

食品中の健康機能性成分の分析法マニュアル

平成22年3月作成

四国地域イノベーション創出協議会
地域食品・健康分科会 編

s-food@m.aist.go.jp

アコヤガイの糖脂質糖鎖の構造決定法

作成者：産業技術総合研究所 健康工学研究センター
生体機能評価チーム長 仲山 賢一

1. アコヤガイの糖脂質について

1. 1 概要

アコヤガイの糖脂質は「アコヤガイの糖脂質群」の項で述べたとおり、主に3糖からなる糖脂質が主成分として含まれている。アコヤガイの糖脂質にもセラミド成分を含んでいると考えられるので、免疫系や肌の保湿などの機能が期待できる。特に海産生物に含まれる糖脂質は免疫系への作用が確認され医薬品成分としての利用が考えられているものが知られており、利用価値が高いと考えられている。

1. 2 アコヤガイの糖脂質の機能性

糖脂質は一般的に様々な効果があるといわれている。その多くは、免疫系との関わりにより有効であるとされているが、一部は直接的な抗ガン効果や神経系への作用なども報告されている。その作用メカニズムは学術的に研究もされており、糖脂質の機能の一部は、糖タンパク質との糖鎖同士の相互作用による結合によるものであるとする学術論文が発表されている(1)。このように糖脂質の機能は糖鎖部分の寄与が大きいと考えられるが、経口摂取された場合、消化管などでの分解により、セラミドやスフィンゴシンに分解され吸収されることが知られており、セラミドやスフィンゴシン由来の効果が観察されることも知られてきている。スフィンゴシンやセラミドは、糖脂質とはまた異なる生理作用が報告されていることから、食品として経口摂取される場合は様々な効果が期待できる。

1. 2. 1 類似の糖脂質を含む食品

貝類の糖脂質については現在のところ製品化はされてはいない。海綿などに含まれる α ガラクトシルセラミドは、免疫細胞の活性化がよく知られており、癌の治療への応用が検討されているが、作用が強力であり食品として用いられることはない。

<引用・参考文献>

1. Kawashima N, Yoon SJ, Itoh K, Nakayama K., J Biol Chem. Vol. 284, pp6147-6155, 2009

2. 糖脂質類についての説明

糖脂質は、様々な種類が知られているが、ここでは一般的に動物で観察されるセラミドを含む糖脂質についての説明をする。

糖脂質の基本的な構造を図1に示す。脂質部分はセラミドと呼ばれるものであり、スフィンゴシンという塩基部分とそれに結合する脂肪酸部分に分かれる。

次に糖鎖部分であるが、動物では非常に多様な糖鎖が結合していることが知られている。特にナマコなどの海産の生物から取得される糖脂質にはシアル酸などの酸性糖が多く含まれている。

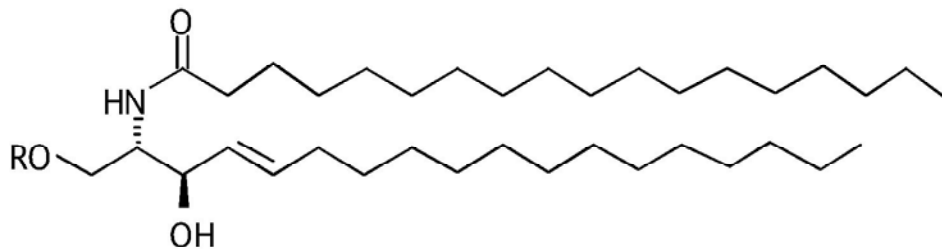


図 1

3. 定量分析の方法について

アコヤガイ由来の糖脂質の糖鎖構造の分析方法について述べる。アコヤガイの糖脂質の分離分析については、「アコヤガイの糖脂質群」で述べたように、高速液体クロマトグラフィーと蒸発光散乱検出器(ELSD)を用いた手法で分離できる。本マニュアルでは、アコヤガイの糖脂質の糖鎖部分を酸水解によって脂質と分離し、蛍光標識を行った後にキャピラリー電気泳動装置で糖の組成分析を行う手法について述べる。

3. 1 準備する器具など

1. 糖脂質成分分析システム(キャピラリー電気泳動装置、蛍光検出器が付いているもの)

[試薬]

1. TFA
2. 1M シアンホウ素化ナトリウム/TFA 溶液
3. APTS 試薬
4. 糖鎖・糖質分離バッファ
5. N-CHO コーティングキャピラリー

3. 2 分析用試料の前処理・調製方法

HPLC で分離精製したセラミド画分を遠心エバポレーターなどを用いて乾燥させた後、水を $100\ \mu\text{l}$ 加え溶解させる。これに 4N TFA を $100\ \mu\text{l}$ 加え、 100°C で 4 時間加水分解を行う。加水分解後、溶媒を吸引乾固し、 $0.2\text{M CH}_3\text{COONH}_3$ 溶液 $100\ \mu\text{l}$ 加え、さらに無水酢酸を $10\ \mu\text{l}$ 加えよく攪拌し 30 分室温に置く。再度同じ操作を繰り返した後、溶媒を吸引乾固させ、 $2\ \mu\text{l}$ の 1M シアンホウ素化ナトリウム TFA 溶液を加え、さらに $2\ \mu\text{l}$ の APTS 試薬を加える。 37°C で 4 時間反応後、 $46\ \mu\text{l}$ の水を加え、よく攪拌する。この希釈したサンプルを $5\ \mu\text{l}$ とり、水 $195\ \mu\text{l}$ 加えたものをキャピラリー電気泳動装置で分析を行う。

3. 3 キャピラリー電気泳動装置による分析方法

(1) 分析条件

調製した APTS でラベルされたサンプルは、N-CHO コーティングキャピラリーを用いて電気泳動され分離を行った。分離は 10kV で 20 分間行い、検出は励起波長 488nm 、検出波長 520nm で行った。

(2) 糖の同定

糖の同定は、標準品を同様に APTS で標識したものの移動度の差によって行った。

4. 分析例

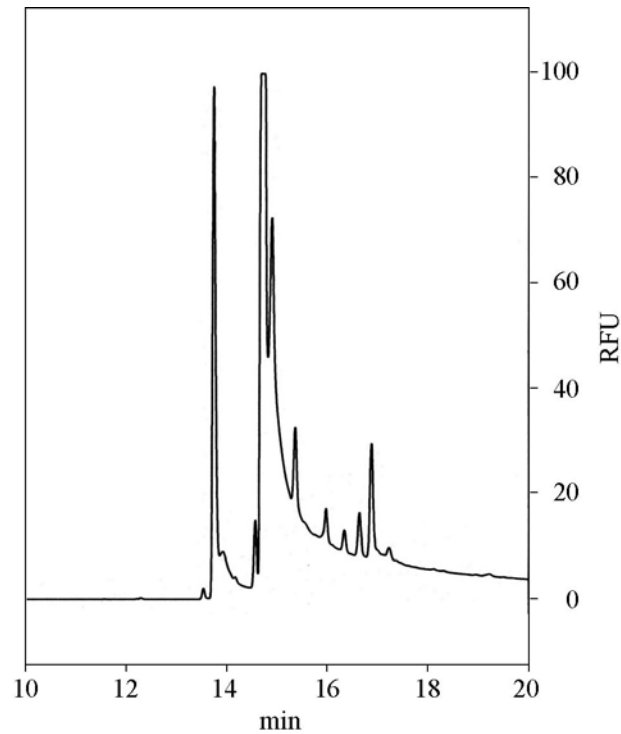


図 2 アコヤガイの糖脂質の糖鎖のキャピラリー電気泳動装置による分析

17分付近からのピークが糖のピーク。グルコースを始め複数の糖が検出されている。糖脂質の長さから、3糖からなる糖鎖が結合していることが分かっているので、グルコースおよび複数の糖からなる糖鎖構造を持つことが推定される。

5. 分析上の留意、注意点

特になし

—以上—

[トップページに戻る](#)