

3P-1165 Production of low antigenic whey protein hydrolysates using an acid proteinase purified from *Monascus purpureus*

○Lakshman Nilantha¹, Toyokawa Yoichi¹, Tachibana Shinjiro², Yasuda Masaaki²
(¹Grad. School of Agric., Kagoshima Univ.,²Dept. Biosci. Biotechnol., Univ. of the Ryukyus)

Cheese whey has gained attention as a protein source in various food industries including functional foods, infant formulas, and bakery. However, whey protein antigenicity is frequently observed in infancy. One of the common means to reduce whey protein antigenicity is enzymatic hydrolysis of its major proteins such as alpha-lactalbumin, beta-lactoglobulin, and antigenic caseins. Recently, we have purified an acid proteinase (MpuAP) from *Monascus purpureus* with higher substrate specificity towards milk proteins. In this study, we report application of the purified MpuAP for lowering whey protein antigenicity. Antigenicity of whey protein hydrolysates (WPH) prepared by MpuAP, pepsin, trypsin, and their combinations were evaluated by the method of inhibition-ELISA. Antigenicity of WPH was correlated with degree of the hydrolysis of whey protein by MpuAP. The combination of both MpuAP and pepsin was shown to be completely removing the allergic proteins in tricine-SDS-PAGE. And it was also observed the lowest inhibition of rabbit-antiserum compared to other individual enzymes. Since there were no small peptides could be seen in tricine-SDS-PAGE and the lowest antigenicity observed in the way of MpuAP-trypsin combination, it would be an efficient method for the preparation of hypoallergenic milk WPH avoiding the ultrafiltration.

Production of low antigenic whey protein hydrolysates using an acid proteinase purified from *Monascus purpureus*

○Lakshman Nilantha¹, Toyokawa Yoichi¹, Tachibana Shinjiro², Yasuda Masaaki²
(¹Grad. School of Agric., Kagoshima Univ.,²Dept. Biosci. Biotechnol., Univ. of the Ryukyus)

Key words *Monascus purpureus*, acid proteinase, whey proteins, antigenicity

3P-1167 *Porphyromonas gingivalis* に対して抗菌活性を有する新規米由来タンパク質の検索と同定

池田 丈一郎¹, 原田 計², 口出 夏己¹, 高屋 朋彰³,
○落合 秋人^{1,2}, 田中 孝明^{1,2,3}, 谷口 正之^{1,2,3}
(¹新潟大・自然研,²新潟大・工・機能材料,³新潟大・VBL)

【目的】歯周病は、成人の8割以上が罹患している代表的な歯科疾患の一種であり、その予防法と治療法の開発が急務である。一方で、米のタンパク質に関する栄養学的な研究は行われているが、生理活性を示すタンパク質やペプチドに関する報告は少ない。本研究では、歯周病菌 *Porphyromonas gingivalis* に対する抗菌活性を示す米タンパク質成分を探索し、その同定を試みた。

【方法と結果】破砕米に10倍量の純水を加えて懸濁し、攪拌することによって米抽出液を調製した。抗菌活性は、生菌に由来するATPの発光強度を測定することによって評価した。抽出液から各種イオン交換クロマトグラフィーおよびゲル濾過クロマトグラフィーなどによって抗菌タンパク質の精製を行った。その結果、タンパク質濃度が80 μg/mlの粗精製画分に *P. gingivalis* JCM 8525の増殖を阻害する活性を見出した。また、本画分をSDS-電気泳動を用いて分析した結果、分子質量20-30 kDa程度のタンパク質が存在することが示唆された。現在、MALDI TOF/MSとプロテインシーケンサーなどを用いて当該タンパク質の同定を試みている。

Screening and identification of novel antimicrobial proteins from rice grain against *Porphyromonas gingivalis*

Takeichiro IKEDA¹, Kazuki HARADA², Natsuki KUCHIDE¹, Tomoaki KOUYA³, Akihito OCHIAI^{1,2}, Takaaki TANAKA^{1,2,3}, Masayuki TANIGUCHI^{1,2,3}
(¹Grad. Sch. of Sci. Technol., Niigata Univ.,²Dept. Mat. Sci. Technol., Niigata Univ.,³VBL, Niigata Univ.)

Key words antibacterial protein, rice, *Porphyromonas gingivalis*, food material

3P-1166 米タンパク質由来 CH ペプチドの口腔細菌に対する抗菌作用とその機構の解明

○谷口 正之^{1,2,3}, 高橋 信輝¹, 高柳 智博¹, 武井 教展², 落合 秋人¹, 田中 孝明^{1,2,3}
(¹新潟大・自然研,²新潟大・VBL,³新潟大・FSC)

【目的】近年、従来の抗生物質に対して耐性を有する有害菌の増加に伴って、新しい治療薬や機能性食品素材として抗菌ペプチドが関心を集めている。そこで本研究では、代表的な口腔細菌である歯周病菌に対する米タンパク質由来CHペプチドの抗菌作用とその作用機構の解明を目的とした。

【実験方法】本研究では、口腔細菌として主に歯周病菌 *Porphyromonas gingivalis* JCM 8525を使用し、抗菌ペプチドとして、米のCyanate hydrataseの12残基のアミノ酸からなる部分配列CH(14-25)を合成した。また、アミノ酸残基を除去したペプチドおよびアラニンで置換したペプチドを合成した。抗菌活性は、生菌に由来するATPの発光強度を測定することによって評価した。また、ペプチドの細胞膜への作用は、diSC3-5を用いた細胞膜脱分極アッセイとベシクルからのCalceinの放出アッセイによって検討した。

【結果】ペプチドCH(14-25)は歯周病菌に対して抗菌活性を示した。また、N-およびC-末端残基はそれぞれ抗菌活性に寄与していることがわかった。さらに、CHペプチドは細菌膜に作用して細胞死を引き起こす可能性が高いことが示唆された。

Antimicrobial activity of CH peptides from a rice protein against oral bacteria and clarification of the mode of action.

○Masayuki TANIGUCHI^{1,2,3}, Nobuteru TAKAHASHI¹, Tomohiro TAKAYANAGI¹, Norihiro TAKEI², Akihito OCHIAI¹, Takaaki TANAKA^{1,2,3}
(¹Grad. Sch. of Sci. Technol., Niigata Univ.,²VBL, Niigata Univ.,³FSC, Niigata Univ.)

Key words antibacterial peptide, rice, *Porphyromonas gingivalis*, membrane depolarization

3P-1168 焼酎製造に用いられる大麦の品種判別

○井田 寛子¹, 田野上 佳枝¹, 岩見 明彦¹, 梶原 康博¹, 高下 秀春¹, 大森 俊郎¹, 下田 雅彦¹, 衛本 圭史², 安部 良樹³, 池永 亜希子³, 馬木 紳次⁴, 細田 晴夫⁴, 平松 紀延⁴
(¹三和酒類株式会社,²大分県豊肥振興局,³大分県農林水産研究指導センター,⁴全国精麦工業協同組合)

(目的)

昨今の食品表示偽装事件などにより、消費者の安全・安心意識はますます高まっている。また、大麦焼酎業界においても大麦輸入制度の変更で大麦流通の自由度が増したことから、品質保証の観点からも原料の産地や品種の証明は重要であると考えている。我々はこれまでにDNAマーカーを用いた国内・外国産大麦の品種判別について報告した¹⁾。今回は前報にて確立した技術をふまえ、国内での流通実績があり一般的に焼酎醸造に用いられる代表的な外国産二条大麦に対して、より詳細な検証を行ったので報告する。

(方法・結果)

焼酎製造に用いられる代表的な大麦5品種(Metcalf, Schooner, Stirling, Baudin, Flagship)を判別対象サンプルとした。前報に基づき、改良CTAB法を用いてDNA抽出を行った。得られたDNAを鋳型として、3種類のSTSプライマーを用いてPCRを行い、増幅産物の電気泳動パターンを確認した。また、同一大麦品種について、年度別あるいは産地別サンプルについても並行して同様の試験を行い、品種判別の有効性を確認した。現在、簡便性をより高め、品質管理レベルでも容易に利用可能な方法の開発と確立を目指している。

1) 田野上ら：「DNAマーカーを用いた玄麦からの国内・外国産大麦の品種判別」(平成22年度日本醸造学会大会要旨集)

Identification of Barley varieties for *shochu* production

○Hiroko IDA¹, Yoshie TANOUÉ¹, Akihiko IWAMI¹, Yasuhiro KAJIWARA¹, Hideharu TAKASHITA¹, Toshiro OMORI¹, Masahiko SHIMODA¹, Keishi EMOTO², Yoshiki ABE³, Akiko IKENAGA³, Shinji MAKI¹, Haruo HOSODA⁴, Motonobu HIRAMATSU⁴ (SANWA SHURUI Co., Ltd.,²Oita Pref.,³Oita Pref. Agric. Res. Center,⁴ZENBAKUREN)

Key words barley, identification, PCR