

食品生体高分子の溶液構造特性解析技術 — 溶液散乱法 —

技術の特徴

食品に関連するタンパク質や多糖などの生体高分子は、結晶化の困難なものやNMR解析には適さない巨大分子である場合が少なくない。さらに、溶液中の生体高分子は溶媒条件により多様な形状あるいは分子集合状態であるため、これらを分離と同時に溶液構造を評価する方法の開発が必要である。本研究では、サイズ排除クロマトグラフィーと溶液X線散乱法を組み合わせた「**溶液X線散乱クロマトグラフィー法**」を構築し、食品に関連する生体高分子をクロマトグラフィーで分離すると同時にその溶出位置での「**分子サイズ**」、「**分子量**」および「**分子構造**」が評価できることを明らかにした。

研究の内容 「溶液X線散乱クロマトグラフィー法 (Size exclusion chromatography combined with small-angle X-ray scattering: SEC-SAXS法)」の紹介。

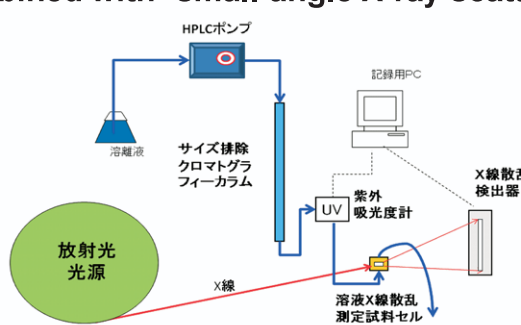


図1 溶液X線散乱クロマトグラフィー測定システムの構成
分離直後の分子サイズ、分子量、分子構造の評価が可能

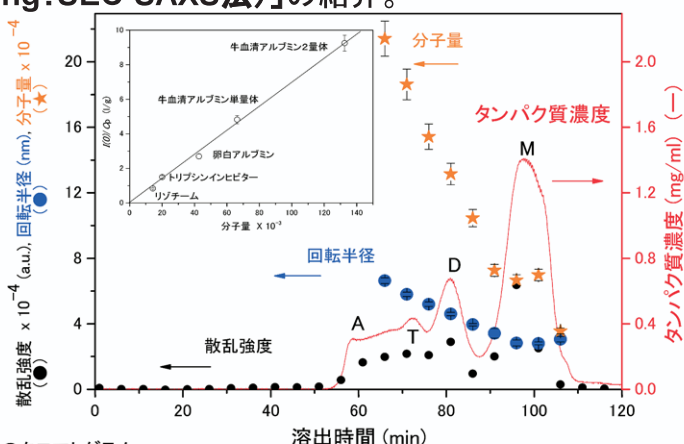


図3 BSAのクロマトグラム:
BSAについて得られた散乱データ(図2)を解析することにより、溶液中のBSAは少なくとも4種(高次会合体(A)、3量体(T)、2量体(D)、単量体(M))の構造を示す。
分子量既知の食品タンパク質試料について本手法を利用した際、分子量と角度ゼロにおける散乱強度 $I(0)$ を溶出試料濃度 C_p で除した値とは優れた相関を示す(挿入図)。

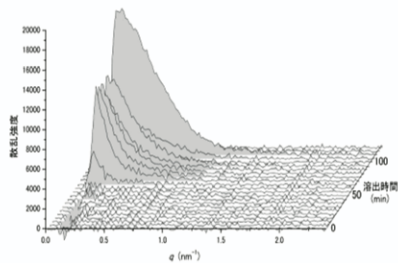


図2 アレルゲン性タンパク質ウシ血清アルブミン(BSA)の散乱パターン
BSA(10 mg)をHPLCゲル濾過カラムに供し、5分毎の溶液X線散乱時分割測定散乱パターン(散乱ベクトルの絶対値 $q=(4\pi/\lambda)\sin\theta$ 、 λ はX線波長、 2θ は散乱角)に対する散乱強度 I のプロットの変化を示す。

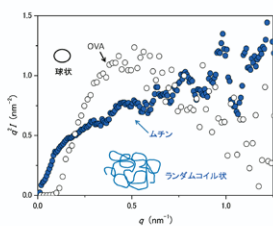
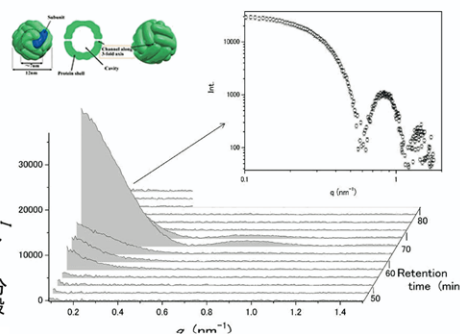


図4(上図) 糖タンパク質ムチンと卵白アルブミンの溶出散乱データの解析

図5(右図) アポフェリチンの超凝集体の分離と24個のサブユニットからなる中空球殻複合体の構造解析



今後の展開

農業・食品産業における基盤テクノロジーである科学的根拠の明確な評価技術としての散乱測定法の高度化とその有効利用により、食品関連生体高分子の機能構造制御技術や高品質の食品開発・利用に役立つ知見がさらに得られることが期待できる。

参考 Y. Watanabe and Y. Inoko: An assessment study on two-dimensional X-ray scattering data for protein solutions, 食品総合研究所 研究報告, 76(2012) / Y. Watanabe and Y. Inoko: Further application of size-exclusion chromatography combined with small-angle X-ray scattering optics for characterization of biological macromolecules, Anal. Bioanal. Chem., (2011) / 渡邊康: 溶液X線散乱クロマトグラフィー法による食品に関連するタンパク質の特性解析、平成21年度食品試験研究成果情報、22 (2010) / Y. Watanabe and Y. Inoko: Size-exclusion chromatography combined with small-angle X-ray scattering optics, J. Chromatogr A, 1216 (2009)