

ラマン分光法による診断法の開発に向けた細胞外マトリックス模倣多糖ゲルの状態分析

小林厚志¹⁾, 伊藤博¹⁾, 星野優人¹⁾, 上沢七海¹⁾

1) 日大工・生命

【緒論】生物個体は細胞の集合体であるが、その細胞の内外の物質はゲル状態になっていると言われている。生命活動は物質が細胞内外の適切な場所で作用したり移動したりすることによって営まれており、物質はそのゲル空間を往来している。そのような生命活動に起因する物質の流れにより、生命体を構成するゲルは局所的に常に変化していると考えられる。しかし若齢の時はその変化を元に戻そうとする恒常性維持機構がはたらくため、変化の少ない定常的な状態にあると考えられる。多糖類やタンパク質で構成される細胞外マトリックスはその代表例である。その細胞外マトリックスは加齢に伴い、不可逆的に物理的または化学的に変化する(図1左)。本研究においては、老化の進行状態を評価するために、細胞外マトリックス中の多糖類の状態変化を観察する手法の開発を行っている。その手段としてラマン分光法の活用を考えたが、ラマン分光法が多糖類の構造変化を検出する手段として適切であるかどうか不明である。実際に存在する多糖類を用いて検証

することが望ましいが、複数の構成単糖からなる多糖類を用いた場合、その評価が困難になることが予想される。そのため、モデルケースとなる多糖類として澱粉を用いることとした。澱粉はグルコースのホモポリマーであり、化学的には単純な構造をとっているが、その分子中には分岐構造やらせん構造を有することから、微小構造の検出モデルとして適切である(図1右)。今回、様々な状態の澱粉ゲルの作製を行い、その性質を評価したので報告する。

【実験方法】

澱粉として、可溶性澱粉、トウモロコシ澱粉、バレイショ澱粉、コムギ澱粉を用いた。添加物として、水酸化ナトリウム、ホウ砂、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、リン酸一水素二ナトリウム、リン酸二水素一ナトリウム、リン酸三ナトリウムを用いた。澱粉のゲル化は、澱粉を水溶媒中に懸濁させた状態で76℃で20分間加温し糊化させた後、20℃の恒温槽で冷却を行うことにより行った。ゲル化の確認は、冷却したサンプル

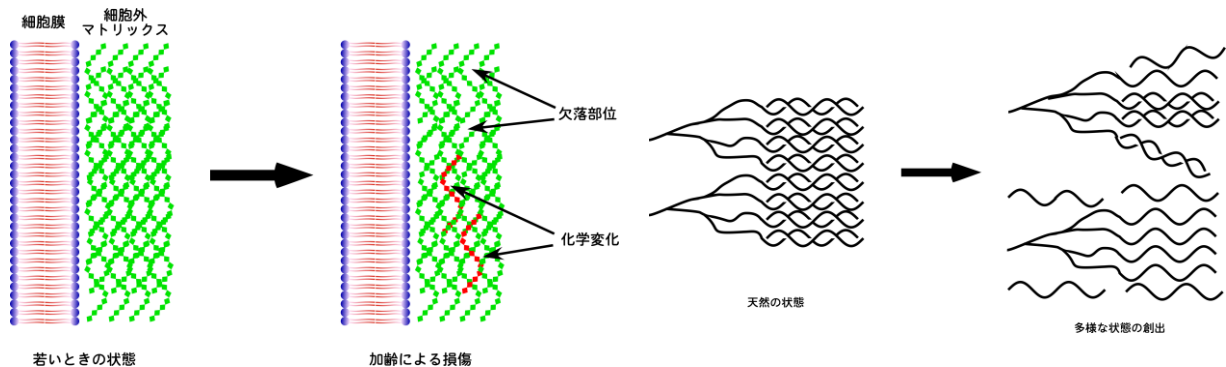


図1 細胞外マトリックスの状態変化(左)と澱粉の構造(右)のイメージ図。

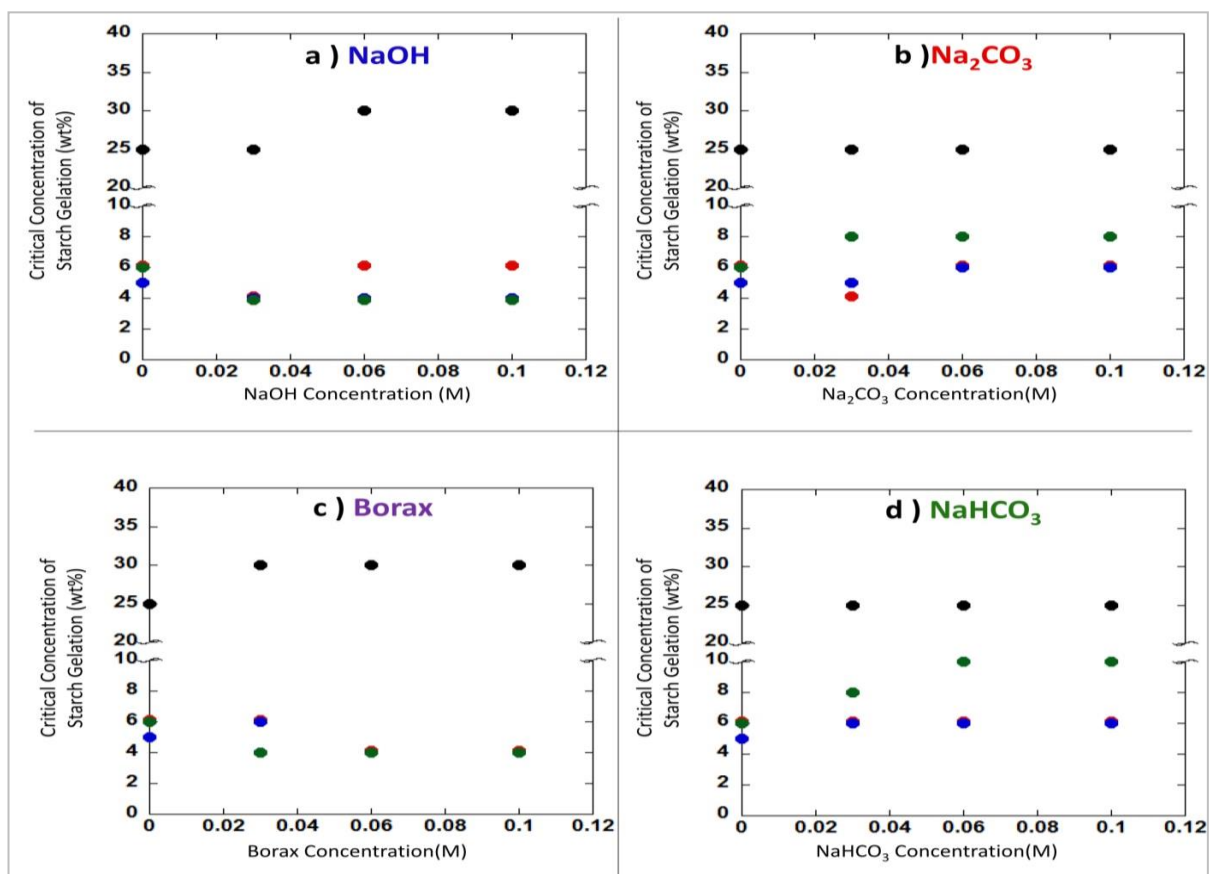


図2 Effects of various sodium salts on the starch gel formation (black: Soluble Starch, Red; Corn Starch, Blue; Potato Starch, Green; Wheat Starch). Concentration of all sodium salts were 0.1 M.

ルを容器ごと上下反転させ、その流動性を目視によって確認することによって行った。また、ゲルの保水能の確認は水分計を用いる蒸発速度の測定によって行った。

【結果と考察】

①澱粉のゲル形成に対するオキシ酸の効果

まず、澱粉のゲル形成における澱粉の由来による影響を検討したところ、由来によってゲル化に必要な最低濃度(臨界ゲル化濃度)が異なることを確認した(図2)。次に、ゲルの架橋剤としてホウ砂を添加したところ、ほとんどの由来の澱粉では臨界ゲル化濃度が低くなったが、可溶性澱粉のみ臨界ゲル化濃度が高くなるという結果が得られた(図2c)。その他のオキシ酸イオン存在下でも同様の実験を行ったところ、その変化の傾向は澱粉の由来によって異なることがわかった(図2、

a,c,d)。この現象は、澱粉の糊化からゲル化への状態変化に対してオキシ酸の構造や塩析/塩溶性の性質が影響しており、その影響の差異は澱粉の構造や粒径等に起因していると考えられる。局所現在、ラマン分光による局所構造の変化の検出可能性を検討すると同時に、DSC等の熱分析の実施も検討している。

②澱粉ゲルの乾燥耐性

次に、澱粉ゲルの乾燥耐性試験を行った。図3に、100℃で澱粉ゲルを保温したときの重量変化に基づく乾燥速度のプロファイルを示した。可溶性澱粉を用いた場合、乾燥速度はホウ砂添加濃霧にかかわらずほぼ同じであった。(図3上)。一方、と天然型澱粉の一つであるトウモロコシ澱粉を用いた場合は、ホウ砂無添加の場合は大きな乾燥速度が観測されたが、添加した場合は乾燥速度が

小さくなった。ゲル化の実験と合わせて考えると、天然型澱粉はホウ酸イオンを架橋剤とすることによりゲル構造を維持し、ゲル内の水分の保持力も大きくなっていると推測できる。現在、他の澱粉においてもその乾燥速度について検討を行っているところである。

今後の方針

状態の異なる澱粉ゲルが準備できたことから、これらをラマン測定することにより、その局所構造の検出可能性について検討する。また、各種オキソ酸イオンの添加効果が澱粉の由来によって大きく変化していることから、多糖構造に対するオキソ酸類の影響をより詳細に検討する。具体的には、澱粉とオキソ酸水溶液を混合加熱時に起こる糊化温度に対する影響等に関して DSC 等の機器分析を用いて検証する。さらには半固体 NMR などを用いて微視的な構造に関する基礎データを得る予定である。

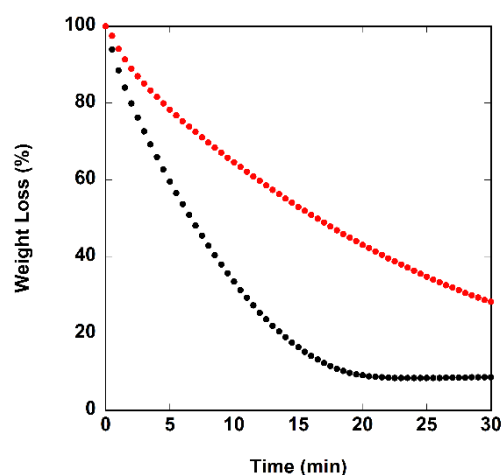
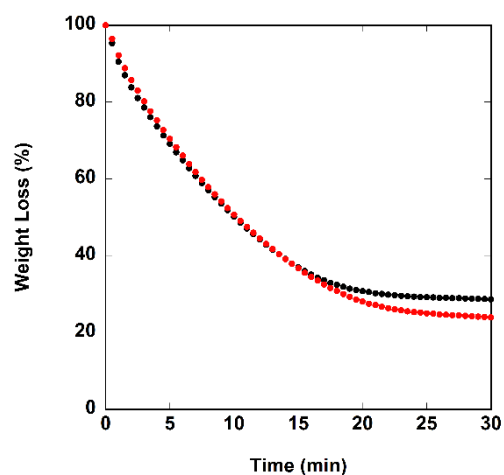


図3 Effects of borax on the Drying Tolerance of Starch Gels R at 100 °C. Top; soluble starch without borax (black) and with borax (red). Bottom; corn starch without borax (black) and with borax (red)