

糖蛋白質ムチンの BL-10C を利用した溶液中の構造特性解析

○渡邊康¹、猪子洋二²

○Yasushi Watanabe¹ and Yoji Inoko²

¹ (独) 農研機構・食総研 : National Food Research Institute, Kannondai 2-1-12, Tsukuba, Ibaraki 305-8642,

² 阪大院基礎工 Graduate School of Engineering Science, Osaka University, Machikaneyama 1-12, Toyonaka,

Osaka 565-0871, Japan

蛋白質は、生命現象の一端を担うばかりでなく、食品構成成分として重要な素材であるため、生命科学および物質科学のみならず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糖蛋白質である。その生理機能に関しては、潤滑液の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生体由来のナノ新素材としても注目できる。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 測定が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理解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の溶液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により分画後、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 BL-10C に設置されている酵素回折計を利用した。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。

結果として、ムチンは、生理的な条件下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) を形成している。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。さらに試料を高濃度にしたときの散乱データの解析から、分子間会合状態についての知見も報告する予定である。分子生物学的な研究により遺伝子構造や糖鎖構造についての情報がわかりつつあり、今後、機能との関係において分子構造科学的な研究が重要な意味をもつことが期待できる。

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。