

散乱法を用いたオボアルブミンのゲル化機構の解明

廣井 卓思¹⁾、廣澤 和²⁾、岡積 雄也²⁾、Sai Venkatesh Pingali³⁾、柴山 充弘²⁾
1) 東京大学理学系研究科化学専攻 2) 東京大学物性研究所 3) オークリッジ国立研究所

【緒言】 オボアルブミン (OVA) は、卵白中に存在するタンパク質であり、卵白の熱凝固性などの物性を決めている。また、OVA は溶液の温度、pH、塩濃度などによって様々な凝集構造を取り、食品科学の分野のみならず、アルツハイマー病やパーキンソン病といった繊維状の凝集体に起因する病気の原因解明という観点からも盛んに研究が行われてきた[1]。

OVA 水溶液は、一定の濃度を超えると、熱処理によってゲルが得られる。近年、OVA をペプシンで処理することによって得られる N 末端 22 残基のペプチド (pN₁₋₂₂) を OVA 水溶液に混合すると、熱処理によって得られるゲルの強度が大きくなるということが報告された[2]。本発表では、このゲルの高強度化のメカニズムを、小角中性子散乱 (SANS) と動的光散乱によって解析した結果を報告する。

【実験】 OVA (Sigma-Aldrich, purity: $\geq 98\%$, A5503)、pN₁₋₂₂ (Piscataway, NJ, USA, purity: $\geq 70\%$) およびこれらの混合物を、様々な濃度で 100 mM のリン酸緩衝液に溶解させ、塩酸によって溶液の pH を 2.2 に調整した。調製した溶液を厚さ 2 mm のセルに入れ、25 °C で SANS 測定を行なった。一部の溶液は、セルに入れた状態で 65 °C の恒温槽において 1 時間加熱し、25 °C まで放冷した後に SANS 測定を行なった。SANS 測定は、米国オークリッジ国立研究所 (ORNL) 内の原子炉 (HFIR) のビームライン Bio-SANS にて行った。

【結果・考察】

1. OVA 水溶液

加熱前の水溶液から得られた散乱プロファイルは、double Debye-Bueche 関数でよく再現された。この結果は、動的光散乱による粒径分布の測定と合わせて、OVA が幅広い粒径分布のクラスターとして存在することを示唆している。加熱後の水溶液は、ゾル (1 wt%) とゲル (2 wt%以上) とで定性的に異なる散乱プロファイルを示し、加熱によって形成されたゲルは相分離構造を持っていることが示唆された。これは、塩が存在しない中性条件下における先行研究と異なる結果である[3]。

2. OVA・pN₁₋₂₂ 混合水溶液

得られた散乱プロファイルは、OVA 水溶液と pN₁₋₂₂ 水溶液から得られた散乱プロファイルの単純な和と比較して、加熱前においても明確な散乱強度の増強が観測された。ここから、pN₁₋₂₂ が加熱前の段階で OVA のクラスターに分散していることが示唆された。pN₁₋₂₂ の添加によるゲルの強度増強の機構については、分散していた pN₁₋₂₂ が OVA の熱変性による凝集構造に取り込まれ、見かけ上のタンパク質濃度が上昇するためであると考えられる。

[1] E. Doi, N. Kitabatake, *Food Hydrocolloids* **3**, 327 (1989). [2] Y. Kawachi *et al.*, *J. Agric. Food Chem.* **61**, 8668 (2013). [3] T. Hiroi *et al.*, *Polymer* **93**, 152 (2016)