

BL-10C 酵素回折計を利用した巨大タンパク質の溶液散乱測定

渡邊 康 (独)農研機構・食品総合研究所)

猪子洋二 (大阪大学大学院基礎工学研究科)

蛋白質は食品構成成分として重要な素材であるため、食品科学および食品産業における蛋白質の特性解析は重要な課題の一つである。ムチンは消化管上皮などで蛋白質に複数のオリゴ糖が結合した粘液層の主成分である複合生体高分子である。その生理機能に関しては、潤滑的および粘膜防御的役割が示唆されていて、腫瘍免疫関連の糖鎖生物学的研究も展開されている。また、試料由来によっては食品添加物としても利用可能とされているのでその溶液物性の知見を得ることは意義がある。しかし、ムチンについては、結晶化が成功していないばかりか、分子量の巨大さ、高密度 (60-90 wt%) に大量の糖鎖が結合している構造的な複雑さから、蛋白質の物性解析手法として有効とされているゲル電気泳動法や NMR 測定の適用がきわめて困難であり、溶液構造の基礎的知見は十分に得られていない。このような巨大蛋白質の機能は水溶液中で発現されるものであり溶液中の構造解明は機能発現機構を解明するためにきわめて重要である。本研究では、牛顎下腺ムチンについて光散乱および放射光溶液 X 線散乱測定の結果の一部を報告する。

分子量は、試料をゲル濾過クロマトグラフィーカラムに供し、その溶出液の光散乱測定により評価した。ムチンの比屈折率増分 (dn/dc) は牛血清アルブミンを標準試料として決定した。放射光 X 線溶液散乱測定装置は、高エネルギー加速器研究機構放射光施設ビームライン BL10C に設置されている装置を利用した。この光学系では、電子蓄積リング光源よりえられた放射光 X 線を 2 結晶モノクロメーターにより単色化し、湾曲円筒ミラーにより収束させ、1 次元検出器上で高輝度の収束ビームを得ている。試料位置でのビームサイズは縦 2mm 以下、横 7mm 以下、小角分解能は約 100nm である。空気による X 線の吸収散乱を防ぐため、試料槽と検出器付近を除き光学素子や X 線パスはすべて真空に保たれている。結果として、ムチンは生理的な条件では、わずかな量の超高分子成分 (分子間 S-S 結合により会合している) と分子量 50 万前後のサブユニットがオリゴマー (分子量約 200 万) を形成していた。その条件での放射光溶液 X 線散乱測定データの解析により、ムチン分子鎖はフレキシブルな構造の特性を示すことが示唆された。

溶液 X 線散乱測定は、高エネルギー加速器研究機構放射光共同利用実験課題 (番号 07G129) として行った。また、本研究の一部は農林水産省研究予算の援助を受けた。