

Key Words : ①エチゼンクラゲ ②降圧ペプチド  
③ドラムドライヤー

## I. はじめに

エチゼンクラゲは大型の食用クラゲの一種で、傘の直径が2m、重さ150kgになるものもある。近畿大の牛田ら<sup>1)</sup>は、クラゲタンパク質からペプシン消化により6種の降圧作用ペプチド、FTAPMN、STKASGKL LAY、LAL、ICA及びIRAを報告した。

エチゼンクラゲの97%は水分で、従来の方法では低濃度のペプチド溶液しか調製できず、その利用に限界があった。青森県ふるさと食品センター下北ブランド研究開発センター富田ら<sup>2)</sup>は、碎片化したエチゼンクラゲをドラムドライヤー法で直接乾燥させることで、粉末状のクラゲをつくることに成功した。

昨年の本研究発表会において、この粉末クラゲを用いた高濃度の降圧ペプチド溶液の調製法と、新たな活性ペプチドの分離精製と配列を報告した。

## II. 目的

本研究では最も活性の強かった降圧ペプチドYYAPF-XのC末端配列を検討した。また、このペプチドについて化学合成を行い、次にC-末端から順にアミノ酸を切断したペプチドの生理活性を*in vitro*で検討したので報告する。

## III. 研究方法

### 1. 試料

エチゼンクラゲは、2006年1月に八戸南浜沖で水揚げされたものの口腕、下傘等を切除し、洗浄・冷凍保存しされたものを解凍後、細断・脱塩及び粉碎し、減圧ミキサーで濃縮し、ドラム乾燥機で乾燥粉末とした。

### 2. 粉末クラゲのペプシン処理

粉末エチゼンクラゲ0.5gに0.5Mの酢酸を75ml(pH 2.47)加え、37℃で5分間予備加熱し、それぞれの溶液にクラゲの1%量のペプシンを添加し、37℃で24時間攪拌、その後同量のペプシンを添加し24時間反応を行った。反応終了後、沸騰水中で10分間ペプシンを不活化し、8,800rpm、30分間遠心分離したものの上清をエバポレートし凍結乾燥を行った。

### 3. 活性ペプチドの分離精製 (スキーム1)

#### 1) Sep-PakVac C18による粗分画

粉末クラゲのペプシン処理試料2.59gを25mlの超純水に溶解しSep-PakVac C18カートリッジに供し、その後0.1% TFA-CH<sub>3</sub>CNのCH<sub>3</sub>CN濃度を0%から20%、40%、60%に段階的にあげて各溶液25mLで溶出を行った。各溶出画分を回収後エバポ

ポスター発表

## エチゼンクラゲの有効利用を目的とした 降圧ペプチドの配列に関する研究

松江一<sup>1)</sup> 森永八江<sup>1)</sup> 岩井邦久<sup>1)</sup>

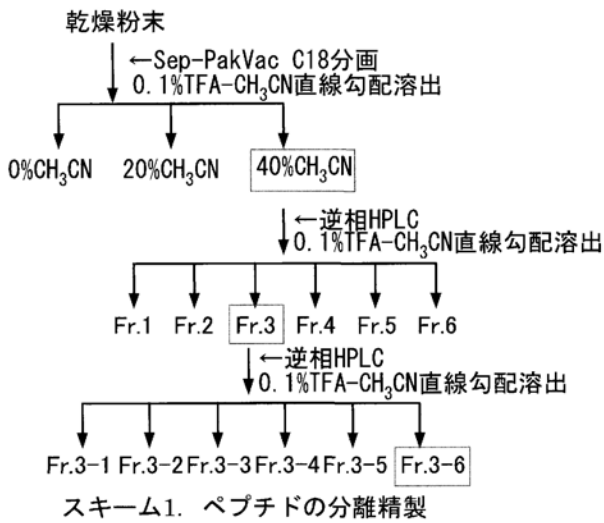
富田秀弘<sup>2)</sup> 奈良岡哲志<sup>3)</sup>

1) 青森県立保健大学大学院健康科学研究科

2) 青森県ふるさと食品研究センター

3) 青森県工業総合研究センター

レートし、凍結乾燥を行った。



2) C<sub>18</sub> 逆相高速液体クロマトグラフィー (C<sub>18</sub> 逆相 HPLC) による分離精製

1) の 40% CH<sub>3</sub>CN 溶出画分を C<sub>18</sub> 逆相 HPLC (ODS120T, 4.6mm × 250mm) を用いて 20% から 40% CH<sub>3</sub>CN/0.1% TFA の直線的濃度勾配溶出、流速 1ml/min, 30℃ で 5ml ずつ分画した。0-20 分 (Fr.1)、20-30 分 (Fr.2)、30-40 分 (Fr.3)、40-50 分 (Fr.4)、50-60 分 (Fr.5)、60-90 分 (Fr.6) をそれぞれ減圧乾固した。Fr.3 はさらに Fr.3-1 ~ Fr.3-6 の 6 つに分画した。

#### 4. YYAPF-X のアミノ酸配列決定

MALDI-TOF MS/MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization (マトリックス支援レーザー脱離イオン化法) - Time of Flight Mass Spectrometry(飛行時間型質量分析法)) で測定した。

#### 5. 合成ペプチド

合成ペプチド YYAPFQ(E)、YYAPF、YYAP、YYA および YY のトリフルオロ酢酸 (TFA) 型および酢酸型の ACE 阻害活性を測定した。

### IV. 結果および考察

表 1 合成ペプチドの ACE 阻害活性

	TFA 型		酢酸型	
	IC <sub>50</sub> (mg/ml)	IC <sub>50</sub> (mM)	IC <sub>50</sub> (mg/ml)	IC <sub>50</sub> (mM)
YYAPFQ	0.53	0.67	0.36	0.46
YYAPFE	2.45	3.10	2.97	3.77
YYAPF	3.26	4.94	2.86	4.35
YYAP	0.13	0.26	1.19	2.33
YYA	1.84	4.45	1.16	2.80
YY	0.21	0.60	0.23	0.68

YYAPF-X について MALDI-TOF MS/MS によるアミノ酸配列決定を行った結果、C 末端は Q または E であることがわかった。

ACE 阻害活性は酢酸型では YYAPFQ の IC<sub>50</sub> が 0.46 mM と最も強かった。このことから、この降圧ペプチドの C 末端は Q であることが推察された。

今後、YYAPFQ(E) の in vivo で活性の確認をおこなって行きたい。

### V. 参考文献

- 1) 牛田崇博ほか：くらげタンパク質由来 ACE 阻害活性ペプチド、日本農芸化学会 2005 年度大会講演要旨集、社団法人日本農芸化学会、276、2005
- 2) 富田秀弘、永峰文洋；大型クラゲドラム乾燥による粉末化：平成 16 年度下北ブランド研究開発センター研究報告 70,2004

### VI. 発表

森永八江、岩井邦久、富田秀弘、奈良岡哲志、松江一：エチゼンクラゲの有効利用を目的とした降圧ペプチドの分離精製、第 62 回日本栄養・食糧学会大会、2008/5