

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 17 日現在

機関番号：52201

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23650461

研究課題名（和文）

繊維加工への応用を目指したムチンの界面化学的研究

研究課題名（英文）

Surface chemical study on mucin for application to textile processing

研究代表者

酒井 洋 (SAKAI HIROSHI)

小山工業高等専門学校・物質工学科・准教授

研究者番号：90310648

研究成果の概要（和文）：ムチンの繊維加工への応用をめざし、ムチンの様々な界面化学的性質を明らかにするための研究を行った。その結果、ムチンは一般の界面活性剤よりも、水溶液表面にゆっくりと吸着すること、ムチンと界面活性剤との混合系では、ある濃度範囲でムチンと界面活性剤の疎水性の高い複合体が形成されること、また、水溶液の pH によって、ムチンの吸着性能と可溶化能に差があることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

Surface chemical study on mucin was conducted with aim of application to textile processing. Mucin adsorbed at the water surface more slowly than surfactants that are commonly used. Hydrophobic mucin-surfactant complex formed in a concentration range. The adsorption and solubilization power of mucin was different depending on the pH of the solution.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	1,900,000	570,000	2,470,000

研究分野：界面化学

科研費の分科・細目：生活科学・生活科学一般

キーワード：ムチン、界面化学、表面張力、可溶化、糖タンパク質、界面活性剤、吸着、pH

1. 研究開始当初の背景

(1) ムチンとは、動植物生体内に広く分布する粘液性の糖タンパク質である。ムチンは、タンパク質に多様な糖鎖が付いた構造をしており、生体内において、外敵からの防御、保湿性の維持、潤滑性の付与、その他高度な生物学的機能を示す、いわゆる生体高分子である。ムチンを含む糖タンパク質は、その構造が複雑であるため、ようやく近年になりその分子構造や生体内における機能が明らか

にされつつあり (Taylor, M. E. 他著「糖鎖生物学入門」(2005)化学同人) その本格的な応用はまだこれからという段階にある。一方、新規機能を付与するための繊維加工は、国内・国外において以前より様々な試みがなされているが、ムチンによる繊維加工、またその基礎研究はこれまで全く行われたことがなかった。

(2) 研究代表者は、これまで界面活性物質の構造評価や洗浄に関する研究を行ってきた。

またそれに加えて、染色を中心とした繊維加工の研究を行ってきた。界面化学の分野では、ムチンはドラッグデリバリーシステム(DDS)との関連から注目され始めており(Svensson, O. et al, (2008) Langmuir 24 2573-2579 など)、その基礎研究が行われている。そのムチンの機能、特にその複雑で機能的な物質間相互作用能力を、繊維加工、あるいはその他界面化学が関係する分野に応用できるのではないかと考えた。

(3) ムチンの働きの一つに、その粘性による生体防御があるが、皮膚などに比べて非常に柔軟性に富んだ防御を行っている。例えば、胃粘液のムチンなどは、重炭酸イオンを通しながらタンパク質分解酵素を含む胃液は通さないことで胃を守る働きを示す(Allen, A. et al, (1980) Gut 21 249-262)。また、pHによりその性質を変え、酸性条件では塩酸もムチンに入り込めないという報告もある(Bhaskar, K. R. et al, (1992) Nature 360 458-461)。さらに、ムチンはその糖鎖構造の多様さにより、ウイルスと特異的な結合を行い、その性質を利用して医薬品の分野への応用が考えられている。また、ムチン水溶液下で、不溶性有機物質の化学反応が促進されることが見出されている(Shraga, N. et al, (2009) J. Am. Chem. Soc. 131 12074-12075)。これは、ムチンが不溶性物質を水に溶かし込む可溶化能を有すること、さらに、ムチンにより、衣服上で汚れやウイルス等を取り込み、さらにはその分解が促進される可能性があることを意味している。

(4) 繊維加工への天然高分子の利用といえ、多糖類では、保湿性と抗菌性の向上を目指したキチン・キトサン、タンパク質では、保湿性と皮膚親和性を狙った、コラーゲン・フィブリンなどがあるが、ムチンは、糖タンパク質であることから、糖類とタンパク質の両方の機能が付与されるだけでなく、糖鎖に覆われることでそのタンパク質部分が外部刺激による分解から保護されていることで堅牢性も期待でき、より機能性の高い布帛を作ることが可能であると考えられる。また、可溶化能を持つことから、洗剤の配合剤やさらには界面活性剤の代替物として利用できる可能性も秘めている。学術的のみならず、工業的にも大きなインパクトを与えうると考えられる。

2. 研究の目的

(1) 本研究は、繊維にこれまでに無い新しい機能を付与するために、ムチンの持つ能力を繊維に導入する、そのためにムチンの基本的

な界面化学的性質を明らかにするというのが本研究の目的である。

(2) 本研究では、ムチンの水-空気界面への吸着性能、ムチンの可溶化能、ムチンに対する界面活性剤の影響を明らかにし、また、それらが水溶液のpHによりどのような影響を受けるのかを明らかにすることで、繊維加工、またその周辺領域への応用の可能性を検討した。

3. 研究の方法

(1) まず、ムチンの基本的な界面化学的性質を明らかにするために、中性のリン酸緩衝液を使用して異なる濃度のムチンの水溶液を作製し、その表面張力の経時変化の測定を行った。ムチンは市販のブタ胃ムチンを使用し、濃度は0.01~0.5 mg/mLとした。緩衝液は、リン酸濃度50 mM、塩化ナトリウムの濃度150 mMとした。表面張力の測定には自動表面張力計(協和界面科学株式会社製 DY-300)を用い、Wilhelmy法で24時間の連続測定を行った。温度は25℃で行った。

(2) ムチンと界面活性剤との相互作用を明らかにするため、中性のリン酸緩衝液を使用して、濃度0.02 mg/mLのブタ胃ムチンと、濃度0.1~1 mMのドデシル硫酸ナトリウム(SDS)の混合水溶液を作製し、その表面張力の経時変化の測定を行った。比較のため、同緩衝液中でのSDS単独の表面張力の測定も行った。

(3) 酸性溶液中でのムチンの性質を明らかにするため、50 mM グリシン-HCl 緩衝液を作製し、0.01~0.3 mg/mLの濃度のムチンの水溶液を作製し、同様の方法で表面張力の経時変化の測定を行った。水溶液のpHは2.3とした。

(4) ムチン水溶液の可溶化能を検討するため、ブタ胃ムチンの、中性と酸性の緩衝液中における不溶性物質の可溶化限界量の測定を行った。まず、高濃度のブタ胃ムチン水溶液に対し、種々の濃度で水に不溶な油性染料であるズダン III を加えて可溶化させ、可視スペクトルの測定を行い、ズダン III の吸光度を求め、その検量線を作成した。続いて、0.01 ~ 1.0 mg / mL の濃度のブタ胃ムチン水溶液にズダン III を過剰量加え、水溶液の可視スペクトルの測定を行い、ズダンの吸光度を求めることで、それぞれの濃度のムチン水溶液に対するズダン III の可溶化限界量を求めた。中性と酸性の緩衝液は、表面張力測定時のものと同じものを使用した。可視スペ

クトルの測定には、紫外可視分光光度計(日立社製 U-2010)を用いた。測定はすべて 25 °Cで行った。

4. 研究成果

(1) 中性のリン酸緩衝液中のブタ胃ムチンの表面張力の経時変化を測定した結果、どのムチンの濃度においても、一般的に使用される界面活性剤と比べて表面張力はゆっくりと低下し、数時間かけて平衡値に到達した。これは、ムチンの分子量が数百万～数千万と大きく、水溶液表面への吸着に時間がかかるためであると考えられる。そして、濃度が低いほど、平衡値に達するのに必要な時間が長くなった。

濃度が低い範囲では、濃度が高くなるにつれて表面張力の平衡値は低下したが、濃度が 0.05 mg/mL を超えると、その平衡値はほぼ一定の値となった。この濃度は、いわゆる臨界ミセル濃度に相当するものであると考えられる。

(2) ムチンと界面活性剤との相互作用を明らかにするため、中性のリン酸緩衝液で、ブタ胃ムチンと、SDS の混合水溶液を作製し、その表面張力の経時変化を測定した。ブタ胃ムチンは濃度 0.02 mg/mL で一定とし、SDS の濃度を変化させた。その結果、SDS 濃度が 0.1 mM では 15 時間ほどかけてほぼ平衡に達したが、濃度 0.2 ~ 0.35 mM では、24 時間経過しても平衡に達しなかった。また、0.4 mM 以上では、1 時間以内に平衡に達した。これらの結果は、ムチン単体の溶液の挙動と大きく異なり、特異的なムチン-SDS の相互作用を示唆するものとなった。また、24 時間後の表面張力の到達値が、SDS 濃度 0.2 ~ 0.35 mM では、ムチン単体または SDS 単体の物よりも低下し、この濃度範囲で疎水性の高い複合体を形成し、水表面に吸着しているものと考えられる。SDS 濃度 0.4mM 以上では、表面張力の平衡値は SDS 単独での値と一致し、水溶液表面は主にムチンとの複合体形成に関与していない SDS が吸着しているものと予想される。以上の結果は、ムチン-SDS の相互作用が濃度に大きく依存するものであることを示しており、ムチンの材料への応用に関して示唆を与えるものであると同時に、ムチンの生体内における働きに関する知見を与えるものである。

(3) 酸性溶液中でのムチンの表面張力の経時変化を測定したところ、中性溶液中よりもさらにゆっくりと表面張力は低下し、測定濃度範囲内では 24 時間で平衡に達しなかった。また、ムチンの濃度が高くなるほど、測定開

始から 24 時間後の時点での表面張力は低下し、中性溶液中で見られたような一定値への収束は、はっきりとは見られなかった。これは、中性溶液中と酸性溶液中ではムチンの立体構造が変化し、ムチンの電荷の状態、さらにその親水性/疎水性に変化が現れた結果を反映したものと考えられる。また、この結果は、水溶液の pH を変化させることでムチンの吸着の性質を変化させることができ、繊維や他の界面への吸着が制御可能であることを示唆している。

(4) ムチン水溶液の可溶性の検討を行った結果、まず中性緩衝液中では、ムチン濃度が 0.2 mg / mL 付近から可溶性限界量は急激に上昇した。これは、この濃度からムチンが、さらに大きな会合体を作り始めることで、ズダン III の可溶性が促進されたものと考えられる。4. (1) で示したように、表面張力は 0.05 mg/mL を超えたところで一定値を示しており、つまり会合体を形成しているであろう濃度が、表面張力値が一定となる濃度とずれが生じており、ムチンの表面への吸着と会合体形成の間には、一般的な界面活性剤とは異なる関係があることが伺えた。

酸性緩衝液中のムチンの可溶性限界量を求めた結果、0.1 mg / mL 付近から可溶性限界量は急激に上昇した。このムチンの濃度と、表面張力の結果との対応関係ははっきりとしなかった。また、酸性溶液中の可溶性限界量は中性溶液中よりも小さな値となった。

以上の結果は、ムチンが酸性溶液中では中性溶液中とは異なる構造を持つことを示唆するものであり、このムチンの pH 応答性を利用して、例えばムチンの DDS への応用に繋がるものであると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 2 件)

(1) Hiroshi Sakai, Yuuki Teduka, Takeshi Kawai

Evaluation of Molecular Structure in Mixed Monolayers of Sodium Dodecyl Sulfate and Fatty Acid by Infrared External Reflection Spectroscopy.

World Congress on Oleo Science & 29th ISF Congress

2012 年 09 月 30 日~2012 年 10 月 04 日

佐世保

(2) 酒井洋 釘宮郁 松坂嘉明 河合武司

ドデシルトリメチルアンモニウムブロミド

およびドデシル硫酸ナトリウム Gibbs 膜の赤
外外部反射法による構造評価
第 63 回コロイドおよび界面化学討論会
2011 年 9 月 9 日
京都

6. 研究組織

(1) 研究代表者

酒井 洋 (SAKAI HIROSHI)

小山工業高等専門学校・物質工学科・准教授

研究者番号：90310648

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：