

骨・軟骨由来コラーゲンをターゲットとした抗糖化アッセイキットの作成

試験研究計画名：運動・身体機能維持を促す次世代機能性食品の創製

研究代表機関名：国立大学法人 東京大学

背景とわらい：

骨・軟骨由来コラーゲンをを用いたコラーゲン抗糖化アッセイキットは、これまでに市販されていません。骨由来 I 型コラーゲン、軟骨由来 II 型コラーゲンをターゲット蛋白とした糖化反応抑制 (advanced glycation end products [AGEs] 生成抑制) 作用を評価する標準的評価キットができれば、本研究テーマである「運動器の障害を改善する抗糖化機能性食品の確立開発」に貢献できると考えました。そこで、新規コラーゲン抗糖化アッセイキットを試作し、SIP 成果物として製品化しました。

特長と効果：

皮膚コラーゲン、軟骨コラーゲン、ならびに骨コラーゲンサンプルを作成し、サンプル中のコラーゲン濃度やゲル化程度、分子構造解析を行い、蛋白性状を均質化させました。さらに、糖化反応惹起物としてグリセルアルデヒドを各蛋白に添加した糖化反応モデルを作成し、アミノグアニジンによる蛍光性 AGEs 生成抑制活性を評価するとともに、安定性・再現性を確認しました。分子構造解析の結果、軟骨コラーゲンは $\alpha 1$ 鎖一本で形成される典型的な II 型コラーゲンであることと、皮膚および骨コラーゲンは α 鎖以下の低分子夾雑物が少ないことが示されました。

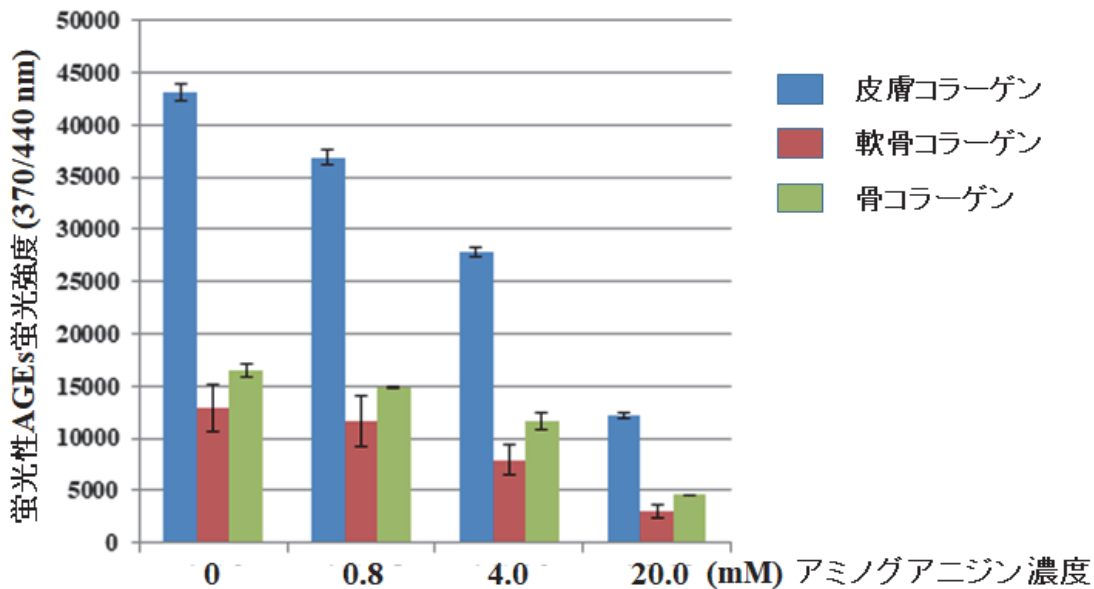


図1 アミノグアニジンによる抗糖化（蛍光性 AGEs 生成抑制）活性の検証

糖化反応抑制剤であるアミノグアニジン (0~20 mM)、糖化反応惹起物である 500 mM グリセルアルデヒドを添加し 37 度で 24 時間糖化させた各コラーゲンサンプルの AGEs 蛍光強度 (励起光 370 nm、蛍光 440 nm) を測定しました。その結果、AGEs 蛍光強度は、皮膚コラーゲン、軟骨コラーゲン、骨コラーゲンの順に強く、いずれのサンプルもアミノグアニジンの濃度依存的に蛍光強度が低下しました (図1)。



軟骨II型コラーゲン抗糖化アッセイキット（グリセルアルデヒド）

品名	メーカー	品番	包装
軟骨 II 型コラーゲン抗糖化アッセイキット（グリセルアルデヒド） / Cartilage Type II Collagen Glycation Assay kit, Glyceraldehyde	PMC	AK72	1 KIT [96 well x 2]

写真1 製品化された成果物（協力：コスモバイオ）

社会実装の対象と可能性：

コラーゲン蛋白は濃度・温度によりゲル化性情が大きく変化し、実験結果に影響を及ぼします。そのためコラーゲン蛋白をターゲットとした抗糖化成分スクリーニングのためには、標準化された評価系の確立が重要です。本研究の結果、軟骨由来 II 型コラーゲン及び骨由来 I 型コラーゲンは、皮膚由来 I 型コラーゲンの糖化反応評価モデルの精度・再現性が確認されましたので、今後、本研究により開発されたキットが抗糖化成分探索のための標準化手法として広く利用できることが期待できます（写真1）。

参考文献：

- ・ Sekiguchi S, et al. Development of a prototype anti-glycation assay kit for assessment of bone and cartilage collagen modification. Glycative Stress Res 3(2) : 74-80, 2016.

研究担当機関名：同志社大学生命医科学部

研究担当者：同志社大学 米井 嘉一、八木 雅之、高部 稚子、小椋 真理

問い合わせ先：同志社大学生命医科学部抗加齢医学研究室

電話：0774-65-6394 E-mail：liaison@yonei-labo.com

作成日：2019/03