田中 誠司

国立遺伝学研究所・微生物遺伝研究部門

温度感受性変異 (temperature-sensitive mutation: ts) に代表されるような条件致死変異は、必須遺伝子の機能解析において有用かつパワフルなツールである。しかし、変異体の取得が比較的簡単な酵母においてさえ、機能解析を行うのに十分なタイトな変異を単離することは、労力を要する実験である。

この点を克服するべく、Varshavsky 研で開発された温度感受性デグロン (temperature-sensitive degron: td) は、目的遺伝子の転写とタンパク産物の安定性の両方を同時に制御することで、簡便にタイトな酵母高温感受性変異を得ることを可能にした画期的な系であった (Dohmen et al. 1994 Science 263:1273-6)。さらに、オリジナルの td 法ではタイトな変異が得られなかった遺伝子についても、系のさらなる工夫によりタイトな変異が得られることが、他研究室から報告されている。また近年、td 法とは別の新たな手法として、目的タンパク産物の分解を薬剤で制御する、オーキシンデグロン (auxin-inducible degron: AID) 法が鐘巻らにより開発された (西村 et al. 2009 Nature Methods 6:917-22)。AID 法は、目的タンパクの分解を薬剤添加のみで誘導できるという利点を持つ。しかしながら依然として、これらの方法では実験目的に適した十分タイトな変異体を得られないことも多く、そのような場合には、既存の ts 変異を td や AID と組み合わせることで、よりタイトな変異を単離することが試みられている。実際、このような手法が有効であることは多くの例で示されているが、独立の ts 変異が必要になることで、td 法や AID 法が追求して来た「簡便さ」が犠牲になることは否めない。

今回我々は、AID 法に転写制御を組み合わせるという改良を行い、従来の td 法や AID 法ではタイトな変異体を得ることができなかった遺伝子群について、その作製の「簡便さ」は維持したままでタイトな変異を取得することに成功し、同法を改良 AID 法 (improved auxin-inducible degron method: iAID 法) と名付けた。本発表では、DNA 複製関連因子での iAID 変異体作製を例にとり、その実際を紹介したい。

# 出芽酵母の TOR シグナル系を介した栄養センシング機構解明の試み

鎌田 芳彰

基礎生物学研究所 多様性生物学研究室・総研大

栄養は細胞にとって必要不可欠である。よって栄養環境を感知するシステムは重要な細胞機能であり、その解明は生命現象の基本的理解につながる。中でも窒素源（アミノ酸）はタンパク質の材料であり、アミノ酸栄養センシングはタンパク質合成に直結するので、アミノ酸センシング機構の研究は物質生産の向上、ミオパチーのようなタンパク質合成不全に起因する疾患の治療法の開発、寿命の延長などにも役立つと考えられる。

アミノ酸シグナル伝達系の中核として、必須の機能を担っているのが Tor (トア) 複合体 1 (Tor complex1, TORC1) である。Tor は真核細胞に広く保存されたプロテインキナーゼであり、2 種類の複合体、ラパマイシン感受性 Tor 複合体 1 (TORC1) とラパマイシン非感受性 Tor 複合体 2 (TORC2) を形成している。TORC1 は酵母からヒトまで真核細胞に保存されているため、TORC1 シグナル系を介したアミノ酸センシング機構、つまり TORC1 の制御機構も進化的に保存され、生育に必須の機能を持つと推測される。しかしながら、その実態は不明な点が多く残されている。

近年、TORC1 の制御因子として、Rag/Gtr GTPase を中心としたシステムが報告されてきた。しかしながら、それらの多くは出芽酵母に保存されていない、あるいは非必須遺伝子にコードされているなど、真核細胞に共通の必須な栄養感知メカニズムに大きな貢献をしているとは言いがたい。さらに、今年に入って Rag/Gtr GTPase システム以外の TORC1 制御メカニズムを示唆する報告が出始めた。では、細胞はどのようにして 20 種類のアミノ酸情報を取りまとめて TORC1 に伝えているのか？

私は、出芽酵母を用いて細胞内 TORC1 の活性化状態のモニター法を確立し、必須アミノアシル-tRNA 合成酵素(ARS)遺伝子の高温感受性変異体では、栄養豊富な条件においても TORC1 活性が低下すること、すなわち、ARS 遺伝子が TORC1 活性制御に関与することを見出した。この結果は、TORC1 がアミノアシル-tRNA (20 種類以上ある) をアミノ酸情報として認識することを示唆する。TORC1 が多岐に亘るアミノ酸情報を一括して感知するメカニズムについて考察したい。