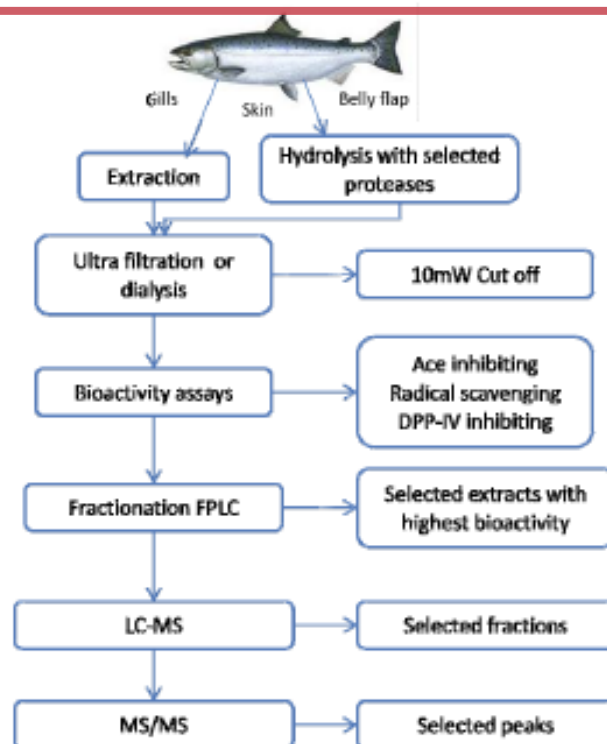


Susan Skanderup Falkenberg
 Sammenfatning af Ph.-D. afhandling

Discovery and characterization of novel bioactive peptides from marine secondary products



SAMMENFATNING

Der er en stigende interesse i bioaktive peptider fra marine sekundære produkter, idet de er i besiddelse af et stort potentiale for at blive inkorporeret til funktionelle fødevarer og til medicinale formål. Bioaktive peptider fra det marine område er observeret værende i besiddelse af et bredt spekter af fysiologiske funktioner bl.a. antioxidative, blodtryksnænkende, antimikrobielle, anticancer samt effekt mod diabetes 2. Størstedelen af forskningen har dog fokuseret på peptider genereret fra hydrolyse med kommercielle industrielle enzymer og anvendelsen af disse hydrolysater.

Det kunne være interessant at finde ud af om nedbrydelse af sekundære produkter fra fisk med fordøjelsesproteaser genererer peptider, som også er i besiddelse af disse sundhedsfremmende egenskaber, enten set i relation til fordøjelse eller som et alternativ til anvendelsen/brugen af industrielle proteaser. Generelt må fisk være udstyret med et særligt bioaktivt forsvar mod den store bakteriemængede i vandet, og må derfor forventes at være i besiddelse af bio-molekyler såsom små peptider. Det kunne derfor være relevant at undersøge om disse naturligt forekommende peptider indeholder andre funktionelle og sundhedsfremmende bioaktive peptider.

På denne baggrund har dette PhD projekt haft til formål at finde og karakterisere hidtil ukendte bioaktive peptider fra marine sekundære produkter. Projektet var inddelt i to mere specifikke formål. Del I var at undersøge naturligt forekommende peptider for bioaktiviteter som radikal scavenging aktivitet, Angiotensin I-converting enzym (ACE) og dipeptidyl peptidase (DPP-IV) inbiberende egenskaber og protease inbiberende aktivitet i væv fra sekundære produkter som gæller, buglap muskel og skind fra laks (*Salmo salar*). Dette blev udført i ekstrakter fra ubehandlet og varmebehandlet væv ved hjælp af *in vitro* assays. Hvis bioaktivitets molekyler blev påvist, var det desuden et mål at karakterisere de korresponderende bioaktivitets kandidater. I del II var formålet at undersøge peptider i hydrolysater fra buglap muskel og skind genereret ved hjælp af fordøjelsesproteaser for radikal scavenging aktivitet, ACE og DPP-IV inbiberende egenskaber. Yderligere var formålet at studere stabiliteten og mekanismen af muskel hydrolysat overfor ACE og DPP-IV aktivitet. Derudover, hvis bioaktivitets molekyler var påvist, var det ligeledes et mål at karakterisere de korresponderende bioaktivitets kandidater.

For de naturligt forekommende peptider undersøgt i del I, blev radikal scavenging aktivitet fundet i <10 kDa ekstrakter fra gæller, buglap muskel og skind med respektive EC₅₀ værdier på 39, 82 og 100 µg/mL. Der kunne ikke detekteres ACE og DPP-IV inbiberende aktivitet. Analyse af dominerende komponenter i aktive fraktioner fra gel kromatografi ved hjælp af massespektrometri viste, at familier fra beslægtede komponenter var i mange fraktioner i forskelligt væv, men mest udtalt i gæller. En familie var defineret i

overensstemmelse med en specifik amino syre sekvens (PW). Tre familier var defineret ved hjælp af m/z værdien af den mindste komponent i hver familie (219, 434 og 403). De tre sidstnævnte indeholdt ikke standard umodificerede amino syrer, hvilket indikerer peptider med modificerede amino syrer eller andre typer molekyler.

For peptiderne i hydrolysaterne genereret ved hjælp af fordøjelsesproteaser i del II, viste analyse af <10 kDa hydrolysaterne at fordøjelsesproteaser genererede peptider med en tydelig radikal scavenging aktivitet samt DPP-IV og ACE inhiberende aktivitet. Hydrolysater fra pepsin fordøjelse udviste den laveste EC₅₀ værdi for radikal scavenging aktivitet og DPP-IV inhibering, hvorimod EC₅₀ tiltog i hydrolysater efter efterfølgende nedbrydning med proteaser fra pancreatin og mucosa. Interessant, så blev EC₅₀ værdierne for DPP-IV næsten ikke påvirket af sekventiel nedbrydning. Muskel hydrolysater viste både kompetitive og ikke-kompetitiv inhibering, men en forlænget inkubation viste at inhiberingsegenskaberne var ustabile og ville derfor nedbrydes helt som kompetitive substrater af fordøjelsesproteaser.

Når hydrolysater blev fraktioneret ved hjælp af gel kromatografi, blev radikal scavenging aktivitet observeret i alle hydrolysaterne, dog udviste hydrolysaterne fra buglap muskel stærkere aktivitet end hydrolysaterne fra skind. DPP-IV og ACE inhiberende aktivitet blev observeret i næsten alle de fraktionerede hydrolysater, kun i det pepsin genererede hydrolysate blev ingen tydelig (eller måske ingen) DPP-IV aktivitet observeret. Dette er bemærkelsesværdigt, idet det ikke var i overensstemmelse med resultaterne fra EC₅₀ værdierne fra tre-folds fortyndingskurverne. Dog er det interessant, idet det kan skyldes en synergi effekt som kun er til stede i hoved hydrolysateret, og som forsvinder når hydrolysateret separeres til fraktioner.

Analyse ved hjælp af massespektrometri af de dominerende komponenter fra de aktive fraktioner fra buglap muskel og skind hydrolysaterne genereret af pancreatin/mucosa viste, at mange komponenter var til stede i flere fraktioner. Det har endnu ikke været muligt at identificere mulige kandidat bioaktive komponenter som er ansvarlige for én bestemt bioaktivitet, idet en mere uddybende analyse og karakterisering er påkrævet.

Dette PhD projekt viste et tydeligt potentiale for bioaktive peptider med sundhedsfremmende egenskaber fra marine sekundære produkter, både set i relation til fordøjelse og som et alternativ til anvendelse af industrielle proteaser.