

論文審査の結果の要旨

報告番号	博(生)甲第181号	氏名	裴 仁佑
学位審査委員	主査 原 研治 副査 長富 潔 副査 橘 勝康		
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>裴 仁佑氏は平成15年2月に韓国、釜慶大学水産学部食品生命科学科を卒業後、平成16年4月長崎大学大学院生産科学研究科博士前期課程に入学した。平成18年同研究科を修了後、引き続き、同研究科の博士後期課程に入学し、現在に至っている。同氏は生産科学研究科に入学以降、有明海産エイ類の酸可溶性コラーゲンの生化学的利用に関する研究に従事し、その結果を平成20年12月に主論文「Studies on Biochemical Utilization of Acid-soluble Collagen and Gelatinolytic Enzymes from Ray Species in Ariake Sound (有明海産エイ類の酸可溶性コラーゲン及びゼラチン分解酵素の生化学的利用)」として完成させ、審査付論文3編を含む参考論文4編を添えて、長崎大学大学院生産科学研究科教授会に博士(学術)の学位を申請した。</p> <p>長崎大学大学院生産科学研究科教授会は平成20年12月17日の定例教授会において、論文内容の要旨を検討し、本論文を受理して差し支えないものと認め、上記の審査委員を選定した。委員は主査を中心に論文内容について慎重に審議し、公開論文発表会を実施すると共に、最終試験を行い、論文審査および最終試験の結果を平成21年2月18日の研究科教授会に報告した。</p> <p>提出論文は、エイ類の有効利用の一環として有明海産エイ類3種(ナルトビエイ、アカエイ、シロエイ)の皮より酸可溶性コラーゲン(ASC)を抽出し、その生化学的特性の解明及び有効利用について検討している。</p> <p>コラーゲンは、細胞外マトリックスの重要な構成成分であり、構造特性並びに多様な機能を利用して再加工することによって食品、化粧品、医薬品の分野など、その用途は非常に広範囲に及ぶ。魚は人獣共通感染症の例がほとんどないため、安全なコラーゲン原料として魚類コラーゲンに関する研究が求められている。</p> <p>第1章では、本研究に関連した従来のコラーゲンに関する研究及び本研究の目的と概要について記述した。</p> <p>第2章では、有明海に生息するエイ類3種(ナルトビエイ、アカエイ、シロエイ)の皮から酸可溶性コラーゲンを抽出し、その生化学的特性を調べた。抽出精製したコラーゲンのアミ</p>			

ノ酸組成は試料魚によって若干差が見られたが、特に熱変性温度に関わると考えられるイミノ酸(Pro+Hyp)の含量が硬骨魚類より高かった。更に、魚類由来コラーゲンの熱変性温度が30℃以下であるのに対して、エイ類は32-34℃であり、比較的高い熱変性温度を示した。以上のように、エイ類からのASCは比較的高い熱変性温度を示したことから哺乳動物由来コラーゲンの代替としての利用が期待されることを示した。

第3章では、コラーゲン原料として第2章で抽出したエイ類コラーゲン(アカエイ、ナルトビエイ)を使用し再線維化によるコラーゲン線維ゲルの調製を行った。コラーゲンの再線維化過程においてコラーゲン線維形成度は、pHの上昇と共に増加し、pH 6.8以上で2種ともASCの90%以上が再線維化した。また、pH 7.4、NaCl 35 mMの条件で調製した両コラーゲンゲルの熱安定性を示差走査熱量測定(DSC)で評価したところ、形成したコラーゲンゲルの融解温度は約44℃であり、コラーゲンの変性温度である約33℃より上昇した。さらに、これらのコラーゲンゲルを用いた37℃での細胞培養においてもゲルは溶解せず、マウスストローマ細胞(FLS 5)の成長が確認された。これらの結果から、アカエイ及びナルトビエイコラーゲンゲルが細胞培養基質として利用できる可能性を示唆した。

第4章では、アカエイ皮由来ゼラチン(熱変性コラーゲン)のマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)の基質としての有効性を検討した。MMPの活性測定方法としてよく用いられるゼラチンザイモグラフィに着目し、通常基質として広く用いられる牛ゼラチンと今回調製したアカエイゼラチンとの比較を行った。アカエイゼラチンの方が明瞭な活性バンドとして検出でき、アカエイゼラチンがMMPの基質として有効であると考えられた。

第5章では、アカエイ筋肉中のゼラチン分解酵素の検索及び精製を試みた。これは産業規模でのゼラチン分解酵素の利用及びコラーゲン分解機構の解明につながると考えられる。精製過程(Q Sepharose)中、ゼラチンザイモグラフィ(非還元下)により少なくとも4種類のゼラチン分解酵素が検出された。そのうちゼラチン分解活性の強かったA1(約97 kDa)、A2(約66 kDa)に関してPhenyl Sepharoseカラムに供しさらに精製を進めた。この精製酵素を用いてプロテアーゼインヒビターの影響を調べたところ、A1、A2は共にセリンプロテアーゼであると考えられた。また、両酵素は中性pH(pH 7-8)、30-50℃の温度域で最も強い活性を示し、pH 7.5、37℃においてゼラチンと反応させると、反応6時間後にはほぼ完全にゼラチンを分解した。

以上の結果から有明海産エイコラーゲンは比較的高い熱安定性を持つ魚類コラーゲンとして細胞培養基質やMMPの基質としての有効性を示した。これらの知見は、エイ類コラーゲンの有効利用の分野に貢献するものであることを認め、博士(学術)の学位に値するものとして合格とした。