

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：34412
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2014～2017
課題番号：26450183
研究課題名(和文) ナノアーキテクチャーとしての澱粉の構造的研究

研究課題名(英文) Structure of starch as nano-architecture

研究代表者

湯口 宜明 (Yuguchi, Yoshiaki)

大阪電気通信大学・工学部・教授

研究者番号：00358300

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、澱粉(アミロース、アミロペクチン)及びグリコーゲンの溶液構造を光散乱、小角X線散乱法を駆使することによって、これまでにない広い角度領域つまり広いスケールで鎖の局所構造から全体構造を明らかにすることを目的とした。さらに溶液からゲル化する過程での構造形成を、時分割X線散乱法などを用いて観察することで、澱粉の高次構造形成のメカニズムを明らかにして澱粉の分子構造とその物性の相関を研究した。

研究成果の概要(英文)：The solution structures of starch (amylose and amylopectin) and glycogen were examined by light scattering and small angle X-ray scattering method to reveal the wide range of structure covering over local and whole of molecular chain. The dynamics of gelation of amylose was observed by time-resolved small angle X-ray scattering. The correlation of structure and property of starch and glycogen was researched.

研究分野：多糖類工学

キーワード：澱粉 グリコーゲン 多糖類 小角X線散乱

1. 研究開始当初の背景

澱粉は米、芋などの主成分であり、特に米は日本人にとり主食となっているため極めて重要な食品である。澱粉はグルコースが1,4結合で結合した直鎖のアミロースと分岐構造をもつアミロペクチンの2成分の混合物である。それらの組成や各分子の形態によって澱粉の物性は変わってくる。例えばもち米はアミロースを含まずアミロペクチンのみの澱粉からなり、もち特有の物性をもっている。このような性質は分子鎖の高次構造にも由来すると考えることができる。アミロース鎖はらせん構造を組みやすく、またアミロペクチンは独特な房状の分子構造形態を有しており、房内の分子鎖が2重らせん構造をとり結晶化している。またそれらの結晶部と非晶部がラメラ構造を形成し、長周期構造をとりナノレベルで特徴的な構造を有する。さらにそれらが集合することでマイクロメートルオーダーの澱粉粒を形成し、階層的な構造により構成される。これらの構造は古くから研究されているが、未だ不明のことが多くある。本研究においては澱粉の成分であるアミロース鎖の性質、アミロペクチンの分岐構造、さらにそれらの構造形成について、主として電磁波散乱法(小角X線散乱法、超小角X線散乱法、レーザー光散乱法)を用い、広範囲なスケールでの構造解析を行う基礎研究をはじめ、物性との相関を明らかにして澱粉の物性制御技術への指針の提供ができれば、澱粉の特徴的なナノ構造を利用した機能性バイオナノ材料の創製へとつながることが期待される。

澱粉は上述のようにアミロースとアミロペクチンの配合比が異なるだけでも物性の違いがでてくる。各成分の分子量や分岐構造の違いまでも考慮すると、十分に構造と物性の関係の全容が解き明かされておらず、その整理の仕方が分からない。X線等を用いる散乱法は溶液やゲルなどに対して、構造の知見を与えてくれる。現在大型放射光施設SPRING-8などを用いることによって強力なX線源を得ることができ、様々な角度領域でのX線散乱を測定することができる。つまり数十から数百nmのスケール、超小角X線散乱では、数百nmから数千nm領域をカバーできる。また動的・静的光散乱法を組み合わせることで、様々な構造パラメータを得ることができる。こういった小角X線を用いた研究はイギリスのグループが脈々と研究している。日本においては、応用思考への研究が急増するなか、この種の研究に即効性はないが、将来的に新しい知見の獲得、そこから得られるイノベーションへとつながる。

2. 研究の目的

澱粉の成分であるアミロース鎖(直鎖状)アミロペクチン(分岐構造)さらにグリコーゲン(高分岐構造)についての溶液構造を調べる。アミロース鎖はこれまでらせん構造

をとりやすく、X線散乱の結果から溶液中でも平均的にらせん構造をとっていると考えられる。さらにアミロペクチンやグリコーゲンなどの分岐構造について、散乱法によってキャラクタリゼーションする。分岐構造からの散乱関数はBurchardらによってすでにいくつかの理論式が導き出されている。分岐度や分岐鎖長などのパラメータにより整理できるかを様々な試料を用いて行う。アミロペクチンなどについてはすでに光散乱法により測定した研究が報告されているが、本研究の目的である小角X線散乱から光散乱などを組み合わせて得られる広いスケールでの系統的な観測実験を行う。

3. 研究の方法

天然由来あるいは酵素合成によって得られる鎖長や分岐構造の異なるアミロース、アミロペクチン、グリコーゲン試料の溶液構造をSPRING-8等の大型放射光施設による超強力なX線を用いた散乱測定を行い、データを系統的に整理する。レーザー光散乱法により希薄溶液の測定を行う。また溶液からゲル化する形成する系に対して、時分割小角X線散乱法を適用し、形成過程を追跡する実験を行う。包接構造のキャラクタリゼーション、新規構造を有する酵素合成により得られたグルカン鎖についても構造解析を行い、澱粉のナノ構造についてのデータベースを構築する。分子モデルを用いて、実際の構造と比較検討を行い、澱粉のナノ構造形成メカニズムをまとめる。

4. 研究成果

(1) アミロースのゲル形成

α -1,4グルカンであるアミロースはアルカリ水溶液を用いることで、らせん構造が解れて透明な溶液とすることができる。また、アルカリ性をゆっくりと中和(*in situ* 中和法による)していくことで、らせんなどの高次構造の再形成によりゲル化する。本研究ではゲル状態になるときの構造変化を時分割小角X線散乱(TR-SAXS)で測定した。分子モデルとの比較や、Debye-Bueche型の不均一な構造モデルと棒状モデルによる散乱の式から会合状態などの時間変化についての構造解析を行った。SPRING-8で行ったTR-SAXS測定の結果から、ゾル状態からゲル状態への構造変化を時分割測定で追うことができた。Kratky plot(図1)の結果より、分子モデルからの散乱と比較すると、反応初期では1本鎖で存在していると考えられ、またDebye-Bueche型と棒状モデルの散乱式からも反応の初期から不均一な構造と棒状体が存在すると考えられた。また、ゲル点以降ではアミロースの結晶成長が観察でき、反応開始から約1時間経過すると、アミロースの結晶由来のピークと凝集体構造が確認できた。

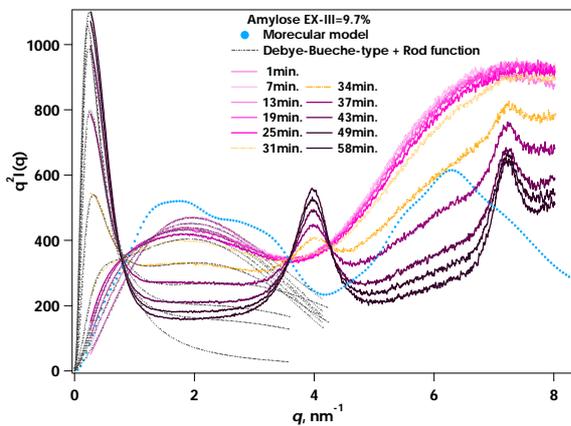


図1 . アミロースのゲル化過程での時分割小角X線散乱に対する Kratky plot。q は散乱ベクトルの大きさで、 $I(q)$ は散乱強度を示す。

(2) 水溶液中におけるグリコーゲンのナノ構造解析

グリコーゲンは -1,4 結合したグルコースがつながったアミロース鎖が高度に分岐した多糖類であり、数十 nm 程度の径の天然の dendritic 様粒子である。これは動物の肝臓や 筋肉に含まれており、エネルギー源として代謝する機能を有している。食品には牡蠣やレバーなどに含まれ、免疫賦活などの効果が期待されている。保湿機能を有していることから化粧品 としての利用も行われている。また菓子として 江崎グリコのキャラメルに含まれていることは有名である。これらの機能はグリコーゲンが高度に分岐した構造に由来していることが予想されるが、その相関は未解明である。これまで粒子の形態などは 電子顕微鏡や光散乱法などによって検討され、球状の形状をしており、その径も 10 ~ 60nm 程度の定量的な結果が報告されている。本実験では、江崎グリコ社の多糖酵素合成技術により粒子径を制御して製造したグリコーゲン様多糖 (グルカンデンドリマー) に対し、X線散乱法 を用いて、粒子全体を観察でき、かつ内部構造に相当する散乱角度領域もカバーできるような角度領域で散乱関数を計測した。

グルカンデンドリマーは反応条件を調整することによって、サイズを制御することができる。表1のような4種のサイズの異なるグルカンデンドリマーを準備した。あらかじめ動的散乱法により評価した粒子径を示した。7.7 nm ~ 18.7 nm の各種サイズとなっている。

図2は各種グルカンデンドリマーからの小角X線散乱曲線である。さらに参考のために、球体からの理論散乱関数を実線で示した。各グルカンデンドリマー試料は小角領域で球体に近い散乱曲線を示しており、粒状であることがわかる。散乱の減少の仕方はサイズに依存するが、系統的な結果がでている。この領域をギニエプロットすることによって慣性半径を求めると 4.2nm ~ 14.6nm のようになった。光散乱法によって得られている結果

と比べると、傾向は一致している。値はやや小さめにでているが、これは慣性半径であって、実半径とは異なるからである。この値は光散乱法で評価した値に近いものとなった。さらに散乱結果をみていくと、q の値の大きな領域で高次のピークが観測されている。これは球体の散乱関数に見られる複数の高次のピークと同等のものであると考えられる。球体からの理論散乱曲線と比べると2次以降のピークは明確ではなく、なだらかに減少する形をとっている。これはグルカンデンドリマーの表面がなめらかではないこと等によるものと考えられる。

表1 . グルカンデンドリマーの試料情報

コード名	光散乱法により評価した粒子半径 /nm
GD10	7.9
GD20	10.1
GD30	14.2
GD40	18.7

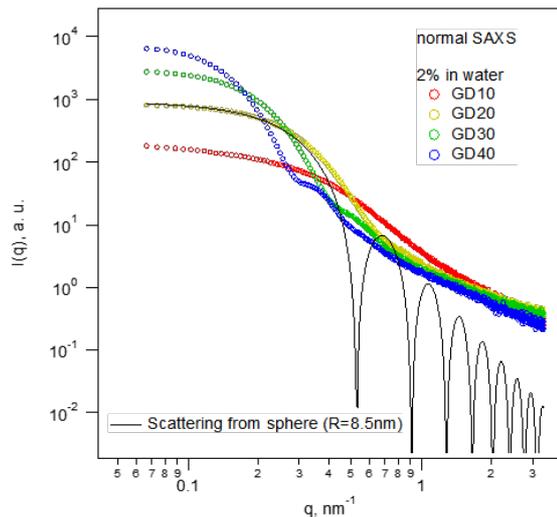


図2 . 各種グルカンデンドリマーからの小角X線散乱曲線及び均質球からの理論散乱関数

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件)

K. Yamamoto, S. Suzuki, S. Kitamura, and Y. Yuguchi, "Gelation and structural formation of amylose by in situ neutralization as observed by small-angle X-ray scattering", Gels, accepted (2018) 査読有

Y. Yuguchi, V. T. T. Tran, L. M. Bui, S. Takebe, S. Suzuki, N. Nakajima, S. Kitamura, T. T. T. Thanh, "Primary

structure, conformation in aqueous solution, and intestinal immunomodulating activity of fucoidan from two brown seaweed species *Sargassum crassifolium* and *Padina australis*”, *Carbohydrate Polymers*, 147, 69-78 (2016) 査読有

Y. Yuguchi, A. Hasegawa, A. M. Padoł, K. I. Draget, B. T. Stokke, “Local structure of Ca²⁺ induced hydrogels of alginate-oligoguluronate blends determined by small-angle-X-ray scattering”, *Carbohydrate Polymers*, 152, 532-540 (2016) 査読有

Y. Yuguchi, L. M. Bui, V. T. T. Tran, T. T. Thanh, “Study on branched structure-physiological activity relationship of fucoidan”, *Chemistry Letters*, 45, No.7, 840-842 (2016) 査読有

T. Ichihara, J. Fukuda, T. Takaha, S. Suzuki, Y. Yuguchi, S. Kitamura, “Small-angle X-ray scattering measurements of gels produced from α -amylase-treated cassava starch granules”, *Food Hydrocolloids*, 55, 228-234 (2016) 査読有

〔学会発表〕(計 11 件)

Y. Yuguchi, “Structural formation of xyloglucan by addition of polyphenols”, 5th EPNOE International Polysaccharide Conference, Jena (Germany), 2017

K. Yamamoto, S. Suzuki, S. Kitamura, Y. Yuguchi, “Structural formation of some polysaccharides as observed by time-resolved SAXS”, 5th EPNOE International Polysaccharide Conference, Jena (Germany), 2017

山本郷湖、鈴木志保、北村進一、湯口宜明, 「in situ 中和法による -1,4 グルカンおよび -1,3 グルカンのゲル化と構造形成」, 第 66 回高分子討論会、松山市、2017

Y. Yuguchi, “Gelation of polysaccharides observed by SAXS”, 9th KIFEE International Symposium on Environment, Energy and Materials, Kyoto, 2017

Y. Yuguchi, K. Yamamoto, S. Suzuki and S. Kitamura, “Structural formation and gelation of neutral polysaccharides as observed by small angle X-ray scattering”, 23th Polymer Networks Group Meetings, PNG2016, Stockholm, Sweden, 2016

湯口宜明, 河端正憲、「ポリフェノール添加によるキシログルカンのゲル形成」, 日本応用糖質科学会平成 28 年度大会、福山市、2016

蔭山茜、柳瀬美千代、鷹羽武史、湯口宜明, 「酵素合成グルカンデンドリマーの構造と形成過程」, 日本農芸化学会関西支部例会、京都市、2016

蔭山茜、湯口宜明、柳瀬美千代、鷹羽武史, 「酵素合成したグルカンデンドリマーの水溶液中における構造解析」, セルロース学会第 22 回年次大会、札幌市、2015

蔭山茜、湯口宜明、柳瀬美千代、鷹羽武史, 「酵素合成したグルカンデンドリマーの溶液構造と形成過程」, 日本応用糖質科学会平成 27 年度大会、奈良市、2015

Y. Yuguchi, K. Yamamoto, S. Suzuki and S. Kitamura, “Structural formation of some polysaccharides as observed by time-resolved small angle X-ray scattering”, 8th KIFEE International Symposium on Environment, Energy and Materials, Trondheim, Norway, 2015

Y. Yuguchi, M. Kawabata, “Structural formation of xyloglucan by addition of polyphenols”, 8th KIFEE International Symposium on Environment, Energy and Materials, Trondheim, Norway, 2015

〔図書〕
該当なし。

〔産業財産権〕
該当なし。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

湯口 宜明 (YUGUCHI, Yoshiaki)
大阪電気通信大学・工学部・教授
研究者番号：00358300