

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05473

研究課題名(和文) 可食性バイオハイブリッド創出による β -ラクトグロブリンの機能改変

研究課題名(英文) Functional improvements in beta-lactoglobulin by preparing edible bioconjugates

研究代表者

服部 誠 (Hattori, Makoto)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：40221501

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：牛乳の主要な乳清タンパク質である β -ラクトグロブリン (β -LG) をターゲットとして用い、低抗原性・免疫原性であるペクチン(PEC)、ポリリシン(PL)を結合し、実際の食品に応用可能な可食性のバイオハイブリッドを創出した。メイラード反応により β -LG-PECハイブリッドを、トランスグルタミナーゼの反応により β -LG-PLハイブリッドを得た。ハイブリッドの構造解析を行い、いずれも β -LGのネイティブ構造をほぼ維持していることが明らかとなった。いずれのハイブリッドにおいても、乳化性の改善、免疫原性の低減が認められ、本研究の手法は β -LGの機能改変に有効であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

タンパク質等の天然生体高分子は、生命に直接関与するだけでなく、素材として衣食住に密接に関わる点で重要で、近年の高度化と多様化の潮流により、さらに新たな機能の開発、改変、高機能化が必要である。既存の天然分子とは本質的に異なった、高度な要求に対応できるような新たな物質(特にハイブリッド分子)の創出がきわめて重要であると考えられるようになってきている。本研究の遂行により、牛乳 β -ラクトグロブリンについて実際の食品に応用可能なハイブリッド分子を調製することに成功し、食品アレルギーの解決ならびに機能特性の改善を同時に達成することができた。本研究の成果は他の有用タンパク質の高機能化にも有用な知見である。

研究成果の概要(英文)：Using β -lactoglobulin (β -LG), which is the main whey protein of milk, as a target, it was conjugated with low antigenic and immunogenic pectin (PEC) and polylysine (PL). We have prepared edible bioconjugates that can be applied to actual food. The β -LG-PEC conjugate was obtained by the Maillard reaction, and the β -LG-PL conjugate was obtained by the reaction of transglutaminase. Structural analysis of the conjugates revealed that all of them almost maintained the native structure of β -LG. Improvement of emulsifying property and reduction of immunogenicity were observed in all conjugates, and the method of this study was considered to be effective for functional modification of β -LG.

研究分野：食品科学

キーワード：protein conjugation functional improvements β -lactoglobulin

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

タンパク質は、生命に直接関与するだけでなく、重要な食品素材として幅広く利用されてきた。しかし、近年、食品素材としてのタンパク質に求められる特性は、高度化、多様化してきており、新たな機能の開発、改変、高機能化が強く望まれている。このような食品タンパク質の高機能化あるいは機能改変のためには、天然には存在しない、新規の糖質結合型バイオハイブリッドの創出が有効な方策となると考えられる。

2. 研究の目的

本研究においては、食品タンパク質のうち、牛乳中の主要乳清タンパク質である β -ラクトグロブリン (β -LG) をターゲットとして用い、低抗原性・免疫原性であるペクチン、ポリリシンを、メイラード反応、トランスグルタミナーゼ反応により結合し、実際の食品に応用可能な可食性のバイオハイブリッドを創出することにより、低アレルギー化を達成し、さらに、同時に乳化性などの機能特性の向上を達成すること、これら多面的な機能改変の根源となるバイオハイブリッド分子の構造機能相関を明らかにすることを目的としている。

3. 研究の方法

1) メイラード反応を用いた可食性 β -LG-PEC ハイブリッドの創出

精製 β -LG とペクチン(PEC)を、 β -LG-PEC (モル比)=1:1~1:10 で、50~60 でメイラード反応させ、可食性 β -LG-PEC ハイブリッドを得た。精製は陰イオン交換クロマトグラフィーにより行った。

2) トランスグルタミナーゼの反応を用いた可食性 β -LG-ポリリシンハイブリッドの創出

トランスグルタミナーゼ反応のアシル受容体として、 β -ポリリシン(PL, 分子量 12,000)を用い、 β -LG をアシル供与体として、反応を行い、可食性 β -LG-PL ハイブリッドを得た。ハイブリッドの精製は、塩析、陽イオン交換クロマトグラフィーにより行った。

3) ハイブリッドの構造の解析

ハイブリッド中のタンパク質と糖の組成については、化学分析により明らかにした。PL 含量についてはアミノ酸分析により明らかにした。タンパク質部分の全体的な構造についての知見を得るため、CD スペクトル、自然蛍光の測定による解析を行った。また、タンパク質の局所的な微細高次構造について、モノクローナル抗体(mAb)を用いた酵素免疫測定法 (ELISA 法) により解析した。

4) ハイブリッドのリガンド結合能の解析

ハイブリッドの機能のうち、レチノール結合能については、蛍光滴定法により解析した。

5) ハイブリッドの乳化性の解析

ハイブリッドの乳化性については、エマルションの安定性を濁度法により評価した。特に、酸性 pH 領域、塩存在下といった、実際の食品において重要であり、かつ、乳化に不利な条件において調べた。

6) ハイブリッドの抗原性・免疫原性の解析

ハイブリッドの抗原性・免疫原性については、3 系統の近交系マウス(BALB/c、C3H/He、C57BL/6)を用いて、 β -LG あるいはハイブリッドをフロイントのアジュバントとともに免疫して抗血清を得、特異抗体量を非競合法 ELISA により測定し、ハイブリッド化による抗原性・免疫原性の変化を調べた。

4. 研究成果

本研究の遂行により、メイラード反応により β -LG-PEC ハイブリッドを、トランスグルタミナーゼの反応により β -LG-PL ハイブリッドを得ることができた。CD スペクトルの測定、自然蛍光の測定 mAb を用いた ELISA 法によりハイブリッ

ドの構造解析を行ったところ、いずれのハイブリッド分子も -LG のネイティブ構造をほぼ維持していることが明らかとなった。得られたハイブリッドの機能のうち、乳化性について濁度法で調べたところ、異なる pH (pH 3、5、7) NaCl 存在下 (0.2 M、0.5 M) といった実際の食品で重要となる条件下で、いずれのハイブリッドにおいても乳化性の改善が認められた。さらに、近交系マウスを用いて免疫学的性質について調べたところ、免疫原性の低減化が認められ、本研究で用いたハイブリッド化は低アレルゲン化に有効な方策であると考えられた。以上のように、本研究の手法は -LG の機能改変に有効であると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	好田 正 (Yoshida Tadashi) (20302911)	東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授 (12605)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関