

ハイニュートからアミノ酸組成に特徴のある画分の調製

野口 忠*・日高智美

東京大学大学院農学生命科学研究科

Preparation of Subfractions with Characteristic Amino Acid Composition from "Hinute": A Peptide Product Prepared from SPI

Tadashi NOGUCHI and Tomomi HIDAKA

Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, Tokyo 113-8657

ABSTRACT

A peptide preparation Hinute from SPI was subfractionated with activated charcoal, HP20 or reverse phase chromatography. Using an activated charcoal column, three fractions were obtained. The unadsorbed fraction contained lower phenylalanine and tyrosine (Phe + Tyr) compared with Hinute. The fraction eluted from the column with 50% acetone also contained lower Phe + Tyr. The third fraction eluted from the column with 1 N NH_4OH was rich in Phe + Tyr. The ratio of branched chain amino acids (BCAA)/(Phe+Tyr) was approximately 2 in Hinute and 4 in the unadsorbed fraction, 3 in acetone-eluted fraction and 1.5 in ammonia-eluted fraction. Subfractionation of Hinute with a HP20 column also gave a preparation with BCAA/(Phe+Tyr) ratio of 5. These preparations will be conveniently used for preparation of diets with characteristic amino acid composition, particularly those with various BCAA/(Phe+Tyr) ratios. *Soy Protein Research, Japan* 1, 91-95, 1998.

Key words : diabetes, hepatitis, soybean peptide, soybean protein hydrolysate, Hinute

われわれは、これまでに、SPIを主たる窒素源とし、またモデル動物を用いて、肝疾患や糖尿病の症状軽減に有効な食餌の設計を試みてきた¹⁻⁵⁾。その結果、糖尿病モデル動物のいくつかの指標を改善する食餌として、分岐鎖アミノ酸含量の低いことを主たる特徴とする食餌を設計し^{1,2,5)}、また肝疾患モデル動物については、芳香族アミノ酸含量の低いことを主たる特徴とする食餌を設計して、その有効性を示してきた³⁻⁵⁾。

これらの過程で、主たる窒素源はSPIを用いてきたが、特徴あるアミノ酸組成の食餌を設計しようとする、どうしても単一のアミノ酸を使用する必要がある。もし、SPIを原料として、アミノ酸組成に特徴のある標品が得られれば、単一のアミノ酸の使用を大きく減らすことができる、もしくは、使用しないでもよくなる可能性がある。

そこで、今年度の研究では、このアミノ酸組成に特徴のある標品を調製することを目的とした。

*〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

方 法

SPI を分画することよりも、それを材料として調製したペプチドを出発原料にした方が分画の特徴を出しやすくと予測し、ハイニュート（低分子画分標品）を原料とすることにした。分画方法として、(1) 活性炭による分画、(2) 疎水性物質に親和性のある HP20 樹脂による方法、(3) 逆相クロマトグラフィーによる方法、を試みた。その結果、回収率、画分のアミノ酸組成の特徴、のいずれも、(1) および (2) の活性炭、HP 20 による分画が良好であった。活性炭カラムによる方法は以下の通りである。活性炭カラム (0.8 × 5 cm) に、ハイニュート 800 mg を水 4 mL に溶かした溶液をかけ、水 5 mL で洗浄して、非吸着画分とした。

続いて 50% アセトン 5 mL でカラムを洗浄し、アセトン溶出画分とした。さらに、吸着されている物質を 1 N アンモニア水 5 mL で溶出して、アンモニア溶出画分とした。これらの画分をロータリーエバポレーターで減圧乾固し、水にふたたび溶解して減圧乾固するという操作を繰り返して、標品とした。標品を 6 N 塩酸で加水分解し、アミノ酸組成を測定した。

結 果

Table 1 に各画分のアミノ酸組成を示した。また Fig. 1 は、各画分の必須アミノ酸のパターンの特徴を明示するためのものである。活性炭の特性として知られているように、非吸着画分では、Phe + Tyr 含量が減少している。また、アセトン溶出画分でも同様であった。

Table 1. Amino acid composition of the fractions obtained from Hinute with a charcoal column

	Hinute	Unadsorbed fraction	Acetone-eluted fraction	Ammonia-eluted fraction
Asp	7.71	1.75 (23)	2.06 (27)	1.91 (25)
Thr	2.87	0.63 (22)	0.89 (31)	0.62 (22)
Ser	4.13	0.81 (20)	1.13 (27)	0.92 (22)
Glu	16.78	4.16 (25)	4.19 (25)	3.97 (24)
Gly	8.58	0.69 (8)	0.99 (12)	0.83 (10)
Ala	3.24	0.70 (22)	1.02 (31)	0.63 (19)
Val	3.82	0.77 (20)	1.27 (33)	0.83 (22)
Ile	3.58	0.68 (19)	1.17 (33)	0.87 (24)
Leu	5.73	0.90 (16)	2.00 (34)	1.26 (22)
Tyr	2.53	0.20 (8)	0.55 (22)	0.90 (36)
Phe	4.08	0.44 (11)	1.04 (25)	1.35 (33)
Lys	5.51	1.02 (19)	1.31 (24)	1.37 (25)
His	1.83	0.29 (16)	0.41 (22)	0.60 (33)
Arg	6.55	0.69 (11)	1.59 (24)	1.71 (26)
Pro	5.46	1.11 (20)	1.52 (28)	1.30 (24)
Total	78.25 (100)	14.84 (19)	21.14 (27)	19.07 (24)
VIL*/FY	1.98	3.84	2.80	1.34
VIL/Total	0.17	0.16	0.21	0.15
FY/Total	0.087	0.041	0.074	0.12

Amino acids (g) obtained from 100 g Hinute. Values in the parentheses show the recovery of the amino acids in the subfractionated fractions.

*VIL, valine + isoleucine + leucine; FY, phenylalanine + tyrosine

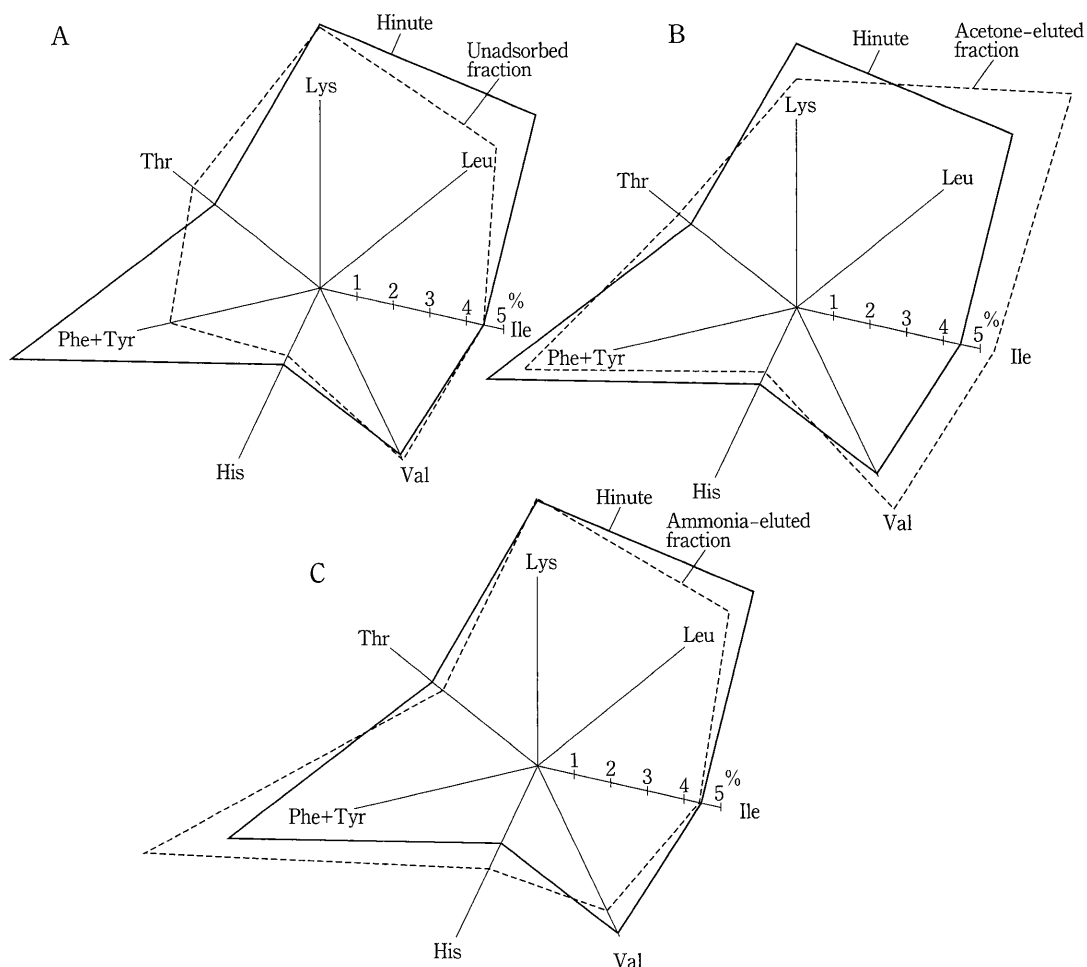


Fig. 1. Essential amino acid composition of the preparations obtained from Hinute.
A, Unadsorbed fraction ; B, Acetone-eluted fraction ; C, Ammonia-eluted fraction.

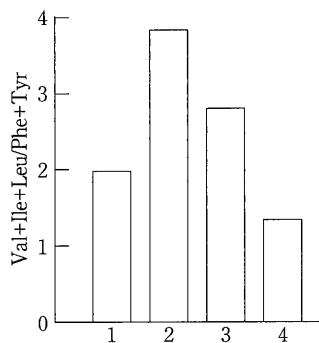


Fig. 2. The ratio of branched chain amino acids to phenylalanine plus tyrosine in the preparations obtained from Hinute.

1, Hinute; 2, Unadsorbed fraction; 3, Acetone-eluted fraction; 4, Ammonia-eluted fraction

(Val + Ile + Leu)/(Phe + Tyr) (以下 VIL/FY とする) という指標をとると、Fig. 2 に示したように、それぞれ特徴のある比率を示した。これらの組成を、すでに設計した糖尿病食、肝疾患食の amino 酸組成と比較した結果が Fig. 3 である。糖尿病食には、ハイニユート自体が比較的良好な amino 酸組成であるが、アセトン溶出画分も優れている。また、肝臓病食にはアセトン溶出画分がハイニユート自体よりも良い結果を示した。Table 1 は、各画分にハイニユートの amino 酸がどの程度回収されるかをも示している。全体としての回収率も良好で、この操作によって、多大のロスがでる可能性は少ないと言えよう。

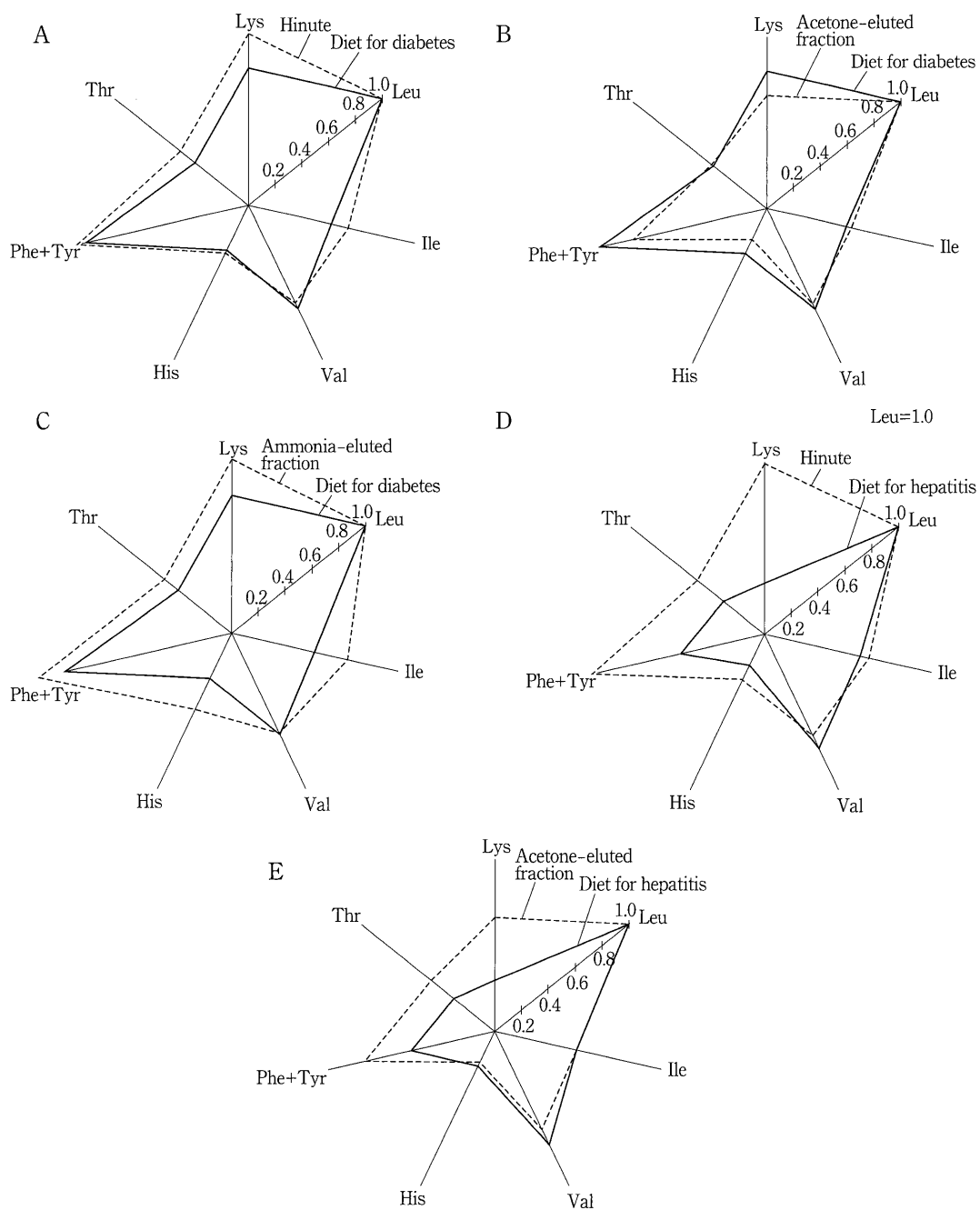


Fig. 3. Amino acid composition of the diets for diabetes and hepatitis compared with that of the preparations obtained from Hinute.

A, Comparison of the essential amino acid pattern of the diabetic diet and Hinute ; B, Comparison of the essential amino acid pattern of the diabetic diet and the acetone-eluted fraction ; C, Comparison of the essential amino acid pattern of the diabetic diet and ammonia-eluted fraction ; D, Comparison of the essential amino acid pattern of the hepatitis diet and Hinute ; E, Comparison of the essential amino acid pattern of the hepatitis diet and the acetone-eluted fraction.

考 察

比較的簡便な方法で、ハイニュートからアミノ酸組成に特色のある製品が、収率よく調製できることを示した。このような特徴のあるアミノ酸組成の製品を保

有していることは、将来の応用の可能性が十分考えられる。今回の研究では、芳香族アミノ酸のうちとくに Phe と Tyr，また分岐鎖アミノ酸に焦点を当てたが、それ以外にも諸種のアミノ酸に注目し、特色ある製品を調製することができよう。

要 約

特徴あるアミノ酸組成のペプチド製品を SPI から調製されたペプチドであるハイニュートから調製する目的で、ハイニュートの分画を行った。従来の研究で、実験的糖尿病やガラクトサミン肝障害のラットの症状を軽減するためには、分岐鎖アミノ酸 (Val + Ile + Leu) と芳香族アミノ酸 (Phe + Tyr) の含量を調節することが有効であることを示してきたので、特にこの2つのグループのアミノ酸の含量に注目して、ハイニュートを分画しようとした。方法として、活性炭カラム、HP20 カラム、逆相クロマトグラフィーを用いたが、特に前2者は有効であった。活性炭カラムは、非吸着画分、アセトン溶出画分、アンモニア溶出画分に分画したが、非吸着画分、アセトン溶出画分では、分岐鎖アミノ酸／芳香族アミノ酸比が原料のハイニュートより高く、アンモニア溶出画分では逆に低い値を示した。HP20 も有効で、分岐鎖アミノ酸／芳香族アミノ酸比が原料のハイニュートより高い製品が得られた。これらの方法は、操作も簡便で、全体としてのアミノ酸の回収率も良好なことから、特徴あるアミノ酸組成の標品を使って食餌を設計する上で、有効に利用できると考えられる。

文 献

- 1) 金 鍾姫, 高橋伸一郎, 野口 忠(1993): 実験的糖尿病ラットへの SPI の給与効果. 大豆たん白質研究会会誌, **14**, 76-78.
- 2) 野口 忠, 団野 浩, 竹中麻子, 高橋伸一郎(1994): 分離大豆たん白質(SPI)を主たるたん白質源とする糖尿病モデル動物に対する食餌の設計とその評価. 大豆たん白質研究会会誌, **15**, 120-123.
- 3) 野口 忠, 竹中麻子, 日高智美(1995): ガラクトサミン肝障害ラットへの SPI を含む飼料の投与効果. 大豆たん白質研究会会誌, **16**, 115-118.
- 4) 野口 忠, 日高智美(1996): ガラクトサミン肝障害ラットへの分離大豆たん白質をたん白質源とする飼料の効果. 大豆たん白質研究会会誌, **17**, 71-76.
- 5) 野口 忠, 日高智美(1997): 分離大豆たん白質を窒素源として設計された食餌のラット肝障害と自然発症糖尿病に対する効果. 大豆たん白質研究会会誌, **18**, 78-81.