

報 文

プロテアーゼ処理挽き割り納豆からの ACE 阻害物質の精製・同定と
高血圧自然発症ラットにおける納豆の血圧上昇抑制作用

嶋影 逸^{1*}，新保 守¹，山田清繁¹，Ardiansyah²，白川 仁²

駒井三千夫²，樋渡一之^{2,3}，戸松 誠³，高橋砂織³

(投稿日：2011.8.17、受理日：2011.12.16)

血圧上昇抑制作用は、納豆の機能性の一つとして知られている。納豆はレニン-アンジオテンシン系の鍵酵素アンジオテンシン変換酵素 (ACE) を阻害することで、血圧上昇抑制作用を発揮していると推察されている。納豆の血圧上昇抑制作用に関しては、これまでいくつかの研究報告がなされているが、納豆由来の血圧上昇抑制物質については知見がほとんどない。我々は、ACE 阻害活性が通常の挽き割り納豆よりも約 1.4 倍高いプロテアーゼ処理挽き割り納豆より、ACE 阻害物質を精製・同定した。その結果同定された ACE 阻害物質には、新規な ACE 阻害ペプチド Ile-Ile, Ile-Asp, Ile-Phe-Tyr, Leu-Phe-Tyr 及び Leu-Tyr-Tyr が含まれることが判った。更にプロテアーゼ処理挽き割り納豆より粗抽出物を調製し、脳卒中易発性高血圧自然発症ラットに経口投与 (抽出物の投与量はラットの体重 1kg あたり 80mg) すると、有意な収縮期血圧降下を確認することができた。

キーワード：納豆，レニン-アンジオテンシン系，アンジオテンシン変換酵素(ACE)，ACE 阻害ペプチド

1. はじめに

納豆や味噌など大豆食品の生理機能の一つに、血圧上昇抑制作用がある。これまで、高等動物において普遍的な血圧調節系レニン-アンジオテンシン系の鍵酵素アンジオテンシン変換酵素

(Angiotensin-converting enzyme: ACE) を阻

害する植物由来の血圧上昇抑制物質として、ニコチアナミンが醤油¹⁾やモロヘイヤ²⁾，アシタバ³⁾，ハヤトウリ⁴⁾，大豆煮汁⁵⁾などから精製・同定されている。

更にニコチアナミンの他にも、ACE 阻害活性を有するペプチドが存在しており、具体的にはワカメ⁶⁾，ブロッコリー⁷⁾，イワシ⁸⁾，カゼイン⁹⁾，ニワトリ¹⁰⁾¹¹⁾，ローヤルゼリー¹²⁾などから単離された ACE 阻害ペプチドがこれまでに報告されている。これら食品由来の ACE 阻害ペプチドの研究は、牛乳由来のカゼインドデカペプチドの発見¹³⁾にその端を発しており、現在までに血圧上昇抑制作用を謳った特定保健用食品 (トクホ) の関与成分となっ

¹株式会社ヤマダフーズ(〒013-1901 秋田県仙北郡美郷町野荒町字街道の上 279)

²東北大学大学院農学研究科栄養学分野(〒981-8555 仙台市青葉区堤通雨宮町 1-1)

³秋田県総合食品研究センター(〒010-1623 秋田市新屋町字砂奴寄 4-26)

* 著者連絡先 E-mail:

shimakage@yamadafoods.co.jp

ているものも存在する。具体的にはカルピス酸乳より見出されたラクトリペプチド Val-Pro-Pro, Ile-Pro-Pro¹⁴⁾, イワシすり身を酵素分解して得られるイワシペプチド Val-Tyr⁸⁾¹⁵⁾などを挙げるができる。

納豆の ACE 阻害活性に着目した研究では, Okamoto ら¹⁶⁾, 伊部ら¹⁷⁾などによる報告がこれまでになされている。しかし ACE 阻害物質の詳細についての報告は殆どない。

本研究では, 納豆由来 ACE 阻害物質の精製・同定を目的とした。まず極小粒納豆と挽き割り納豆の ACE 阻害活性を比較した。次に納豆製造時のプロテアーゼ製剤添加効果を検討した。さらに, 酵素処理挽き割り納豆より, ACE 阻害活性ペプチドを精製しその構造を決定した。

この他, 酵素処理挽き割り納豆抽出物を脳卒中易発性高血圧自然発症ラット (SHRSP) に経口投与し, 血圧降下作用を検証した。

2. 実験方法

2-1 納豆の調製

極小粒及び挽き割りの原料大豆を, それぞれ製造工程よりサンプリングした。原料大豆としては極小粒納豆と挽き割り納豆共に, カナダ産大豆を使用した。なお挽き割り納豆用の原料大豆については, 本研究の途中にヤマダフーズ本社工場において大豆品種の切り替えがあり, 酵素処理挽き割り納豆の作製時ではそれまで使用した SO3W4 と異なる品種 KG41 を使用した。また極小粒納豆と挽き割り納豆の作製に使用した納豆菌には, いずれもヤマダフーズ自社株 (本研究所にて以前単離された納豆菌) を用いた。極小粒と挽き割りの原料大豆をそれぞれ 15°C で 18 時間及び 4 時間浸漬した後, ザルに移して水を切った。得られた浸漬大豆を, オートクレーブ(株式会社平山製作所製)にて極小粒は 123°C, 30 分, 挽き割りは 114°C, 8 分の条件でそれぞれ蒸煮した。蒸煮後, 煮豆に前述の納豆菌の孢子懸濁液を接種して, 40°C のプログラム低温恒温器(ヤマト科学株式会社製)で発酵させた。発酵時間は極小粒で 15 時間, 挽き割

りで 14 時間とした。納豆は極小粒と挽き割り共に, 発酵終了日 (0 日目) から 5°C で一晚保存した後, 翌日 (1 日目) から 10°C で保存した。なお酵素処理挽き割り納豆の作製は, 煮豆に自社株を接種する際に食品添加物扱いのプロテアーゼ製剤 (天野エンザイム株式会社製) を煮豆に対して 0.5% (w/w) 添加した以外は, 通常の挽き割り納豆と同様の手順で行なった。プロテアーゼ製剤には, 大豆タンパク質からペプチドを得るためにエンド型活性を持つと共に, 蒸煮直後の熱い煮豆に納豆菌液と共に添加するために耐熱性を有し, かつ納豆の風味に影響を与えないために増量剤にデキストリンが使用されている製剤を使用した。

2-2 納豆の熱水抽出液の調製

納豆に 10 倍量 (w/v) の蒸留水を加えて, オートクレーブにて 121°C, 15 分の条件で熱水抽出を行なった。熱水抽出液を水冷した後, 市販のジューサーミキサーで均質化して懸濁液にした。これを 4000×g, 10 分間の遠心分離を行い, 得られた上清を ACE 阻害活性測定を試料とした。

2-3 試料のタンパク質量の測定¹⁸⁾

2-2 で得た試料を蒸留水で適宜希釈し, 280nm における吸光度(A280)を測定して求めた。

2-4 試料の ACE 阻害活性の測定

試料の ACE 阻害活性測定は, Friedland らの方法¹⁹⁾に従って行なった。2-2 で得た試料を蒸留水で適宜希釈した溶液を, 1.5ml マイクロチューブに 5 µl ずつ分取した。これらに 10mU/ml のウサギ肺由来 ACE (Sigma 製) 10 µl を加えた後, 2.29mM の基質 Bz-Gly-His-Leu (株式会社ペプチド研究所製) 溶液 35 µl を加え, 37°C で 30 分間反応させた。反応後に 50 µl の 0.1N NaOH を加えて反応を停止させた。1.0% (w/v) オルトフタルアルデヒド (OPA) 溶液 10 µl を加えて室温で 10 分間反応を行い, 基質分解物を蛍光誘導体化させた。反応後に 140 µl の 0.1N HCl を加え, 励起波長 355nm, 蛍光波長 460nm で各検体の蛍光強度を測定した。標準物質として His-Leu

を用いた。測定結果より各試料の希釈液毎に ACE の相対活性を算出し、ACE を 50% 阻害するタンパク質濃度 (IC₅₀) を求めた。各納豆の ACE 阻害活性については、算出した IC₅₀ を基に「IC₅₀ と同量のタンパク質量」を 1 阻害 U と定義して求めた。

2-5 酵素処理納豆からの ACE 阻害ペプチドの精製

酵素処理納豆 100 g に蒸留水 800 ml を加え 121 °C, 15 分間オートクレーブして冷却後、市販のジューサーミキサーで破碎した。破碎液を 10000×g, 30 分間遠心分離し、上清(800 ml)を回収した。上清(200 ml)を SepPak C18 35cc カラムに添加し、蒸留水で十分洗浄後、吸着物質を 100 ml のメタノールで溶出した。この操作を 4 回繰り返した。メタノール溶出液(400 ml)を減圧乾燥後、25 ml の 10% エタノールに溶解し、同じく 10% エタノールで平衡化した Biogel P-4 カラム(φ5×65 cm)に添加した。流速は 60 ml/時とし、15 ml ずつ分画した。各分画の 280 nm の吸光度及び ACE 阻害活性を測定した。ACE 阻害活性は 6 画分 (A-F) に溶出された。得られた 6 画分を凍結乾燥後、それぞれさらに蒸留水で平衡化したオクタデシルシリカカラム(10×300mm, Waters, Sep-Pak C₁₈ Innate Open column)に添加した。流速は 2.0ml/min とし、0-100%メタノールのリニアグラジエント(60 分)によりペプチド類を溶出した。溶出液の 280 nm 及び 215 nm の吸光度と ACE 阻害活性を測定した。次いで、阻害活性と吸光度のピークが一致する画分が得られた D 及び F から分画した 2 画分について、それぞれ RESOURCE RPC 1ml カラム(GE ヘルスケア製、φ0.64×3cm)を用いた逆相クロマトグラフィシステム(GE ヘルスケア製、ÄKTAexplorer 100)で分画した。溶出は水-50%アセトニトリルのリニアグラジエント(20 分間)、流速は 1 ml/min、測定波長は 280nm および 210nm で行った。0.5 ml ずつ分取し ACE 阻害活性を測定した。この分画において、阻害活性と吸光度のピークが一致する 11 画分が得られた。

2-6 ACE 阻害ペプチドのシーケンス分析

ACE 阻害活性を示すピークをポリブレン処理したガラスフィルターにスポットし、Protein Sequencer (株式会社島津製作所製、PPSQ-10)にてアミノ酸配列を決定した。同定した配列と一致する大豆タンパク質の検索には BLAST¹⁾を使用した。

2-7 動物実験

動物投与に投与する粗抽出物は、上記と同様の方法で調製した。すなわち、酵素処理納豆に蒸留水を加えて加熱・破碎した溶液の遠心上清を SepPak C18 35cc カラムに添加、吸着された物質をメタノールで溶出した。この溶出物を減圧乾固したものを粗抽出物とし、40mg/ml となるように蒸留水に溶解したものを試料溶液とした。

実験動物として脳卒中易発性高血圧自然発症ラット SHRSP/Izumo (12 週齢、雄、日本エスエルシー株式会社)を用いた。ラットは温度 23±2°C、湿度 50±10%、1 日 12 時間人工照明に調節した動物飼育室内に設置したステンレス製金網ケージで個別飼育し、AIN-93M 組成の飼料と飲水を自由摂取させた。12 匹のラットを馴化のため 1 週間予備飼育した後、試料群(6 匹)、対照群(6 匹)に分けた。試料群には試料溶液、対照群には蒸留水をラット用金属製胃ゾンデで強制経口投与した。投与量は、納豆粗抽出物および市販の血圧降下作用を有する飲料の ACE 阻害活性を比較する予備検討を行い、その結果から *in vivo* における十分な血圧降下作用を推定できる量であるラット体重 1kg 当たり 2ml (粗抽出物としてラット体重 1kg 当たり 80mg)とした。試料溶液は投与までの間 -20°C で保存し、投与前に室温で解凍、室温に戻った溶液を十分攪拌した後に投与した。血圧測定は、経口投与直前および投与 1, 2, 4, 6 時間後にマウス・ラット用無加温型非観血式血圧計 MK-2000(室町機械株式会社製)を用いたテイルカフ法で行った。本動物実験は、「東北大学大学院農学研究科実験動物委員会」の承認(承認番号 07-07B)のもと実施した。

2-8 統計処理

全ての測定値は平均値±標準誤差で示

した。図1における a), b)それぞれのグラフ内での比較は、分散分析(one-way ANOVA)および Tukey ポストテストを用いた。図2における比較では、分散分析(two-way ANOVA)および Bonferroni ポストテストを用いた。図3における比較では、分散分析(two-way repeated measures ANOVA)および Bonferroni ポストテストを用いた。すべての解析で有意水準は両側検定で5%以下とした。統計処理には、GraphPad Prism5.0-J (Graphpad Software 社製)を用いた。

3. 実験結果および考察

3-1 各種納豆の ACE 阻害活性の経時変動

極小粒納豆と挽き割り納豆の ACE 阻害活性の経時変動を図1に示した。図1より粒納豆と挽き割り納豆共に、保存日数の経過と共に ACE 阻害活性が有意に上昇した後、6日目以降ほぼ一定になることが判った。ただし6日目における ACE 阻害活性は、初発日(極小粒納豆は1日目、挽き割り納豆は0日目)を基準にした場合、粒納豆では約1.7倍上昇(図1a)、挽き割り納豆では約3.0倍の上昇(図1b)

となり、挽き割り納豆の方が上昇度合いの大きいことが判った。また粒納豆と挽き割り納豆の ACE 阻害活性を比較すると、保存期間全体を通じて挽き割り納豆の方が大きく、その差は最大で約2.5倍となった。

挽き割り納豆の ACE 阻害活性が粒納豆よりも大きくなる理由として、丸粒大豆と違い脱皮しており、かつ挽き割られ表面積が大きい原料大豆を製造に使用していることが考えられる。丸粒大豆が脱皮され挽き割られることで豆の内部がむき出しになり、納豆菌の作用をより受け易くなる分 ACE 阻害物質の生成量が多くなると推察された。

3-2 酵素処理挽き割り納豆の ACE 阻害活性

酵素処理挽き割り納豆と通常の挽き割り納豆の ACE 阻害活性の経時変動を図2に示した。図2より酵素処理挽き割り納豆の ACE 阻害活性は、保存期間を通じて挽き割り納豆よりも有意に高く、11日目においても41%大きくなることが判った。その一方で11日目における ACE 阻害活

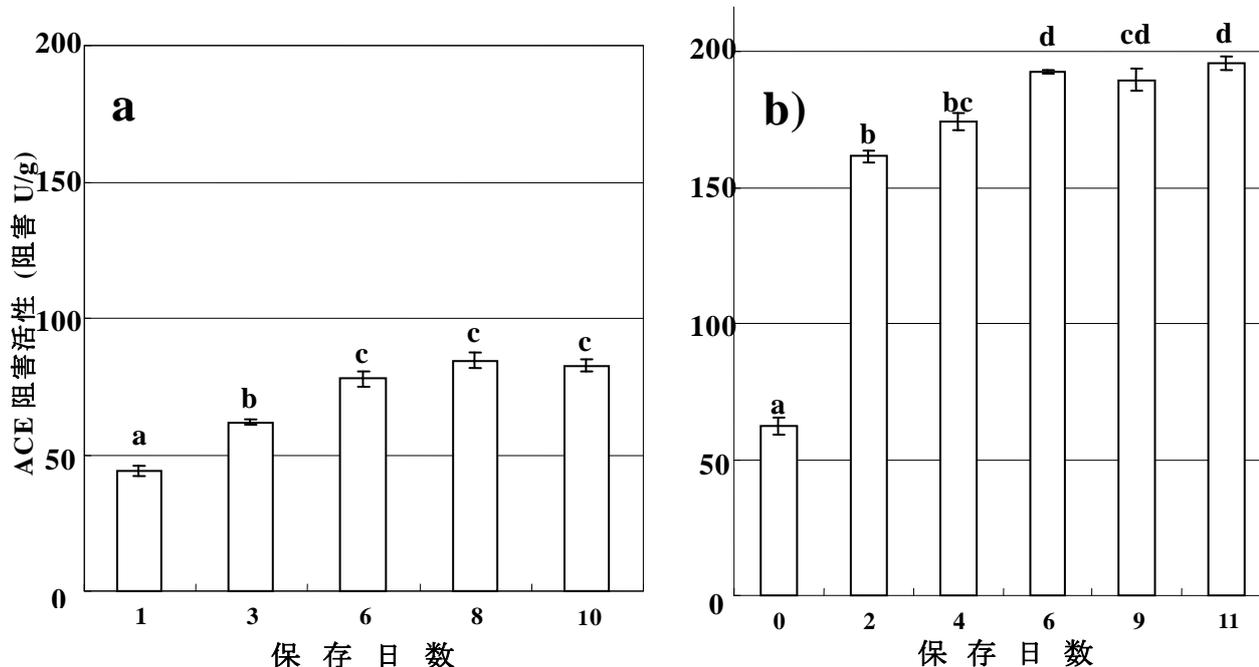


図1 各種納豆の ACE 阻害活性の経時変動

a), 極小粒納豆 ; b), 挽き割り納豆. データは平均値±標準誤差で示した(n=3). 異なる文字は統計的に有意な差があることを示す(p<0.05).

性は1日目を基準とした場合、酵素処理挽き割り納豆と通常の挽き割り納豆でそれぞれ約1.1倍、約2.4倍と有意に上昇し、後の方が上昇度合いの大きいことが判った。これは、通常の挽き割り納豆では発酵終了後の冷蔵保存中に納豆菌の働きでACE阻害物質が生成していくのに対し、酵素処理挽き割り納豆では発酵前に添加したプロテアーゼ製剤により、発酵

中にACE阻害物質が生成することによるものであると推察した。また酵素処理挽き割り納豆の作製にはプロテアーゼ製剤を使用していること、酵素処理挽き割り納豆のACE阻害活性が保存期間を通じて挽き割り納豆よりも高い事実より、前者に含まれるACE阻害物質は後者とは異なる可能性が推察された。

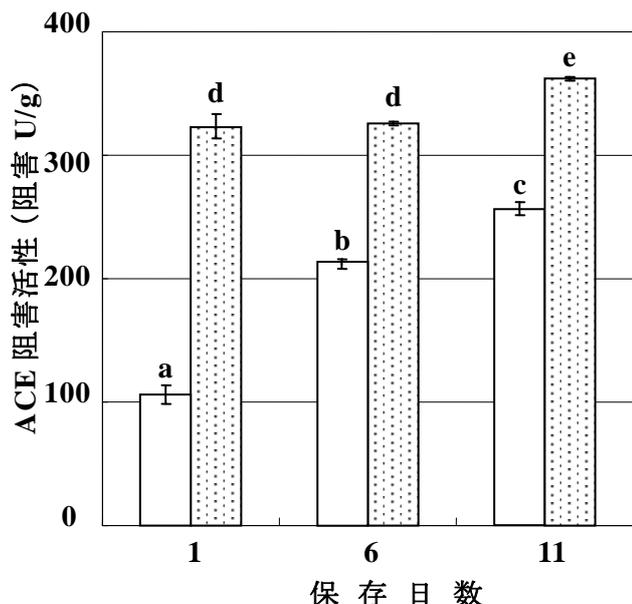


図2 各種挽き割り納豆のACE阻害活性の経時変動の比較

□, 挽き割り納豆; ▨, 酵素処理挽き割り納豆。データは平均値±標準誤差で示した(n=3)。異なる文字は統計的に有意な差があることを示す(p<0.05)。

3-3 酵素処理納豆からのACE阻害物質の精製・同定

表1に酵素処理挽き割り納豆から同定されたACE阻害ペプチド11種類の詳細を示した。これら11ペプチドの配列と一致する配列は、いずれも大豆タンパク質データベースに登録されていた。従って、これらのACE阻害ペプチドは全て、大豆タンパク質の分解によって生成したものであると考えられた。また、これらのペプチド11種類のうち5種類は、これまで報告のない新規ACE阻害ペプチドであった。

3-4 動物実験による血圧降下作用の確認

強制経口投与後のラットの外見的状态、行動に異常は認められなかった。試験期間中の血圧の変化を図3に示した。対照群は投与後もほとんど血圧は変化しなかった。これに対し、試料群は投与1時間後から対照群に対して有意な低値(18.4%低下)を示し、最終測定である6時間後まで継続して血圧が有意に低

表1 ACE阻害ペプチドのアミノ酸配列

配列	由来する大豆タンパク質
Ile-Ile*	β-アミラーゼ 他
Ile-Asp*	サイクリン 他
Ile-Phe-Tyr*	ユビキチン特異的プロテアーゼ 12 他
Leu-Phe-Tyr*	RNA-結合タンパク質 他
Leu-Tyr-Tyr*	リポオキシゲナーゼ 他
Ile-Phe ²⁰⁾²¹⁾	フラボノイド 3',5'-ヒドロキシラーゼ 他
Leu-Ile ²²⁾	NADH デヒドロゲナーゼスブユニット 7 他
Leu-Phe ²³⁾	ペルオキシダーゼ 他
Leu-Ile-Tyr ²¹⁾	逆転写酵素 他
Ile-Ile-Tyr ²⁴⁾	フィトールキナーゼ 他
Trp-Gly-Pro ²⁵⁾	プロテインジスルフィドファミリー 他

*: ACE阻害ペプチドとして新規配列

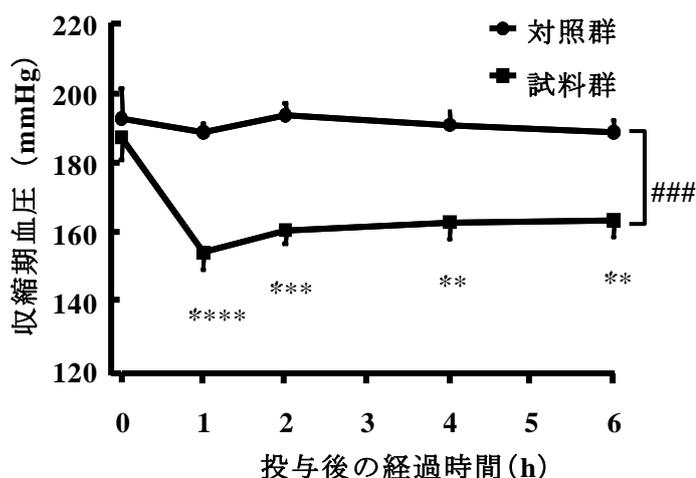


図3 納豆抽出物の経口投与によるSHRSPの収縮期血圧の変化

データは平均値±標準誤差で示した (n=6). *は対照群に対して、各経過時間の時点で統計的に有意な差があることを示す (**: $p<0.01$, ***: $p<0.001$, ****: $p<0.0001$). #は対照群と試料群それぞれの血圧の変化に統計的に有意な差があることを示す (###: $p<0.001$).

くなっていた。さらに分散分析の結果、対照群と試料群それぞれの血圧の変化に統計的に有意な差があることが認められた。以上のことから、*in vitro* でACE阻害活性を有する挽き割り納豆の熱水抽出液は、*in vivo* においても血圧降下作用を示すことが明らかとなり、その作用は前述のACE阻害ペプチドによることが示唆された。

なお本研究の一部は、文部科学省「都市エリア事業」補助金により行われました。

4. 文献

- 1) 木下恵美子, 山越 純, 菊池 譲: 醤油中の血圧降下物質について, 日本醸造協会誌, **89**, 126-130 (1994).
- 2) Kimoto K., Kuroda Y., Saito Y., Yamamoto J., Murakami T., Aoyagi Y.: Purification and identification of angiotensin I-converting enzyme inhibitor from Moroheiya (*Corchorus olitorius*). *Food.Sci.Technol.Int.Tokyo*, **4**, 223-226 (1998).

- 3) Shimizu E., Hayashi A., Takahashi R., Aoyagi Y., Murakami T.: Effects of angiotensin I-converting enzyme inhibitor from Ashitaba (*Angelica keiskei*) on blood pressure of spontaneously hypertensive rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **45**, 375-383 (1999).
- 4) 林あつみ, 中山知子, 青柳康夫, 木元幸一: ハヤトウリからのニコチアミン単離精製とその定量法の確立, 日本食品科学工学会誌, **52**, 154-159 (2005).
- 5) 竹中哲夫, 村山崇志, 竹中陽子: 大豆煮汁からのニコチアミンの単離と加熱処理による変動, 日本食品科学工学会誌, **56**, 6-13 (2009).
- 6) 加原 卓, 船山 桂, 仲野隆久, 池田克己: わかめペプチドによる降圧メカニズムの検討, *Health Sciences*, **20**, 82-89 (2004).
- 7) Lee J. E., Bae I. Y., Lee H. G., Yang C. B.: Tyr-Pro-Lys, an angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide derived from broccoli (*Brassia oleracea Itari-ca*). *Food Chemistry*, **99**, 143-148 (2006).
- 8) 関 英治, 川崎晃一, 吉田真弓, 籾島克裕, 玉 屋圭, 松井利郎, 飯島 豊: イワシタンパク質由来ペプチドならびにValyl-Tyrosin の降圧作用, 日本栄養・食糧学会誌, **52**, 271-277 (1999).
- 9) 関谷宗一郎, 小林義雄, 喜多英一, 今村吉水, 戸山靖一: カゼインのトリプシン加水分解物の高血圧症に対する効果および副作用について, 日本栄養・食糧学会誌, **45**, 513-517 (1992).
- 10) Saiga A., Iwai K., Hayakawa T., Takahata Y., Kitamura S., Nishimura T., Morimatsu F.: Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides obtained from chicken collagen hydrolyzate. *J. Agirc. Food Chem.*, **56**, 9586-9591 (2008).
- 11) 岩井浩二, 雑賀 愛, 早川 徹, 清水宗茂, 高畑能久, 森松文毅: 高血圧自然発症ラットにおける鶏由来コラーゲンペプチドに含まれるオクタペプチドの血圧降下作用, 日本食品科学工学会誌, **55**, 602-605 (2008).
- 12) 松井利郎, 雪吉晃子, 土井志真, 石川洋哉, 松本 清: エタノール不溶性ローヤルゼリーの酵素分解とACE

- 阻害ペプチド, 日本食品科学工学会誌, **53**, 200-206 (2006).
- 13) 丸山 進: 生理活性ペプチド カゼインドデカペプチドの発見と商品化, *Bio Industry*, **23**, pp.5-11 (2006) シーエムシー出版, 東京
- 14) 中村康則: 「ラクトトリペプチド」の血圧降下作用について, *New Food Industry*, **41**, pp.28-32 (1999) 食品資材研究会, 東京
- 15) 松井利郎, 川崎晃一: 食品タンパク質由来機能性ペプチドによる降圧作用 イロシペプチド (Val-Tyr) による降圧食品の開発を中心として, 日本栄養・食糧学会誌, **53**, 77-85 (2000).
- 16) Okamoto A., Hanagata H., Kawamura Y., Yanagida F.: Anti-hypertensive substances in fermented soybean,natto. *Plant Foods for Human Nutri.*, **47**, 39-47 (1995).
- 17) 伊部さちえ, 吉田恵子, 熊田 薫: 納豆のアンジオテンシン I 変換酵素阻害活性, 日本食品科学工学会誌, **53**, 189-192 (2006).
- 18) 岡田雅人, 宮崎 香: タンパク質実験ノート上 (抽出と分離精製), 第 2 版, pp.29-30 (1999) 羊土社, 東京
- 19) Friedland J., Silverstein E.: A Sensitive Fluorimetric Assay for Serum Angiotensin-converting Enzyme. *Am.J.Clin.Pathol.*, **66**, 416-424 (1976).
- 20) 村瀬輝昭, 内田 大, 大石一男, 太田俊也, 山岸政昭, 戸塚好之, 望月一男: アンジオテンシン変換酵素阻害物質、その製造方法およびそれを用いた血圧降下剤, 特開平 11-29594 (1999.2.2).
- 21) Wu,J. Aluko, R.E., Nakai S.: Structural requirements of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides: Quantitative structure-activity relationship study of di- and tripeptides. *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 732-738 (2006).
- 22) 江成宏之, 高橋義宣, 柄澤 馨, 多田元比古, 竜田邦明: サケ由来アンジオテンシン I 変換酵素阻害ペプチド化合物またはそれを含有するペプチド組成物とそれらの製造方法, 特開 2006-96747 (2006.4.13).
- 23) Wu, J., Ding, X.: Latent production of angiotensin I-converting enzyme inhibitors from buckwheat protein. *J. Pept. Sci.*, **8**, 267-274 (2002).
- 24) 外山干城, 吉村 淳: アンジオテンシン変換酵素阻害剤, 特開平 6-16568 (1994.1.25).
- 25) 船津軍喜, 藤野武彦, 陳 晟敏: Trp 含有ペプチド, 特開 2010-248096 (2010.11.4).
- 引用 URL i) <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/> (2011.5.25)

Purification and Identification of ACE Inhibitory Substance from Protease-treated Hikiwari-natto and Anti-hypertensive Effect of Natto on Spontaneously Hypertensive Rats

Atsushi Shimakage^{1*}, Mamoru Shinpo¹, Seihan Yamada¹, Ardiansyah², Hitoshi Shirakawa², Michio Komai², Kazuyuki Hiwatashi^{2,3}, Makoto Tomatsu³ and Saori Takahashi³

¹*Yamadafoods.Co.Ltd. , 279 Aza-kaidounoue Noaramachi, Misato-cho, Senboku-gun, Akita 019-1301*

²*Laboratory of Nutrition, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, 1-1 Tsutsumidori- Amamiyamachi, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 981-8555*

³*Akita Research Institute of Food and Brewing (ARIF), 4-26 Sanuki, Araya-machi, Akita City, Akita 010-1623*

Received Aug 17, 2011; Accepted Dec 16,2011

Anti-hypertensive effect has been known as one of the functionalities of natto. It is deduced that natto shows anti-hypertensive effect by inhibiting angiotensin-converting enzyme (ACE), the key enzyme of renin-angiotensin system. Some research results about anti-hypertensive effect of natto have been reported so far, but there are almost no findings about ACE inhibitory substance derived from natto. We purified and identified the substances from protease-treated hikiwari-natto, whose ACE inhibitory activity was about 1.4 times higher than that of protease-untreated hikiwari-natto. As a result, it was found that ACE inhibitory substances included novel ACE inhibitory peptides such as Ile-Ile, Ile-Asp, Ile-Phe-Tyr, Leu-Phe-Tyr and Leu-Tyr-Tyr. In addition, the extracts of protease-treated hikiwari-natto showed significant reduction in systolic blood pressure when they were orally administered to stroke prone spontaneously hypertensive rats in a single dose (80mg/kg of rat weight).

Key words : natto, renin-angiotensin system, angiotensin-converting enzyme (ACE), ACE inhibitory peptide

(責任編集委員：赤桐里美)