



PEPTIDE NEWSLETTER JAPAN

No.64

2007 年 4 月

THE JAPANESE PEPTIDE SOCIETY

<http://peptide-soc.jp>

ペプチドは、宝の山

この度、編集委員の方から、ペプチドニュースレターにおいて<企業におけるペプチドの利用>という特集をするので執筆頂けないかと打診を受けました。このタイトルでは、当然ながら企業の事業目的により多種多様な利用が考えられます。わかり易い代表的なものとしては医薬品としてペプチドを利用することがありますが、kg オーダーの純品の合成法、安定性、薬としての投与方法など実現へ最もハードルが高いものといえましょう。最近では健康志向の中でサプリメントとしてのペプチドの利用などが話題となっています。

このような広い範囲の利用においては、話題が尽きないことと思いますが、それは他の適任者の方へお願いし、今回は、我田引水的に私の40年以上のペプチドとの関わりを回顧しながら、現在おります企業での利用をお話して、少しでも若い研究者の方々の参考になれば幸いと思い随想としてまとめることをお引き受けいたしました。

まず私のペプチドとの出会いは1968年大学4年生で、当時の九大理学部泉屋先生の教室へ入ったことからでした。抗菌性環状ペプチドの合成がテーマで、抗菌活性と構造の相関をアナログの合成から研究するものでした。今の多くのペプチド化学の研究室では見られないと思いますが、当時は保護アミノ酸もすべて手作りで合成し、溶媒なども蒸留して使用しなければなりません。化学の基礎技術の修得が重要でした（現代では、研究のスピードなどを考慮すれば、当社など試薬メーカーがすべて供給対応できるようになっています）。この間1970年頃でしたか、今では考えられないことですが、Merrifieldが発明した固相合成法を用いて Ribonuclease T1 とそのアナログを、手作りの合成装置で約1ヶ月間、4-5名のタッグチームで昼夜連続運転して合成したことも思い出です。

1973年から1980年まで、米国国立衛生研究所 (NIH) で留学、勤務しました。最初はペプチド合成の技術を買われて〔?〕合成屋として TRH や LHRH のアナログの合成研究をしました。デヒドロアラニンを用いたC端アミドペプチドの固相合成法の開発などを行いました。そのうち合成屋に飽き足らなくなり新しいペプチドの利用法を求めて研究の旅にでました。



松浦 脩治

1976年です。NMR を用いて蛋白の構造研究をしていたグループと共同で、¹³C-標識ペプチドを用いた蛋白-ペプチド相互作用の解析研究のため、¹³C-標識リボヌクレアーゼSペプチドを固相合成しました。この研究室には、全くペプチド化学のペの字もなく、しかたなくピリジンに溶けたフッ化水素酸が脱保護、脱樹脂に使えることを発見し、なんとか構造解析に寄与できました (J. Chem. Soc. Chem. Comm., 451-452, 1976)。

そしてその年、その後の私の研究方向を決定づける仕事に関与することになりました。それは、WHO 等との共同研究で、最終的にヒト胎盤ホルモン (HCG) に対する中和抗体を用いて避妊方法が開発できないかという大きなテーマの一部を担うものでした。ヒト胎盤ホルモン HCG は、妊娠初期に分泌され胎児の安定な着床に不可欠なホルモンです。普通一般に販売されている妊娠診断薬は、このホルモンを尿で簡便に検出することで妊娠を診断するものです。妊娠の維持に不可欠なホルモンですので、ワクチンのように抗体で中和することによって避妊法とならないかを検討するものでした。抗体を体内で作らせることによって自然に中和することを考え、このホルモンに対する抗体の研究が行われました。HCG というホルモンはヒトの下垂体から分泌される黄体ホルモン (LH) と非常に構造が類似しています。正常な状態でこの LH を中和してしまうと大変に危険なことになります。 α 、 β の2本鎖からなるホルモンですが HCG の β 鎖の C 端にだけ35アミノ酸の特異的な部分があるのが大きな違いです。そこでこの部分に対する特異的な抗体が最も特異性が高いということでこのペプチド部分の抗体を作成し性質を調べました。当然天然のペプチドよりも合成ペプチドを抗原として用いる方が簡単と考え、種々のペプチドを抗原として抗体を作成し、合成ペプチドで抗原決定部位のマッピングを行いました。当時はまだモノクローナル抗体の技術がなく、ウサギやヒツジに免疫してポリクローナル抗体を作成し、アッセイもすべてラジオイムノアッセイ (RIA) で大変でした。こうして私はペプチドを抗原として利用して抗体を作成し、その抗体を用いた測定アッセイ系を構築して対象とする物を測るという分野に入っていったわけです。確立したこの HCG 特異的なアッセイで検討した結果、妊娠とは関係なくヒト下垂体には HCG 様蛋白が存在することを発見し (Nature, 286, 740-741, 1980)、これを中和する場合の副作用の問題、またこの抗体の中和活性が低いなど問題も多く、避妊法としてのワクチン開発はなりませんでした。

その後1980年神戸大学医学部に移籍し、開発した

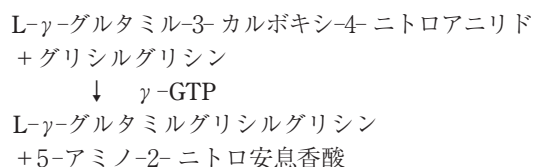
HCG 特異的なアッセイを実際の臨床の場において、婦人特有の癌であります絨毛癌の早期診断と治療後のフォローアップに応用して役立てることができました。自分の研究が実際の患者さんの役に立つ感激を味わって自分の道が見えました。

1984年現在の和光純薬工業（株）に入ってから以来23年、一貫して診断薬〔検査薬〕や研究用試薬の研究開発に携わっております。ここからが主題の企業におけるペプチドの利用の話になります。

まず当社の研究用試薬の事業というのは、研究者の皆様になじみが深いと思いますが、研究者の皆様の様々な研究活動を支援するという目標で行っております。ペプチド関連分野といいましても、ペプチドそれ自身、誘導体、化学合成用の試薬類、装置、ペプチドに対する抗体、精製用の試薬、装置、遺伝子工学でのペプチド作成用の試薬類など誠に多岐にわたります。研究のスピードアップを支援するため、自社で研究開発するだけではなく、ペプチド専門メーカー、ベンチャー企業、大学の研究者の方々などと提携をして、one-stop delivery store（当社に言って頂ければすべてが提供できる）体制の構築をめざし、世界の研究者のニーズに答えていきたいと願っております。

診断薬〔検査薬〕の事業は、研究者の皆様にはあまりなじみがないかもしれません。診断薬は、正式には体外診断用医薬品と呼ばれます。主にヒトの血液や尿を分析して病気の診断するのに使用します。簡単に言えば血液や尿中の物質をはかる分析試薬ですが、医師が病気の診断に使用するものですから、各国とも医薬品として位置づけられており、医薬品のように研究開発から製造販売まで厳重なデータ管理、品質管理が義務付けられており、販売するのには国の認可が必要です。販売にも薬価が決められております。

さて血液の中の物質を測って病気の診断をするとはどういうことでしょうか？ 血液はひとつの臓器ともいわれヒトの体で非常に重要な役目をしています。体の中の道路網として生きていくうえで不可欠な酸素やエネルギー源、蛋白資源などの運搬をしています。また体の各臓器などの機能を相互に維持するホルモンや生理活性物質を生産場所から作用する場所へ運搬する情報伝達もしています。つまりヒトが良好な健康状態を保つためのすべての情報が血液の中に詰まっているわけです。したがって血液中のいろいろな物質を測ることが、健康のバロメーターを知ることであり、それによって正常な状態からの崩れがあれば病気の状態を診断できるのです。例えば肝臓の炎症が起こると肝臓細胞から血液中にもれて出る γ -グルタミルトランスペプチダーゼ〔 γ -GTP〕という酵素があります。お酒を飲みすぎたときなどに少し上がりますが、すぐもとに戻ります。しかし炎症があるときは常に高く、悪化すればさらに上昇します。この酵素をはかるのには、ペプチド基質を利用しています。



酵素は血液中での濃度も高いものが多く比色法で測られることが多い項目です。また血圧調節系のレニンには酵素活性でみるなら合成ペプチド基質を用いますが、酵素蛋白質濃度でみるなら抗原-抗体反応を用いた免疫測定法が選ばれることになります。また一般にホルモンや腫瘍マーカー（がん細胞から産生され、これを測ることによって癌の早期診断に用いる）など重要な検査対象物質は、血液中で微量にしか存在しないため、高い検出感度が必要となり、やはり免疫測定法を用います。このような免疫測定法を作成する場合に、ペプチドは抗体を作成する免疫抗原として、また測定法で重要な標準物質として用います。抗体の結合部位の解析にもペプチドが必要です。

例として最近国内で初めて当社が開発したプロカルシトニン（PCT）測定法を紹介しましょう。プロカルシトニンは116個のアミノ酸からなるペプチドで、カルシトニンの前駆体です。1984年 J.M. LeMoullec らによってプレプロカルシトニンの全構造が決定されて（FEBS, 167, 93-97, 1984）以来、研究が始まりました。PCT は甲状腺で生成しますが、正常な代謝状態ではC端のカタカルシンと中間のカルシトニン、およびN端ペプチドに分解され血液には放出されません。測定法をつくり研究していたところ1993年に M. Assicot らが全身性の細菌感染症で血中に PCT が上昇することを見つけ発表しました（Lancet, 341, 515-518, 1993）。細菌感染症で誘導される PCT は、甲状腺以外でも産生されていることが推定されていますが、正確な機序は明らかではありません。

以来欧州で臨床研究が行われ、細菌性敗血症の診断に有用であるという知見が重ねられました。我々は2000年頃に特許を保有しているドイツのブラームス社からライセンスを得て国内で開発研究をはじめ、実際の患者さんで臨床的な診断効果を確認する臨床治験を行って2006年国の認可を得ました。重篤になると致死率が高い敗血症の早期診断に非常に役に立つと期待しております。この測定法でも合成ペプチドで作成した抗体（ヒツジで産生したポロクロナル抗体とマウスで産生したモノクローナル抗体の2種類）、標準物質としての合成プロカルシトニンとペプチドの利用が不可欠です。診断薬としての実用化までに実にペプチドの発見から22年かかりました。

最近話題のアルツハイマー病で脳に沈着する β アミロイドペプチドを血液などでも測れる測定系試薬はできました。まだ臨床的に診断法として評価が確立できないため、薬開発の補助としてヒト、ラット、マウスなど動物の研究用の試薬としか認められていません。

このように病気に特異的な診断法はほとんど生理活性ペプチドを利用しているといっても過言ではないでしょう。今 genomics や proteomics といわれ、新しいペプチドの研究手法も広がってきました。ゲノム配列が解明され、その塩基配列をみて仮定ポリペプチド〔蛋白〕が考えられるようになりました。しかしその想定したペプチドが実際に体内で作られているのか、実際の生理機能を有しているのか、病気に関連しているのか、これらの実証がなければ先に進めません。これら生理活性ペプチド研究は、薬や診断法などになればヒトの健康に役に立つ宝の山です。本学会の皆様方のよ

Procalcitonin (PCT) とは

PCTはカルシトニン（32個のアミノ酸）の前駆物質であり、ホルモン活性を有しない。正常な代謝状態では、甲状腺のC細胞で生成され、代謝によりホルモン活性を持つカルシトニンとして分泌される。

健常人では、甲状腺のC細胞で生成されたPCTはほとんどすべてが分解され、血中へは遊離されない。重症の感染症では甲状腺外でPCTが産生され、このPCTは安定した分子であり、分解されてカルシトニンにならない。

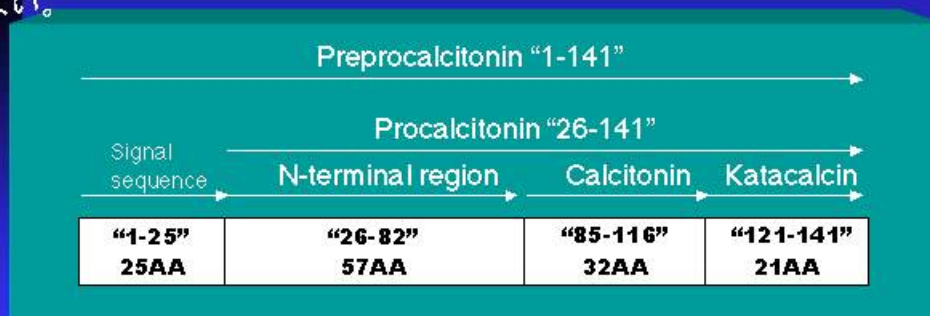


図1 PCTの構造

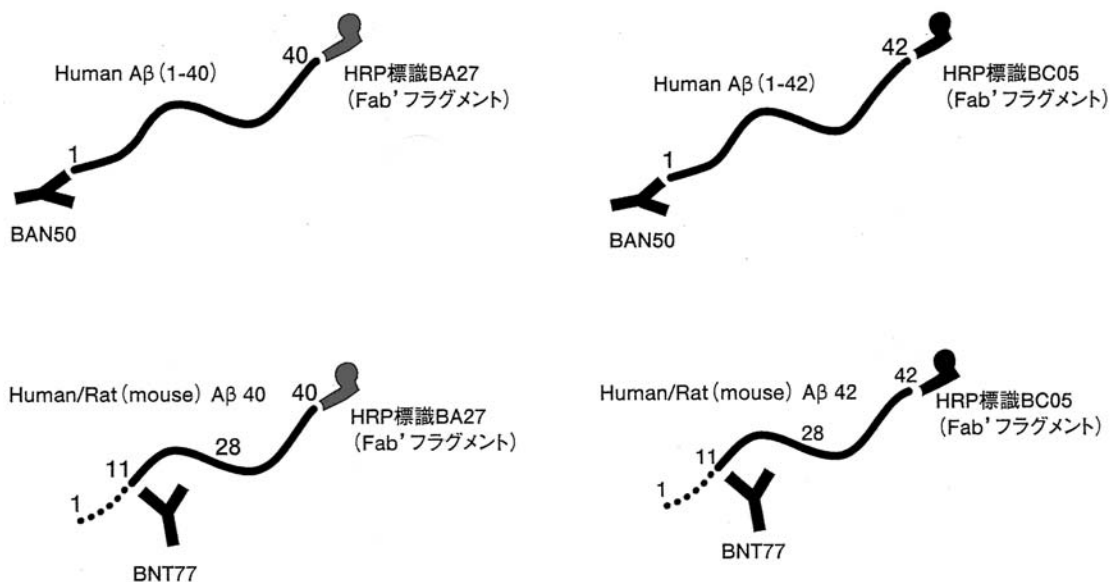


図2 ヒト特異的あるいはヒト、ラット（マウス）のβアミロイド（1-40）およびβアミロイド（1-42）を検出できる酵素免疫測定法の組み立て

うなペプチド研究者の腕にかかっております。私どもはその成果に期待しております。

まつうら しゅうじ
和光純薬工業株式会社
e-mail: matsuura.shuuji@wako-chem.co.jp

味の素における非天然アミノ酸・ペプチド製法研究の進歩

1. はじめに

この度、ペプチドニュースレターの編集委員の方から「企業におけるペプチド研究」について何か書いて欲しいとの依頼を受けた。弊社では、アミノ酸研究の歴史は長いもののペプチド研究については、いろいろと紆余曲折があり、余りまとまったお話ができないと思われるが、最近の進歩を紹介することでその任を果たしたい。

弊社は1908年に東京帝国大学（現東大）池田菊苗教授の出された「うま味」という概念の創出（特許）を基に、1909年にうま味調味料「味の素」の製造・販売を開始し、いよいよ2年後には100周年を迎える。グルタミン酸から始まり、アミノ酸類の製造を一つの工業にした世界的にもユニークな企業である。その後、アミノ酸のみならず、核酸、ペプチドなども商品群に加え発展してきた。商品の形態も食品添加物、飼料添加物、化粧品、医薬品・医薬中間体と多岐にわたっているが、ペプチド研究となるとアスパルテームの製法研究など一部を除き、世界をリードするような内容のものは少ない。しかし、最近になってこれまでに蓄積してきた技術をベースに一步抜きん出た新技術が開発され、総合的に世界と競合できるところまで進んできたように思える。まず、最近の進歩を述べる前に、弊社の持つアミノ酸製法関連技術から紹介を始めた。

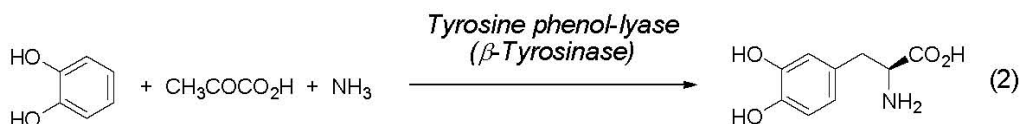
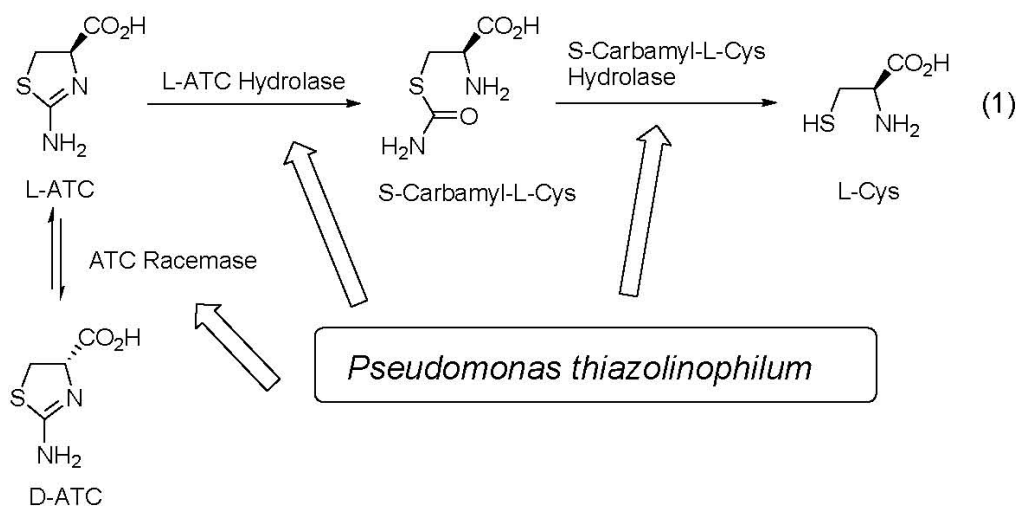


井澤 邦輔

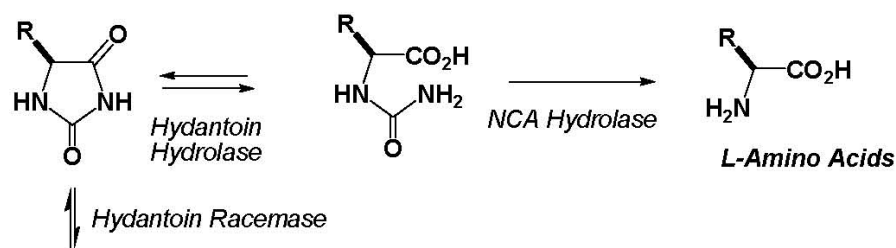
2. L-システイン、L-DOPA から非天然アミノ酸の製法開発へ

現在、弊社では各種の天然（タンパク成分）アミノ酸を、糖を原料にした直接発酵法により製造している。L-システインはその内の数少ない例外で、アクリル酸エステルから化学合成法により製造した DL-ATC（2-アミノチアゾリンカルボン酸）を酵素的に加水分解することで得ている（式1）。この時、使用した菌には DL-ATC の L 体のみを不斉に加水分解する酵素群に加えて、D-ATC 体をエビメリ化する酵素も含まれているため、ラセミ体からほぼ全量 L-システインが得られるという画期的なプロセスになった（1985年日本農芸化学会賞）。¹⁾ 近年、BSE 問題から動物由来のアミノ酸の使用が問題視されているが、本法で合成された L-システインはそれらの不安がない。本プロセスは現在も工業のプロセスとして年間数百トンレベルで稼動中である。

1973年、京都大学の山田秀明教授と味の素の共同研究により、パーキンソン病の治療薬 L-DOPA（3,4-ジヒドロキシフェニルアラニン）の酵素的製法が開発された。これはカテコールとピルビン酸、アンモニアから一挙に L-DOPA を生成するという非常に効率の良い反応である（式2）。^{2a)} しかしながら、その工業化は難航を極めた。酵素が原料のカテコールで失活してしまうこと、生成物の DOPA が非常に酸化され易いことに加えて、生成した DOPA がピルビン酸と反応して付加体を作ってしまうこと、酵素生産の誘導剤として培地に添加する Tyr が生成物の DOPA と混晶を作ってしまうことなど多くの問題が工業化の障害になった。その後、これらの課題は工場現場の地道な努力により解決が図られ、反応の発見後20年近くを経て工業化に成功した（2001年日本バイオインダストリー協会賞）。^{2b)}



L-Specific Hydrolysis



D-Specific Hydrolysis

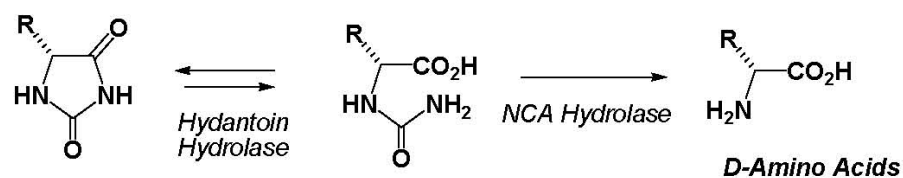


図1 酵素的ヒダントイン加水分解，図中の全ての酵素が取得されている。

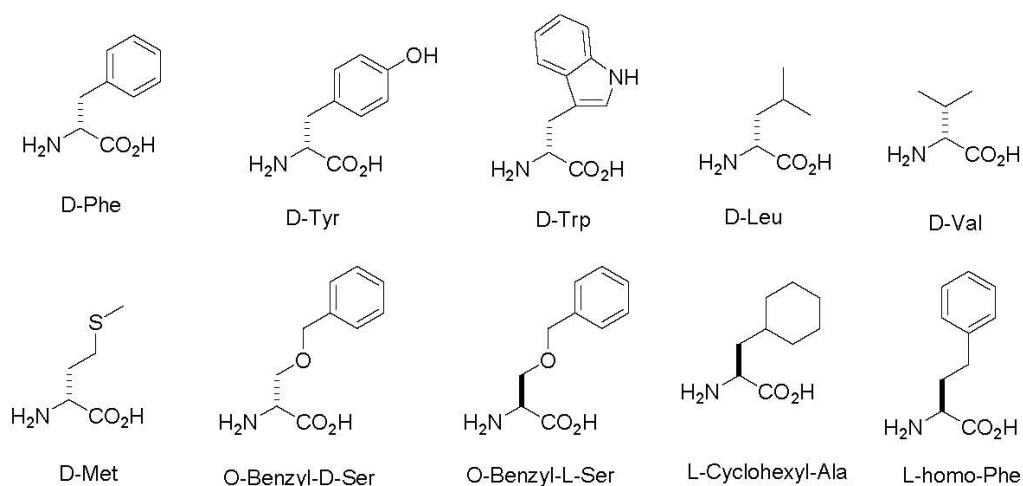


図2 ヒダントイン加水分解法で合成される非天然アミノ酸の例

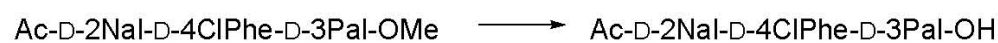
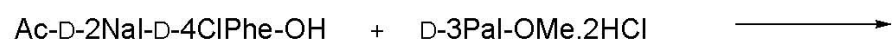
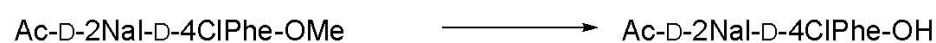
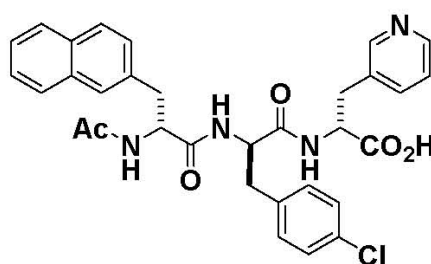


図3 LHRH ペプチド共通中間体の工業的製法

近年、非天然アミノ酸が多く医薬品の構成成分として使われ始めた。弊社では、その製法開発を1970年代初頭より開始した。中でもヒダントインの酵素的加水分解法が特に有効であった。図1に示すように、5-置換ヒダントインはヒダントイナーゼ、カルバモイラーゼで加水分解され、反応に関与する酵素の立体特異性に応じて、対応するL-またはD-アミノ酸に変換される。このような加水分解機能を持つ多くの菌が見出されており、菌の種類により、ヒダントイナーゼに立体選択性があるものと、カルバモイラーゼに立体選択性を有するものがある。また、菌によってはラセミ化酵素を保有するものがあり、その場合はDL-体から全量L-、またはD-アミノ酸が生成する。このようにして、種々の非天然のL-あるいはD-アミノ酸が酵素合成できる。

D-アミノ酸合成への応用に関しては、京都大学山田秀明教授らによりD-パラヒドロキシフェニルグリシンの製法が開発され、株式会社カネカにより工業化されている。さて、5-フェニルヒダントイン類は容易にラセミ化することが知られているが、5位の置換基により、ラセミ化が非常に遅くD-ヒダントインが残存してしまうことがあった。そこで弊社では、ヒダントインラセマーゼを有する菌株のスクリーニング・酵素精製・遺伝子のクローニングを行った。さらに、上記の3つの酵素遺伝子をE. coliにて共発現する系を構築した。それにより、立体特異性の異なる酵素を選択することで、DL-ヒダントインからL-アミノ酸あるいはD-アミノ酸を高選択的、高収率で得られるようになった。³⁾ 本法で得られる代表的なアミノ酸の例を図2に示す。

3. 非天然アミノ酸含有ペプチドの製法開発

弊社では1980年代よりペプチド系甘味料「アスパルテム」の生産を続けており、恐らく世界最大のペプチド製造者であると思われる。その後、ACE阻害剤中間体などの製造も行ってきたが、最近では上述の技術で合成される非天然アミノ酸を含有するペプチド合成に焦点を絞っている。図3に示すトリペプチドはLHRHアンタゴニストの共通成分で、全てD型の非天然アミノ酸を有する。本トリペプチドは、従来Boc保護基を用いた慣用的な方法で合成されているが、N-Ac体をペプチド合成にそのまま用いることで、プロセスの簡略化を図った。幸運なことに、予測したエピメリ化は起こるものの、異性体はプロセスの過程で完全に淘汰精製できることが判り、工業化プロセスに仕上げる事ができた。⁴⁾

4. 新規な酵素的ペプチド無保護合成法の開発

最近、味の素の横関らは無保護でペプチド合成を触媒する新規な酵素を発見した。⁵⁾ 従来から、酵素によるペプチド合成は知られているが、いずれも保護アミノ酸を用いたもので、無保護のアミノ酸を原料とする例は極めて少ない。疎水性アミノ酸を含む一部のペプチド合成において、カルボキシペプチダーゼY、パパインなどのプロテアーゼを用いる方法が特許出願されているが、多量の酵素使用、低反応速度、低汎用性等の課題を残していた。今回の発見はアミノ酸メチルエ

ステル(A-OMe)とフリーのアミノ酸(B)からA-Bペプチドを高収率、高選択的に合成するものである。本系ではラセミ化は全く観測されず、A-A, B-B, B-Aペプチドもほとんど副生しない。

まず、ターゲットペプチドとして、輸液成分として非常に有効であるが、高コストのため使用が制限されていたAla-Gln(L-アラニル-L-グルタミン)を選定した。探索の結果得られた酵素を用いると、反応はpH 9.0、室温2時間で完結し、80%以上の収率で目的のAla-Glnが得られた。pH 9.0では原料のAla-OMeは2時間で完全に自発的加水分解を受けるが、上記の結果は本酵素のペプチド合成能がそれを遥かに凌駕していることを物語っている。比較実験により、本酵素はカルボキシペプチダーゼYの5千倍という圧倒的なペプチド合成能力を示すことがわかった。

本酵素の利点は、高収率、高生産性に加え、Ala-Gln以外の種々のジペプチド合成に汎用的に応用できる点にある。さらに、本技術はジペプチド以外にオリゴペプチド合成にも利用可能である。即ち、N成分としてアミノ酸以外にジペプチド以上のオリゴペプチドも基質として認識でき、種々のオリゴペプチドの合成が可能であった。例えば、Ala-OMeとHis-Alaとの反応ではAla-His-Alaが56%の収率で、Thr-OMeとGly-GlyからはThr-Gly-Glyが83%の収率で生成した。現在、本酵素により、最高ヘキサペプチドまでの生成が確認されている。

本研究の最初のターゲットであるAla-Glnは既に工業化段階に入っている。まだ、使用できるアミノ酸の種類に制限があり、最適な菌(酵素)がアミノ酸の種類で異なるため、汎用化プロセス開発のためには時間を要するが、近い将来ペプチド合成の世界を一新する技術になることが期待される。

5. おわりに

酵素反応は環境に優しい技術であり、それを有効に使うことで、安価に、効率的に非天然アミノ酸やペプチドを生産できると思われる。我々が行ってきたペプチド製法の開発は大きなペプチド科学分野のほんの一部に過ぎない。しかし、それを磨くことにより、世界に類の無い技術開発で人類に貢献したいと考えている。本稿作成において協力を得ました味の素株式会社理事横関健三博士に深く感謝致します。

6. 文献

- (1) K. Sano, K. Yokozeki, F. Tamura, N. Yasuda, I. Noda, and K. Mitsugi; Microbial conversion of DL-2-aminothiazoline-4-carboxylic acid to L-cysteine and L-cystine: screening of microorganisms and identification of products. *Applied and Environmental Microbiology*, **34** (6), 806-10 (1977).
- (2) a) H. Enei, H. Matsui, S. Okumura, H. Yamada; Enzymic preparation of L-tyrosine and 3,4-dihydroxyphenyl-L-alanine. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **43** (6), 1345-9 (1971).
b) 江井 仁, 中沢英次, 土田隆康, 滑川俊雄, 熊谷英彦 L-ドーパの酵素的合成法の開発と実用化. *バイオサイエンスとインダストリー*, **54**, 11-15 (1996).

- (3) H. Nozaki, Y. Takenaka, I. Kira, K. Watanabe, K. Yokozeki; D-Amino acid production by E. coli co-expressed three genes encoding hydantoin racemase, D-hydantoinase and N-carbamoyl-D-amino acid amidohydrolase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **32** (5-6), 213-218 (2005).
- (4) M. Nakazawa; Method of preparing peptide intermediates for LHRH antagonists. U.S. Pat. Appl. US 2005 203028 (2005).
- (5) K. Yokozeki, S. Hara; A novel and efficient enzymatic method for the production of peptides from unprotected starting materials. *Journal of Biotechnology*, **115** (2), 211-220 (2005).

いざわ くにしけ

味の素株式会社アミノサイエンス研究所
e-mail: kunisuke_izawa@ajinomoto.com

森永乳業のペプチド研究 ～ミルクペプチドでスポーツを！～

2006年11月に北里大学で開催されましたペプチド学会市民フォーラムにて「ミルクペプチドでスポーツを！」と題し、弊社スポーツ栄養食品に利用しているペプチドの研究内容をお話させて頂きました。本稿内でも弊社のペプチド研究について紹介させて頂きます。



佐藤 真葵

弊社が製造しているミルクペプチドは、牛乳由来のたんぱく質である乳清（ホエイ）たんぱく質やカゼインを消化酵素により分解したペプチドです。製造工程は図1のようになります。原料となるたんぱく質の種類、用いる酵素の種類や反応条件、分離・精製工程の有無によってペプチドの分子量分布やアミノ酸組成が変化し、様々な種類のペプチドが作られます。分解に

使用される酵素はその由来から大別すると、動物由来のもの（ペプシン、トリプシンなど）、植物由来のもの（パパインなど）、微生物（納豆菌、麹菌など）由来のものがあります¹⁾。また、その作用機構から分類すると、たんぱく質を内部から大きく分解するエンド型と末端部分から小さく分解するエキソ型があります。出来上がったペプチドには様々な特徴があり、それを生かして多くの食品に応用されています（図2）¹⁾。

弊社では特に、乳幼児用ミルク開発の過程でミルクペプチド製造の技術開発を進めてきました。当初は、消化吸収性の向上を目的としてペプチドを使用していましたが、その後、アレルギー予防用やアレルギー疾患用のミルクに配合するための高度に分解したペプチドの開発に力を入れてきました。ペプチドは分解率が高くなると、遊離アミノ酸が増加するため、苦味を呈

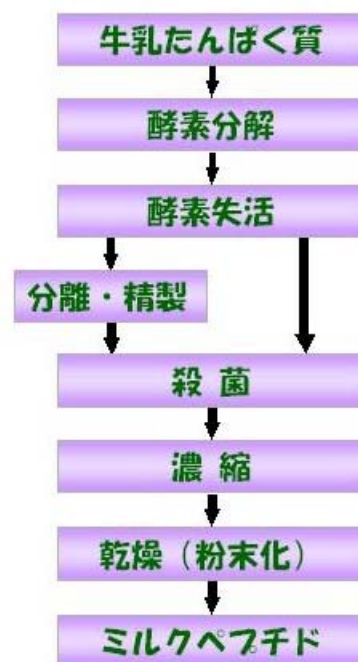


図1 ミルクペプチド製造工程¹⁾の図を一部改変

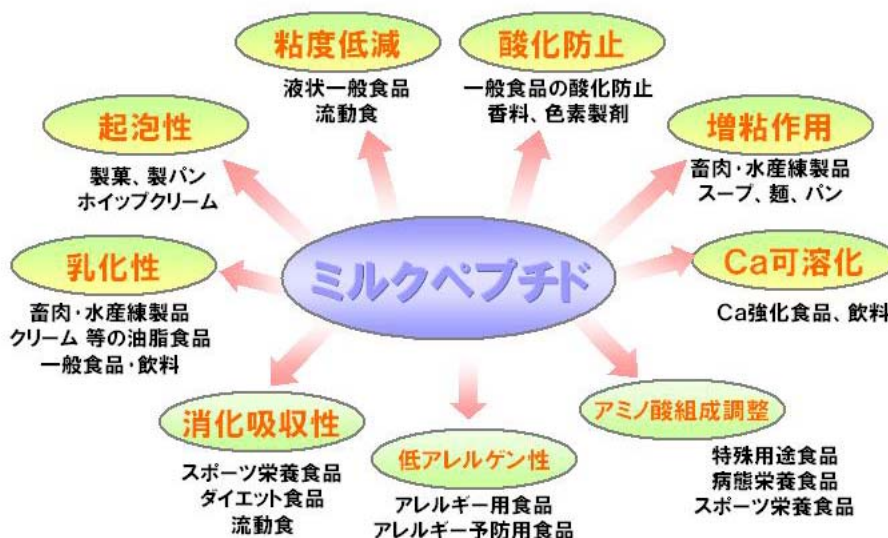


図2 ミルクペプチドの機能と応用¹⁾の図を一部改変

するようになります。アレルギー疾患用のミルクは高度に分解したペプチドを使用しますが、弊社では酵素の種類や精製工程を工夫することにより、ペプチドの苦味を低減した味の良いミルクにしています。

弊社では最近、ペプチドの消化吸収性の良さを特徴としたスポーツ用の栄養食品を開発しました。アスリートはトレーニングなどで活動量が増加し、筋肉の代謝が促進されるため、運動をしない人に比べてより多くのたんぱく質を摂取する必要があります²⁾。たんぱく質の摂取は運動後素早く行うことが効果的であるとされており³⁾、たんぱく質よりも消化吸収の速いペプチドでの摂取が効果的です。また、激しい運動を行うと消化吸収能力も低下するため、あらかじめ酵素分解してあるペプチドの摂取は適しています。さらに、運動時に摂取するたんぱく質はアミノ酸バランスに優れた良質のたんぱく質が良いとされていますので²⁾、アミノ酸スコアが100である牛乳たんぱく質由来のミルクペプチドは運動時・運動後の摂取に最適です。

そこで弊社では、ミルクペプチドにクエン酸、カルシウム、甘味料、香料などを加えたスポーツ用ペプチド粉末栄養食品（ペプチドEX；リブウエル社製）を開発し、アスリートや運動愛好者の方々に摂取して頂き、その効果を検討してきました。その一部をご紹介します。

試験結果① 運動時の疲労感軽減効果

運動時の疲労感（中枢性疲労）発生要因の一つは、脳内でトリプトファン（Trp）から疲労物質であるセロトニンが合成されることによるとされており、脳内へのTrpの輸送が促進されると疲労感が高まります⁴⁾。疲労感発生を防ぐには、脳内Trp濃度を上昇させないこと、つまり、血中から脳へのTrp輸送を抑制することが重要となります。脳内へのTrpの輸送は、脳-血液関門を介して行われますが、その輸送担体は、中性アミノ酸（主に、分岐鎖アミノ酸（バリン・ロイシン・イソロイシン；BCAA））と共通であるため、これらアミノ酸の輸送は競合します。運動中は骨格筋でのBCAA取り込みが促進されるため、血中BCAA/Trp比が低下し、疲労感が発生するとされています（図3）。BCAAを含むサプリメントの摂取などにより、血中BCAA/Trp比を高く維持できれば、運動中の疲労感を軽減でき、長時間の運動

の持続が可能であると考えられます⁵⁾。

そこで、BCAAを豊富に含むペプチドEXを運動前～運動中に摂取することによって、運動時の疲労感が軽減されるかどうかを検討しました。

日頃運動習慣のない女子大学生に運動前～運動中に、ペプチドEXを摂取させ、10 km ウォーキングを行わせました。運動前後に血中アミノ酸濃度を測定し、また、POMSテスト（疲労・活気）により疲労感を測定しました。

ペプチドEX摂取時は、運動後においても血中BCAA/Trp比の低下を抑制することができました（図4）。さらに、POMSテストにおいて、対照（等エネルギーの糖質）摂取時には、運動後に疲労が有意に上昇し、活気が有意に低下しましたが、ペプチド摂取時にはそのような変化は認められませんでした（図5）⁶⁾。したがって、運動時のペプチドの摂取により、運動により発生する疲労感を軽減することが確認されました。

試験結果② 運動後の筋肉痛軽減効果

久しぶりに運動をした後に筋肉痛に悩まされることも多いと思います。ペプチドEX飲用者から「ペプチドEXを飲むと、翌日以降の筋肉痛が小さい、もしくは筋肉痛にならない」というような感想をしばしば頂きます。そこで、この効果を検証するための試験を実施しました。

運動後12～24時間経過して発生する筋肉痛を、遅発性筋肉痛といいます⁶⁾。運動の48～72時間後に痛みはピークに達し、96時間程度で消失します。筋肉痛発生のメカニズムはまだ科学的に解明されていませんので⁷⁾、本研究ではペプチドEXの遅発性筋肉痛に対する効果を被験者の主観的評価（痛み）を用いて検討しました。

日頃運動習慣のない男性に階段昇降運動を行わせ、生ずる筋肉痛（痛み）の程度をVAS（Visual Analogue Scale）で評価しました。運動の1時間前にペプチドEXを摂取すると、対照（等エネルギーの糖質）摂取時に比べて、運動48時間後のVASが有意に低値を示し（図6）、運動96時間後までの曲線下面積においても低い傾向が認められました。したがって、運動前のペプチドの摂取により、筋肉痛が軽減することが示唆されました⁸⁾。ペプチド摂取による筋肉痛軽減効果のメカニズムは不明ですが、運動前のペプチド摂取により、

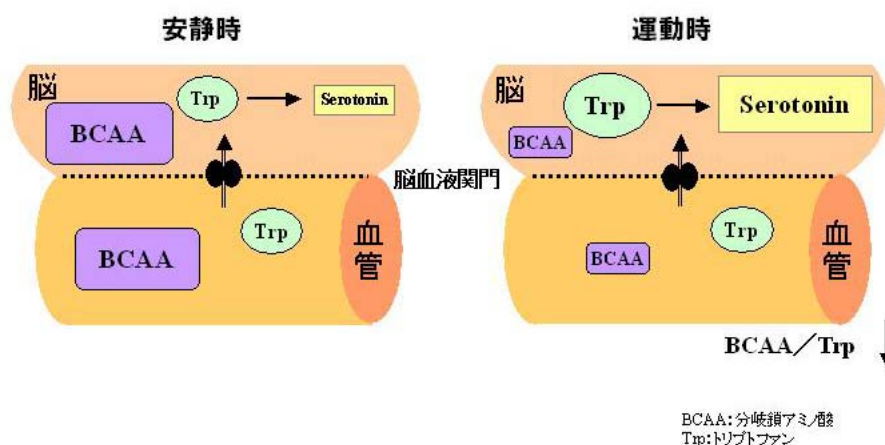


図3 運動時の疲労感発生メカニズム

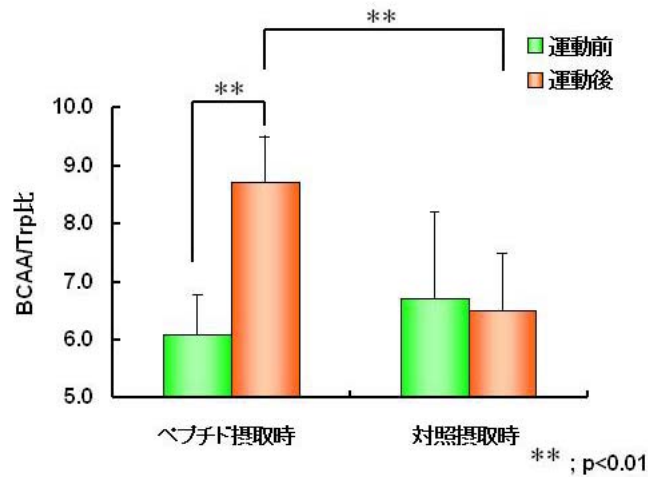


図4 10 km ウォーキング前後の血中 BCAA/Trp 比

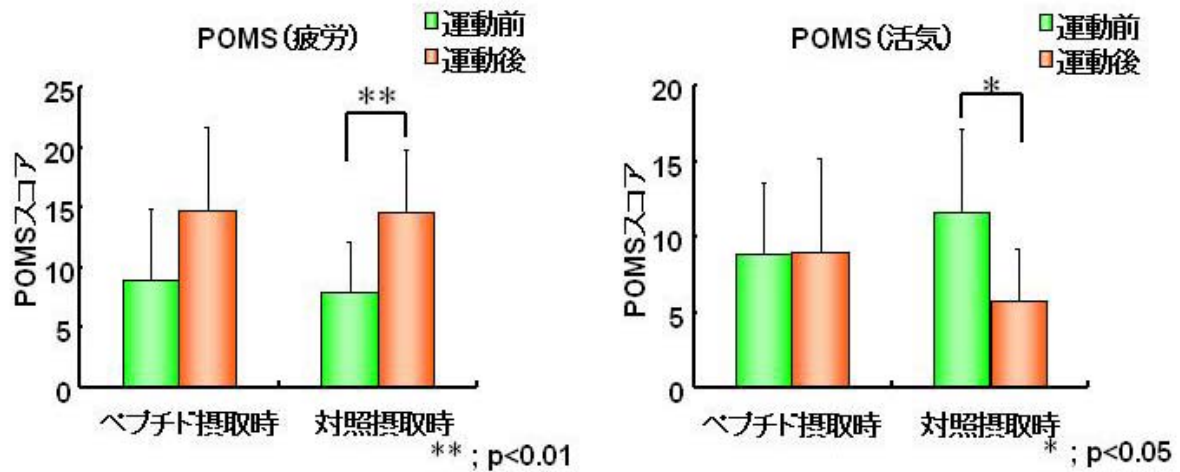


図5 10 km ウォーキング前後の POMS テスト⁵⁾

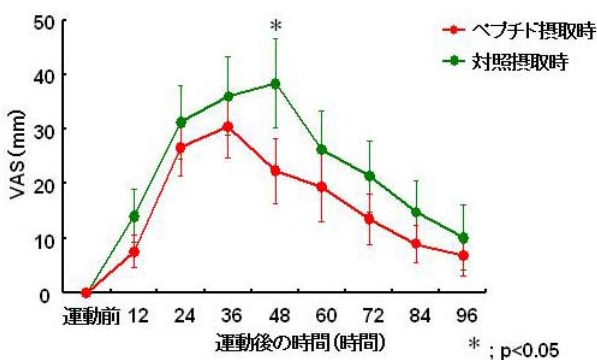


図6 階段昇降運動後の筋肉痛（痛み）の変化⁸⁾

運動時のエネルギー供給が円滑に行われ、運動による筋へのダメージが軽減したことによるのではないかと考えています。今後は、そのメカニズムを詳細に検討する必要があると思われます。

今回は、誌面の都合上、運動時の疲労に関する2つの試験結果しか紹介できませんが、他にも多くの試験を実施してきました。内容が栄養学的、生理学的に

なってしまいましたので、皆様のご興味のある分野とは多少異なると思いますが、これを機に、スポーツやスポーツ栄養に興味を持って頂けたら幸いです。

参考文献

- 1) 齋藤仁志：乳製品の製造と機能性，香料，230，81-94 (2006)。
- 2) 下村吉治：スポーツと健康の栄養学，ナッパ，東京，pp 3-19 (2002)。
- 3) E.A. Newsholme and E. Blomstrand: Branched-Chain Amino Acids and Central Fatigue., J. Nutr., 136, 274S-276S (2006)。
- 4) E. Blomstrand: A Role for Branched-Chain Amino Acids in Reducing Central Fatigue., J. Nutr., 136, 544S-547S (2006)。
- 5) 田中麻由子，田村 明，中村浩彦，篠田一三：ミルクカゼイン由来ペプチドの疲労軽減効果，健康創造研究会誌，2 (2)，131-137 (2003)。
- 6) M.J. Cleak, R.G. Eston: Delayed onset muscle soreness: mechanisms and management., J. Sports Sci., 10 (4), 325-341 (1992)。

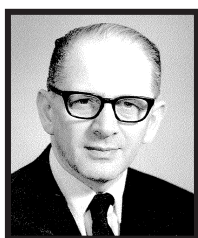
- 7) K. Nosaka, A. Lavender, M. Newton, and P. Sacco: Muscle Damage in Resistance Training., Int. J. Sports Health Sci., 1 (1), 1-8 (2003).
- 8) 佐藤真葵: 遅発性筋肉痛を緩和するミルクペプチド, 体育の科学, 56 (9), 701-704 (2006).

さとう まき
森永乳業株式会社 栄養科学研究所
Email: m-sato@morinagamilk.co.jp
ペプチド EX 販売元 株式会社リブウェル
<http://www.morinyu-livewell.co.jp/> (PC・携帯)

Miklos Bodanszky 教授のご逝去を悼む

永年ペプチド化学の発展に大きな貢献をしてこられた Bodanszky 教授の訃報に接しました。教授については、ペプチド学会の多くの会員の皆さまがよくご存知のことと存じますので、お知らせするとともに、共にご冥福をお祈りしたいと存じ、この一文を草しました。去る2月7日、享年91歳で心不全で無くなられた由であります。

村松 一郎



教授はハンガリーのブダペスト生まれで、ブダペスト工科大で学位取得後、医化学分野で講師をお勤めの後、1956年の動乱を機に米国ニューヨークのコーネル大に移り、V. du Vigneaud 教授とともにオキシトシンの合成をされました。この合成にはハンガリー時代に教授が開発された活性エステル法をおおいに活用されました。その後、スクイブ研究所を経て1966年クリーブランドのケースウエスタンリザーブ大に移られました。セクレチンなどのペプチド合成、ペプチド抗生物質ステンドマイシンやチオストレプトンの構造研究などペプチド化学の多分野に貢献されるとともに、ペプチド化学、特に合成法に関する多くの著作を出版しておられます。この間教授は第一回の Alan Pierce 賞を受けておられます。1983年同大学を退職された後は、プリンストンのご自宅で著作に励んでおられました。

筆者は1967年より2年間、クリーブランドで教授のご指導を受ける機会を得ましたが、教授は故国の動乱など多くの困難を経験されたに相違いないと思いますが、実に温厚で我々研究室メンバーに親身に接して下さいました。1978年3月には Agnes 夫人とともに来日され、大阪、北九州、東京などを訪れ、いくつもの大学、研究所などで講演し研究者と交流されました。その際、歌舞伎など日本の芸術に造詣が深いことを示され、驚かされたことを思い出します。夫人は毎日教授と共に研究室に出勤され、共同で研究に、また著作にあたっておられましたが、残念にも1989年教授に先だって亡くなりました。

ここにあらためて教授のペプチド化学へのご貢献に感謝するとともにご冥福をお祈りいたします。

むらまつ いちろう
立教大学 名誉教授

【学会より】

第4回国際ペプチドシンポジウムへの若手研究者の参加支援 (JPS Travel Award) の公募

上記の学会に参加し、研究発表する2007年4月1日現在で35歳以下の若手研究者に参加支援金5万円/人を支給します。希望者はそれぞれの締切日までに下記必要事項を書き、e-mailで申し込んでください。やむを得ない場合は郵送でも結構です。選考は学会賞等選考委員会で行い、理事会での承認を得たのち、結果をお知らせします。

JPS web もご覧ください。

必要事項

- ・氏名、会員番号、所属および身分、生年月日
- ・提出したアブストラクトのファイル（ワード形式あるいはRTF形式）
- ・受理通知先メールアドレスおよび電話番号、推薦者の名前、会員番号、所属および連絡先

申し込み先

庶務担当理事・相本三郎

e-mail: aimoto@protein.osaka-u.ac.jp

なお旅費の支援が決定された後、参加を取りやめた場合には支援金を返却していただきます。またアメリカペプチド学会やオーストラリアペプチド学会からの助成金との重複受領はできません。また数年以内に JPS Travel Award に採択されていない人が優先されますのでご注意ください。

対象学会、締切日、および募集人数

第4回国際ペプチドシンポジウム（第7回オーストラリアペプチド会議、第2回アジア太平洋ペプチドシンポジウム）（於 ケアンズ）、2007年10月21～25日
締切日：2007年7月27日（金）、5名程度

第44回ペプチド討論会

会 期 平成19年11月7日（水）～11月9日（金）
（平成19年11月10日（土）市民フォーラム）
会 場 富山国際会議場 富山市大手町1番2号
発表申込・アブストラクト締切（予定）8月24日（金）
受諾通知 9月15日頃（E-mailにて通知予定）
討論主題

- 1) アミノ酸・ペプチドの化学
- 2) 生理活性ペプチドの単離・構造決定および合成
- 3) ペプチド合成の新規な戦略と方法論
- 4) ペプチドの構造－機能相関
- 5) ペプチドの医学・薬学的研究
- 6) ペプチドに関連したケミカルバイオロジー
- 7) ペプチドを用いる材料科学的研究
- 8) その他 広くペプチド科学に関する研究

討論会世話人：相本三郎 大阪大学蛋白質研究所
小野 慎 富山大学工学部

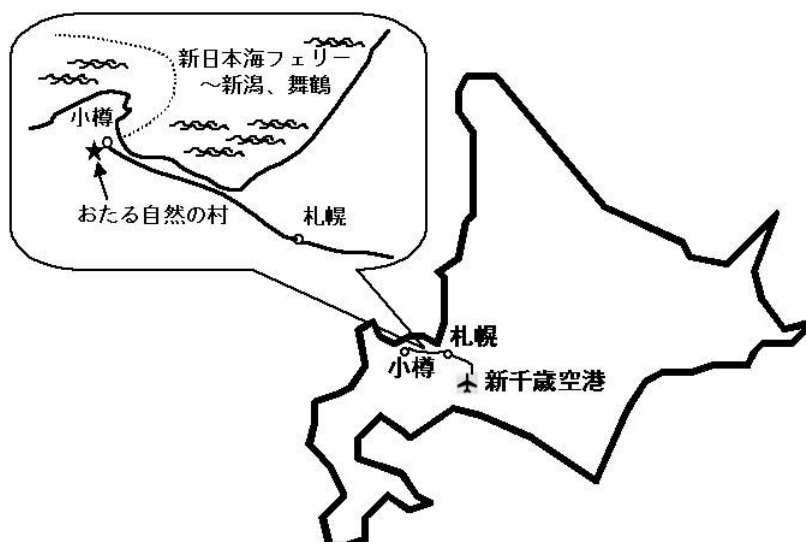
電話：相本：06-6879-8601、小野：076-445-6845

討論会事務局：〒565-0861 吹田市山田丘3-2

川上徹・佐藤毅・川口真理 大阪大学蛋白質研究所、

電話：06-6879-8602

発表形式、発表申し込み方法、参加登録および登録料



の詳細を、6月下旬までに学会ホームページに掲載予定。

第40回若手ペプチド夏の勉強会

今回で40回目の節目の年を迎える「若手ペプチド夏の勉強会」を北海道大学大学院理学研究院化学部門生物化学研究室でお世話させていただくことになりました。当研究室では、「化学反応の集積と生命現象の関係」を明らかにする一手法としてペプチド科学を用いており、がん抑制タンパク質 p53 とその関連因子に関する研究や機能性ペプチドの開発を行っています。北海道にはペプチド科学に造詣の深い西則雄先生や河野敬一先生も在籍されており、北の大地にてペプチド研究の輪が広がっています。今回、北海道の壮大な自然環境のもと意見交換することにより、ペプチド科学の分野に携わる若手研究者の相互親睦の一助になることを願っております。多くの方にとって遠路お越しいただくこととなりますが、多数のご参加をお待ちしております。

日時：平成19年8月5日（日）～8日（水）（予定）

場所：おたる自然の村 おこばち山荘

〒047-0012 北海道小樽市天狗山1丁目国営林野4152林班

<http://www16.ocn.ne.jp/~mura/index.html>

世話人：中馬 吉郎

北海道大学大学院理学研究院化学部門
生物化学研究室

〒060-0810 札幌市北区北10条西8丁目

Tel：011-706-2712

Fax：011-706-4683

E-mail: chuman@sci.hokudai.ac.jp

編集後記

本号では、3名の先生方に「企業におけるペプチド研究」についてご紹介頂きました。巻頭は、松浦脩治

先生に、和光純薬株式会社において研究開発されたペプチド関連製品についてご紹介頂きました。また、以前は最良の条件で合成をするために様々なご苦勞が有りだったとのこと。現在では充実した種々の試薬が多く供給されており、ペプチド研究に携わる私達にはありがたい時代となりました。味の素株式会社の井澤邦輔先生には、基礎的でありながら非常に重要なアミノ酸誘導体の合成技術、さらには環境に優しい酵素を利用したペプチド合成研究についてご紹介頂きました。森永乳業株式会社の佐藤真葵先生からは、乳幼児にも成人にも良いミルクペプチド由来製品について、特にスポーツ時に摂取することの有効性に関する科学的な分析結果をご紹介頂きました。ご寄稿下さいました先生方、大変お忙しい中どうもありがとうございます。

PEPTIDE NEWSLETTER JAPAN

編集・発行：日本ペプチド学会

〒562-8686 箕面市稲4-1-2

(有)千里インターナショナル内

編集委員

三原 久和（担当理事）

（東京工業大学大学院生命理工学研究科）

TEL 045-924-5756, FAX 045-924-5833

e-mail: hmiyara@bio.titech.ac.jp

坂口 和靖（北海道大学大学院理学研究院）

TEL 011-706-2698, FAX 011-706-4683

e-mail: kazuyasu@sci.hokudai.ac.jp

玉村 啓和（東京医科歯科大学生体材料工学研究所）

TEL 03-5280-8036, FAX 03-5280-8039

e-mail: tamamura.mr@tmd.ac.jp

前田 衣織（九州工業大学情報工学部）

TEL 0948-29-7830, FAX 0948-29-7801

e-mail: iori@bse.kyutech.ac.jp

北條 裕信（東海大学工学部）

TEL 0463-58-1211（代）, FAX 0463-50-2075

e-mail: hojo@keyaki.cc.u-tokai.ac.jp

（本号編集担当：前田 衣織）