

博士論文審査報告書

論文題目

Screening of Salt Taste Enhancing
Dipeptides and Effective Production of the
Dipeptides by L-Amino Acid Ligase

L-アミノ酸リガーゼを利用した
塩味増強効果を有するジペプチドの探索と
効率的な合成法の開発

申請者

Haruka	KINO
木野	はるか

応用化学専攻 応用生物化学研究

2016年2月

本論文は、無保護のアミノ酸を直接連結しジペプチドを合成する L-アミノ酸リガーゼ (Lal) を用いた塩味増強効果を有するジペプチドの探索と Lal の機能改変によるジペプチドの効率的合成法の開発について述べている。

ジペプチドはアミノ酸 2 個が結合した化合物で、血圧降下作用や呈味改善作用などそれを構成するアミノ酸単体には認められない機能性を有するものも存在する。申請者は減塩への意識が高まる社会的背景を踏まえて「塩味」に着目し、塩味増強効果を有するジペプチドを探索した。その際、天然のタンパク質を微生物や酵素などで加水分解して探索する従来法ではなく、その方法では評価対象とならない加水分解で遊離しやすいアミノ酸を含むジペプチドを直接合成して評価する独創的な方法論を提案している。具体的には、任意のジペプチド合成が可能な *Pseudomonas* 属細菌由来の Lal である TabS を用いてジペプチドライブラリーを構築し、反応液を直接評価する効率的な方法によって Met-Gly と Pro-Gly を塩味増強ジペプチドの候補として見出している (第 2 章)。さらにそれぞれの標品を用いて官能と味覚センサーによる評価を行い、両ジペプチドに塩味増強効果があることを明らかにしている (第 3 章)。新たに考案した方法論によって新規な塩味増強ジペプチドを見出したことは産業的にも高く評価できる。また、第 4 章以降では、Lal の機能改変によるジペプチドの効率的生産法について述べている。*Bacillus* 属細菌由来の Lal である BL00235 に対し、その結晶構造情報を踏まえて変異酵素を作製し、Met と Gly を基質とする反応において Met-Gly の選択的合成を達成した (第 4 章)。タンパク質構造情報からデザインした変異型 Lal によるジペプチドの選択的合成は画期的な成果であり、これが初の成功事例となる。さらに本知見は TabS にも適用され、従来対比で 1.6 倍量の Pro-Gly 合成を可能とする二重変異型酵素の創出にも成功している (第 5 章)。第 4 章と第 5 章で目的ジペプチドの効率的合成を達成したことは学術的、産業的に極めて有用な成果であると高く評価できる。さらに高価な ATP を必要とする本反応において、ATP 再生系を共役させて ATP の使用量を大幅に削減する低コストプロセス構築の可能性も示されている (第 6 章)。

以上のように、本論文の内容は新規な塩味増強ジペプチドの発見とそれらジペプチドの効率的な酵素的合成法の開発を明示しており、応用化学の分野における創造的かつ革新的な成果として高く評価できる。

よって本論文を博士 (工学) の学位論文として価値あるものと認める。

2016 年 2 月

審査員

(主査)	早稲田大学教授	工学博士 (早稲田大学)	木野	邦器
	早稲田大学教授	工学博士 (早稲田大学)	桐村	光太郎
	早稲田大学教授	工学博士 (早稲田大学)	西出	宏之