

第12話 β -グルカン (2)

(1 \rightarrow 3)- β -D-グルカンと LAL の反応に関して、その構造、濃度依存性、反応 kinetics 等、様々なアプローチの方法があると思います。構造に関しては、 ^{13}C -NMR を用いた研究で、1重らせん構造の状態では3重らせん構造の時より、100倍もLAL中の β -グルカン感受性因子(G因子)活性化能が高いことが報告されています¹⁾。濃度依存性に関しては、100~1000 ng/ml に反応の至適濃度があり、高濃度ではLALの活性化が起こらないことが報告されています²⁾。また、筆者らは、トキシノメーター ET-201 (和光純薬) を用いた LAL と (1 \rightarrow 3)- β -D-グルカンの反応 kinetics について報告しております³⁾。今回は、このLAL と (1 \rightarrow 3)- β -D-グルカンの反応 kinetics について考えてみたいと思います。

筆者らは、LAL の活性化における反応タイムコースを解析することにより、エンドトキシンと β -D-グルカンが異なった反応を示すことを明らかにしました。すなわち、LAL とエンドトキシンの反応タイム

コースは反応のラグが長く、ゲル化に伴う濁度変化が急激に起こるのに対し、LAL と (1 \rightarrow 3)- β -D-グルカンの反応はラグは短い、濁度変化は緩やかであるという特徴が認められたのです(図1)。そして、エンドトキシンと(1 \rightarrow 3)- β -D-グルカンの混合物では両者の特徴が現れ、ラグが短く、途中から急激な濁度変化が起こりました。このように、エンドトキシンと(1 \rightarrow 3)- β -D-グルカンの LAL に対する反応様式が異なることは、LAL 中に、C 因子(エンドトキシン感受性因子)系とG因子系という異なった活性化経路があることとも関連していると思われます。

この違いを数値として扱うために、濁度変化の微分係数に着目しました。微分係数を算出するソフトウェアは、当社の ME 研究室で作ってもらいました。こうして解析した微分係数の最大値を D_{\max} とし、 D_{\max} が得られるまでの反応時間を T_p として、これらをプロットすると、エンドトキシンと(1 \rightarrow 3)- β -D-グルカンは異なった直線上にプロットされました



試験管 LOVE STORY Part 2
顔は同じでも 嗜好が違うと反応性が変わる

(図2)。筆者らは、この方法を T_p - D_{\max} プロットと名づけ、エンドトキシンと β -グルカンの判別に利用しようとしたのですが、測定終了後に解析が必要であり、定量性・汎用性に問題があったため、実用化は見送りました。しかし、反応タイムコースを見慣れてくると、 T_p - D_{\max} プロットを行わなくても、LAL を活性化している主な物質がエンドトキシンか β -グルカンかを見分けることができるようになります。この意味で、比濁時間分析法によって反応タイムコースを観察することにも意義があると思われます。このような情報は、ゲル化転倒法やエンドポイント合成基質法では得ることができないからです。

エンドトキシンと LAL の反応に比べると、(1 \rightarrow 3)- β -D-グルカンと LAL の反応は、まだまだ研究の余地がありそうです。特に、複数の種類の結合や糖を持つ物質については、興味を持たれます。

今回は、少し趣を変えて「カプトガニ」の話をしたと考えています。

【参考文献】

- 1) Saito, H. et al. : *Carbohydr. Res.*, 217, 181 (1991).
- 2) Kakinuma, A. et al. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 101, 434 (1981).
- 3) Tsuchiya, M. et al. : *Chem. Pharm. Bull.*, 38, 2523 (1990).

今回は、第13話「カプトガニの話(1)」の予定です。

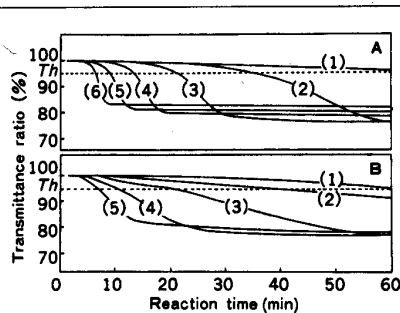


図1. エンドトキシン(A)および(1 \rightarrow 3)- β -D-グルカン(B)とLALの反応タイムコース

Endotoxin concentration of each sample in Fig. 1A was as follows: (1), none; (2), 0.05 EU/ml; (3), 0.5 EU/ml; (4), 5 EU/ml; (5), 50 EU/ml; (6), 500 EU/ml. (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan concentration of each sample in Fig. 1B was as follows: (1), none; (2), 0.2 ng/ml; (3), 2 ng/ml; (4), 20 ng/ml; (5), 200 ng/ml.

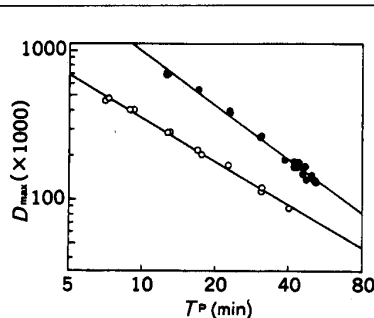


図2. エンドトキシン(●)および(1 \rightarrow 3)- β -D-グルカン(○)の T_p - D_{\max} プロット

D_{\max} and T_p were obtained from the reaction course of each sample. Endotoxin (●) was assayed in the range of 0.03 to 10 EU/ml. (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan (○) was assayed in the range of 0.5 to 100 ng/ml. The regression line of endotoxin was $\log(D_{\max}) = -1.20(\log(T_p)) + 4.2$ ($r = 0.995$). The regression line of (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan was $\log(D_{\max}) = -0.975(\log(T_p)) + 3.52$ ($r = 0.996$). Higher concentrations of endotoxin and (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan were plotted at a point of higher D_{\max} and lower T_p on each regression line.