

難消化性澱粉の澱粉粒子の 内部構造解析

2024.2.11 BL40XU@SPring-8

株式会社 スターテック 中村保典
山形大学 松葉 豪

難消化性澱粉の澱粉粒子の内部構造解析

(株式会社スターテック、秋田市)

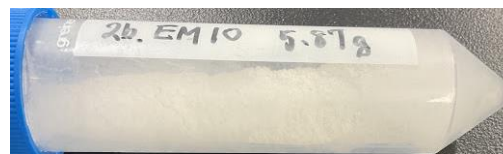
難消化性澱粉

(レジスタントスターチRS)

小腸で消化しづらい難消化性成分



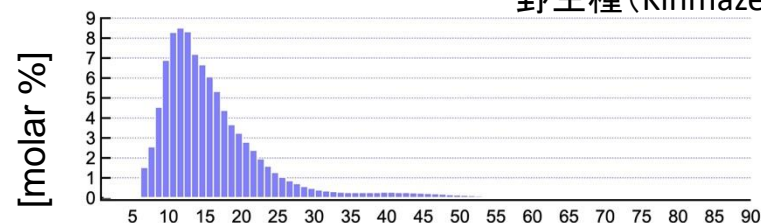
大腸までとどき様々な健康効果を発揮



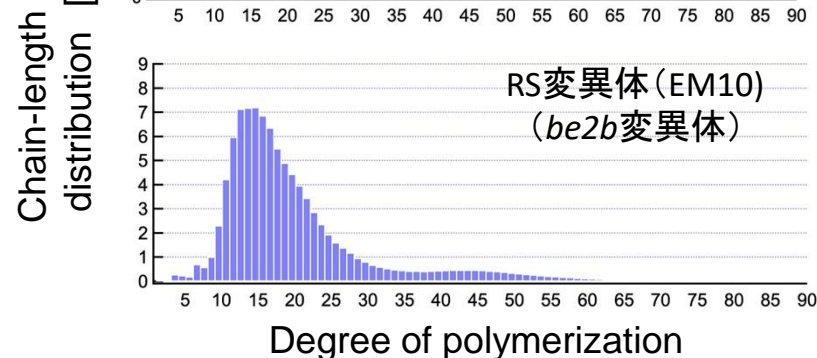
実際の澱粉サンプル

枝作り酵素BEIIbの制御

野生種 (Kinmaze)



RS変異体 (EM10)
(be2b変異体)

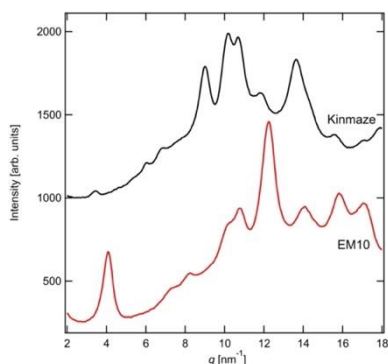


難消化性澱粉は

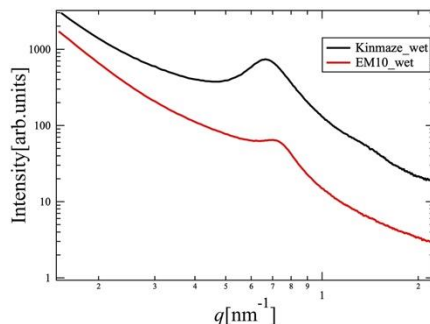
短い鎖が少なく、長い鎖が多い。

これまでの測定

広角X線回折



小角X線散乱



結晶系が異なる (広角X線回折)

→難消化性澱粉のほうが融点が高い

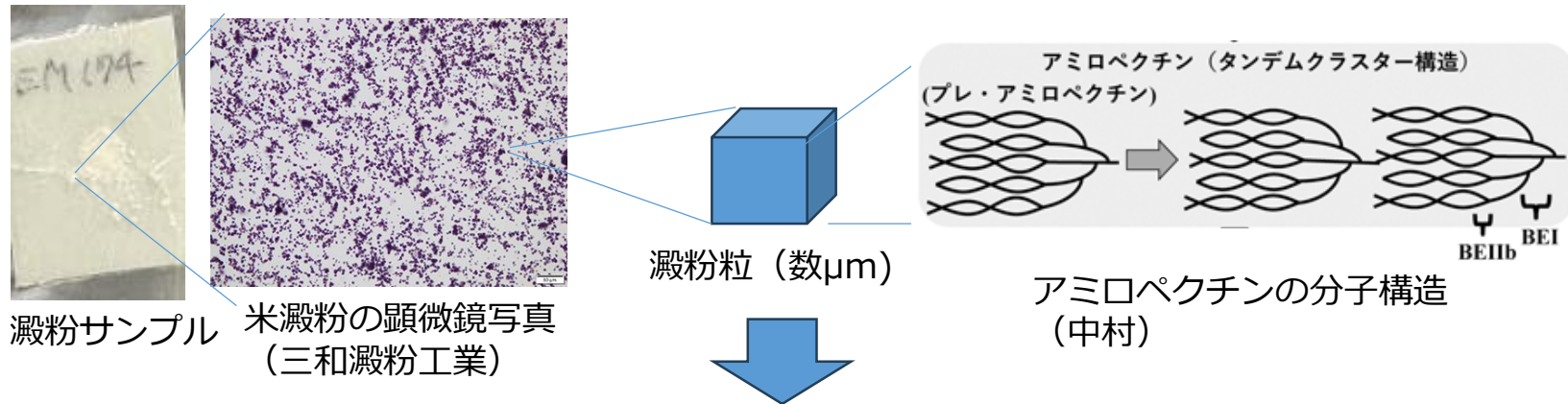
高次構造が異なる

→ラメラ間に入る水の量が異なる

鎖長分布と結晶構造の
相関について研究が進められている

難消化性澱粉の澱粉粒子の内部構造解析

複雑な階層構造

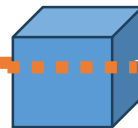


澱粉粒の内部でどのように
アミロペクチン分子が成長するか不明

マイクロビームX線を用いて澱粉粒自体の結晶タイプ・分布を評価

議論の結果、澱粉粒での
実験は困難

入射X線



結晶化度や結晶の向き
結晶構造を評価

枝作り酵素BEIIbの澱粉粒成長プロセスへの影響の解明

→澱粉粒の乾燥状態、湿潤状態での比較

→粒の大きな馬鈴薯由来澱粉との比較

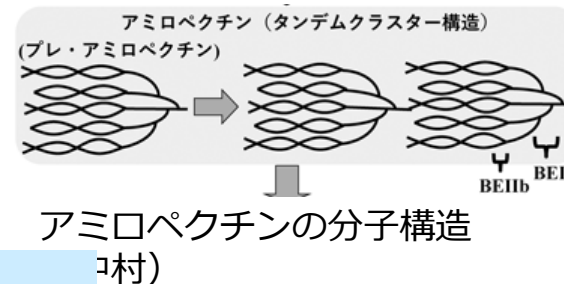
米粒内部の澱粉構造解析

実際の実験に当たり…

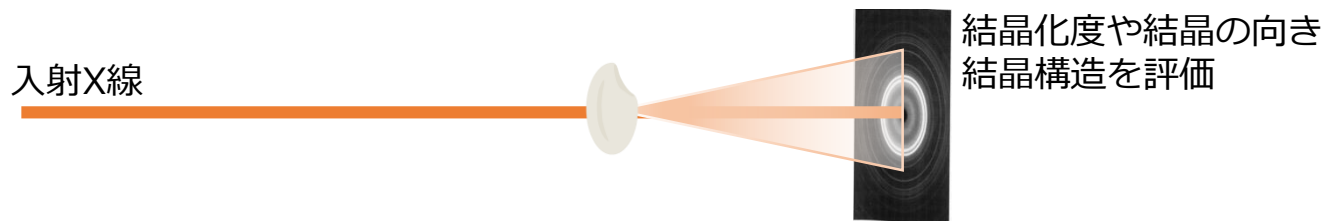
澱粉粒 (数 μm)の利用→固定方法の開発の必要
ビーム強度の問題で測定可能かどうかは不明



時間制限がある中で、種子内部の
分布を測定する方法から確立したほうが良いとの結論



マイクロビームX線を用いて種子内部の結晶分布を評価



種子内部の澱粉の構造 (結晶タイプ) とその分布の解明

実験内容

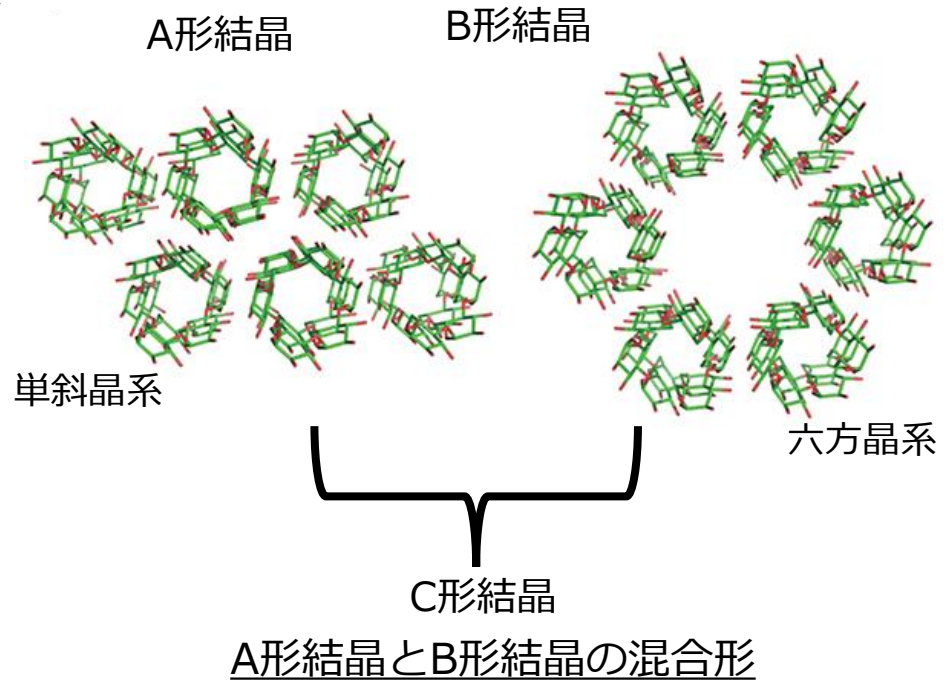
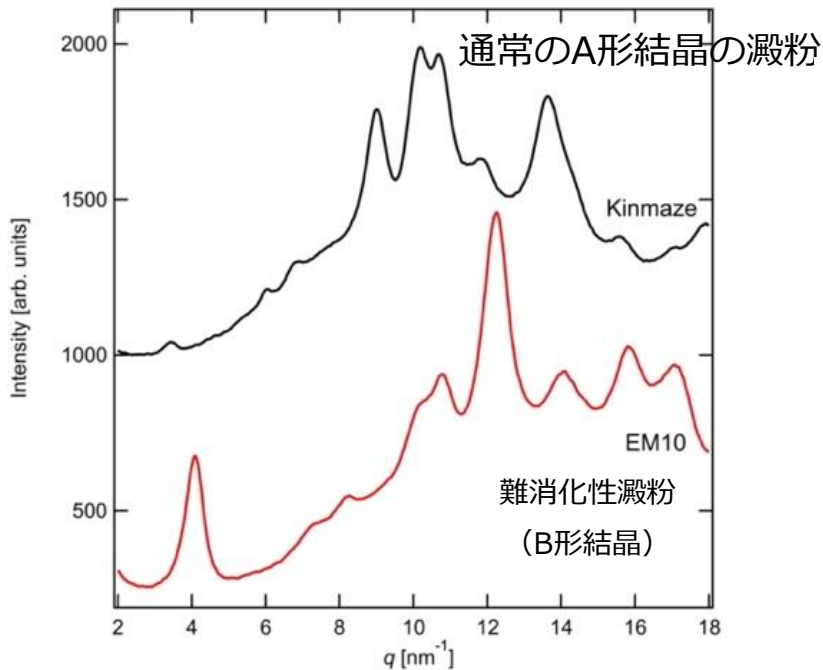
難消化性澱粉を含む種々の米粒の内部構造の分析

米粒の内部構造の精密なデンプン結晶の分布を評価

澱粉の難消化性と澱粉構造との関連を考察

SPRING-8でのマイクロビーム広角X線散乱を利用

WAXS測定



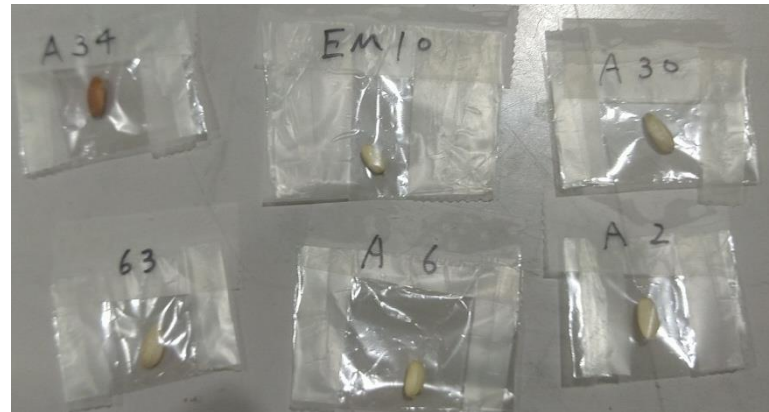
広角X線散乱測定により

それぞれの種子内部の澱粉の結晶構造を識別可能！！

実験に使用したイネ系統

6種類の米系統由来の澱粉または種子

- ・ 秋田63号 (野生系統) RS性は低い
- ・ A2:あきたさらり (高アミロース系統) やや高い
- ・ A6:まんぷくさらり 高い
- ・ A30:白さらり 極く高い
- ・ A34:赤さらり 極く高い
- ・ EM10: *ae*変異体 極く高い
(A6, A30, A34の親変異体; 低収量など、農業形質不良)



○樹脂包埋カットサンプル→強度が弱くて難しい

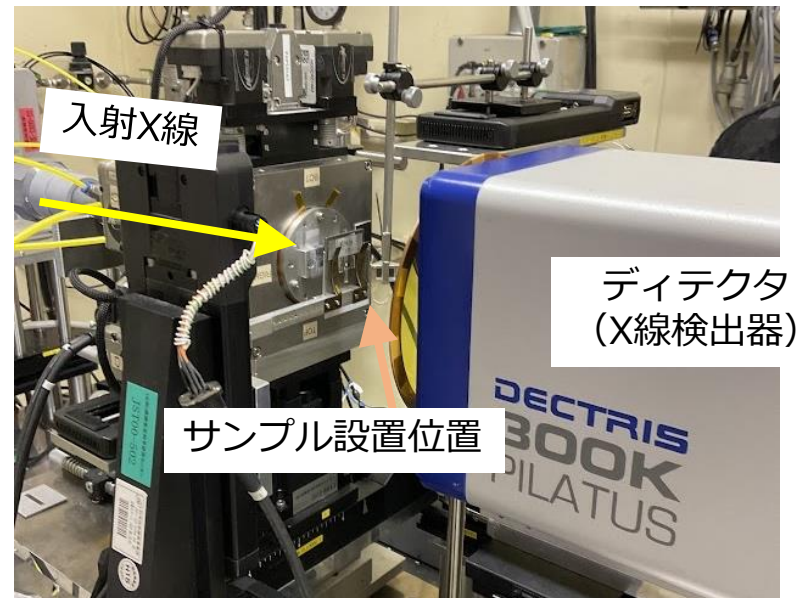
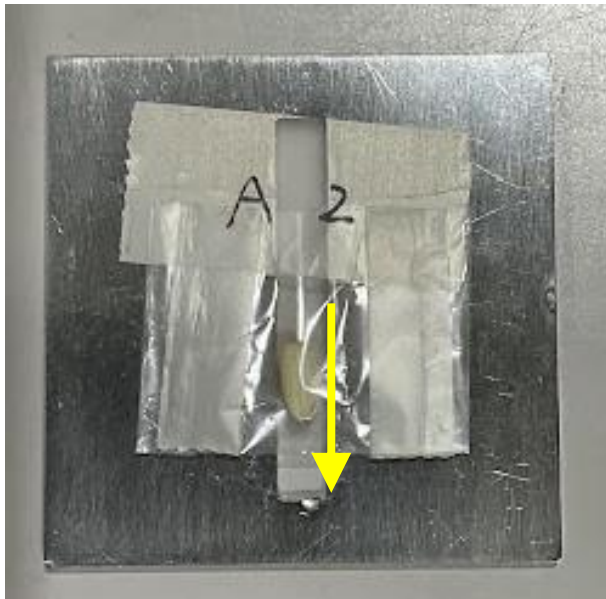
○米粒そのもの

それぞれのサンプルをPEEKフィルムで包んで測定



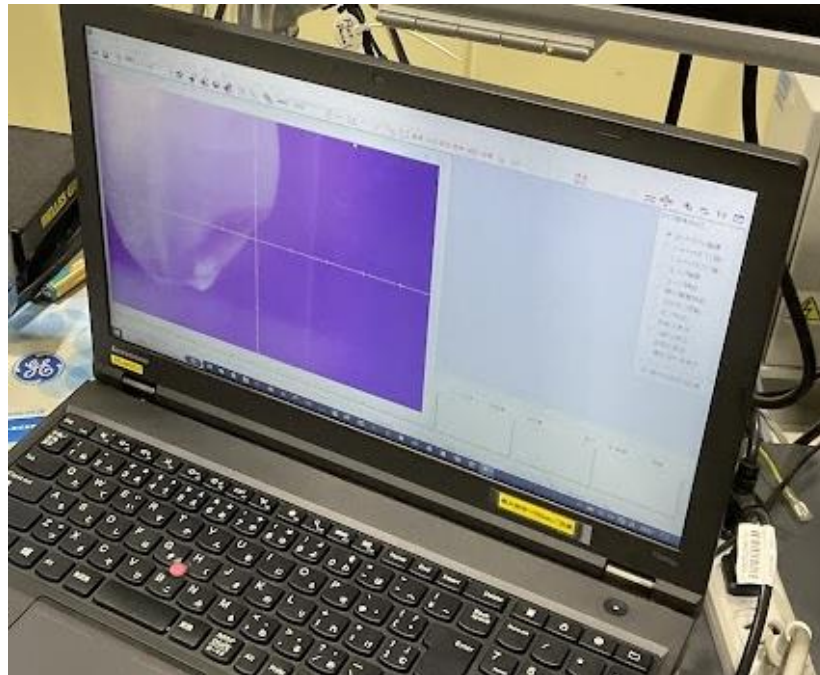
実験条件について

- BL40XU実験（ビーム径 縦 $0.5 \mu\text{m}$ x 横 $1.0 \mu\text{m}$ ）
- サンプル設置位置にセル（下）をセットして実験
- ディテクタ Pilatus 300k
- カメラ距離 52.3 mm
- 測定時間 1.0 s



測定手法

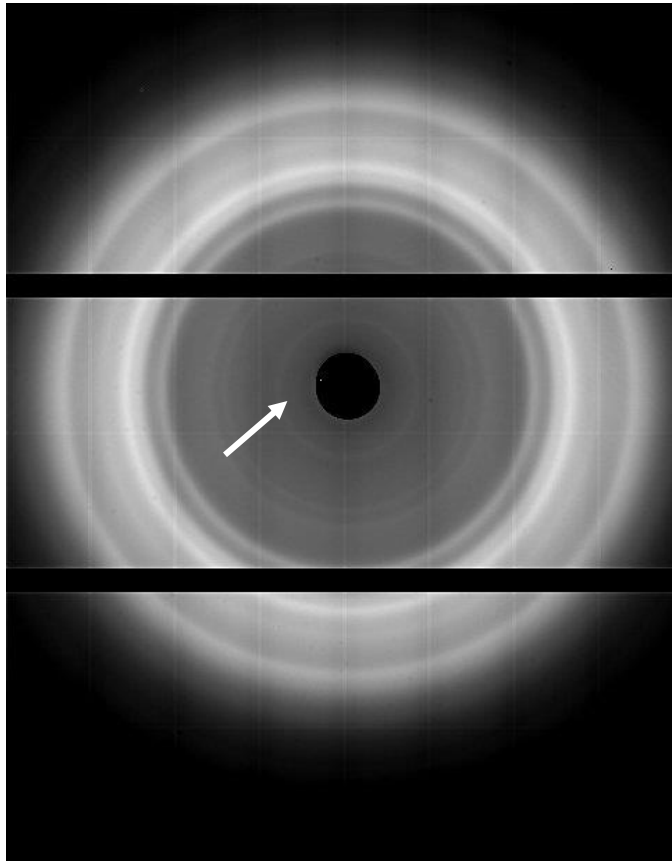
- 種子の場所を選び出し、種子（米粒）を移動させながら、スキャンし、それぞれのX線散乱像を測定



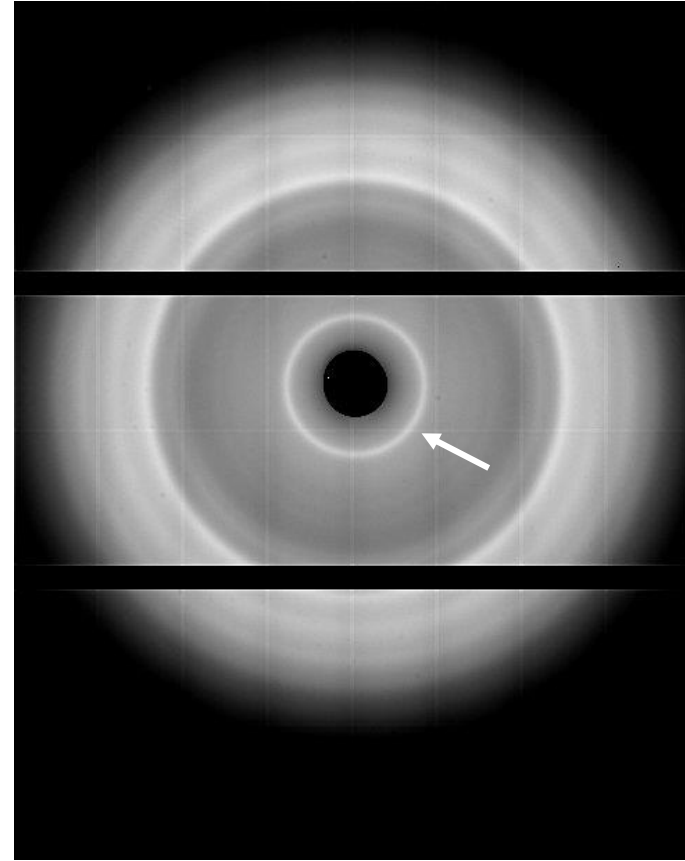
位置制御用PC

2次元WAXS像 測定結果（種子の中央部）（例）

代表的なデンプン構造を有する2種類の種子



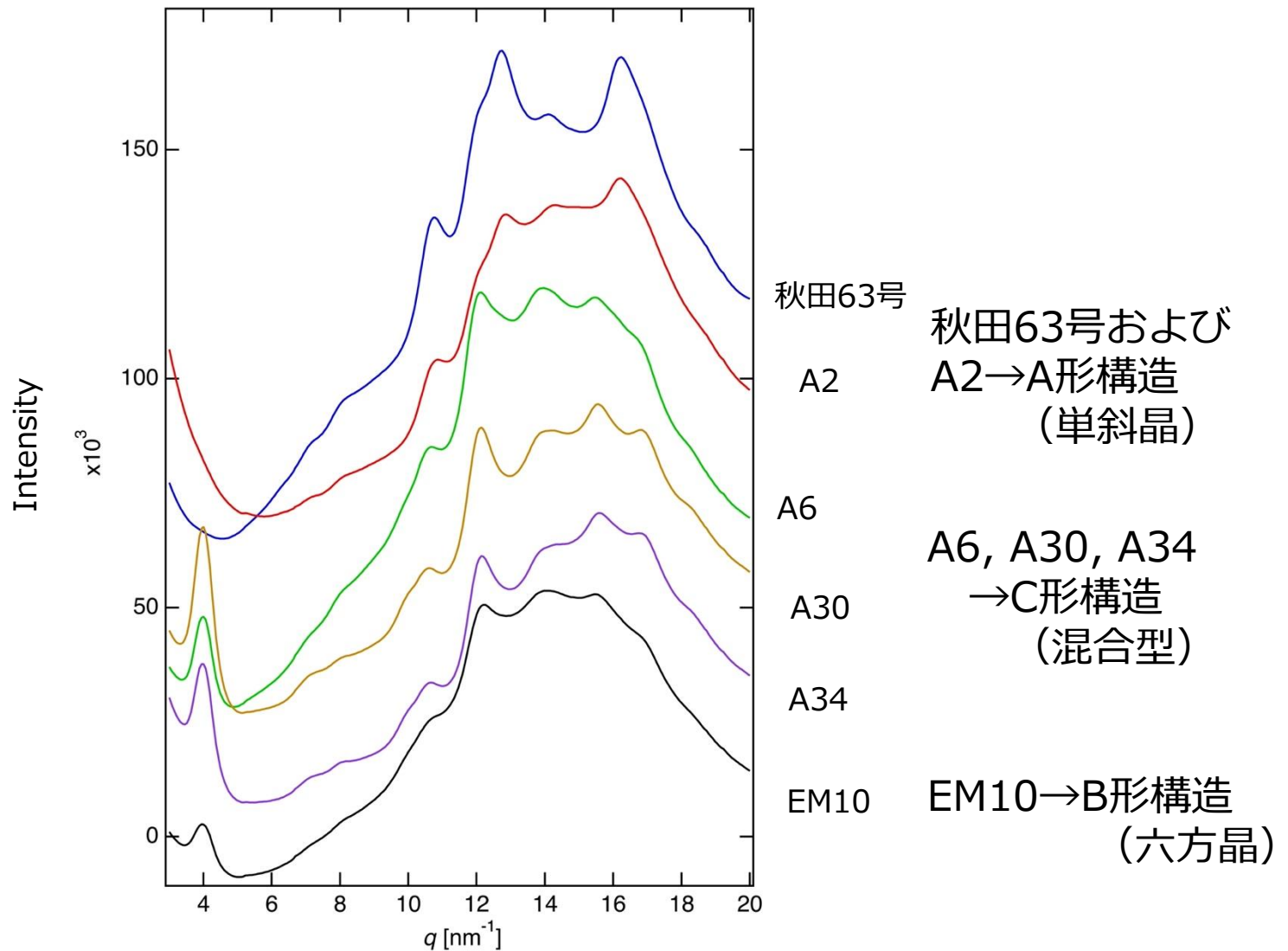
秋田63号(A形結晶)



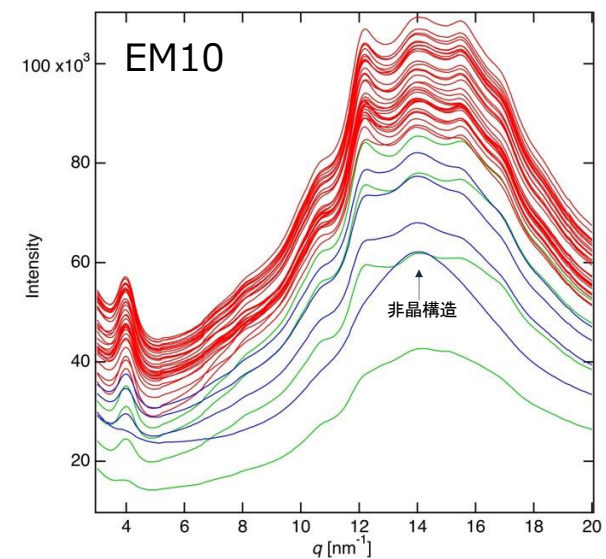
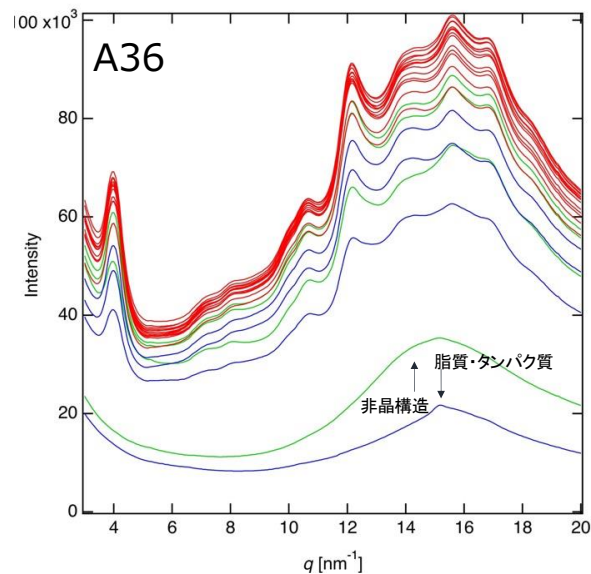
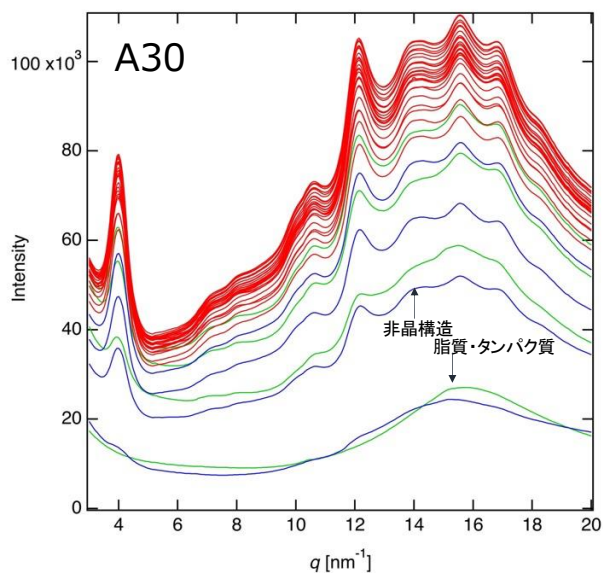
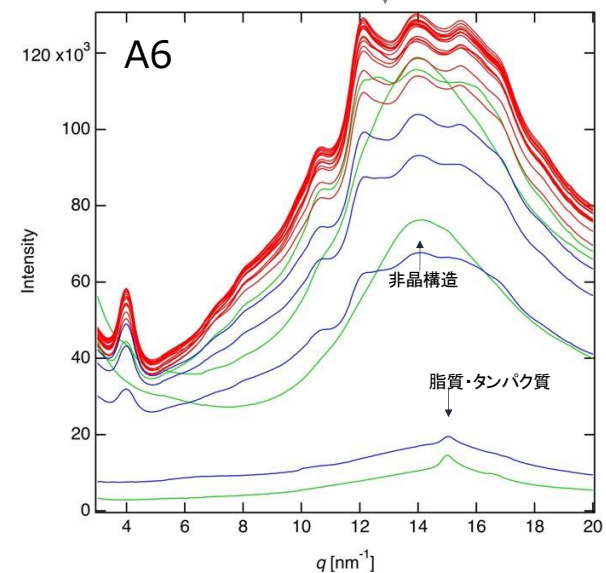
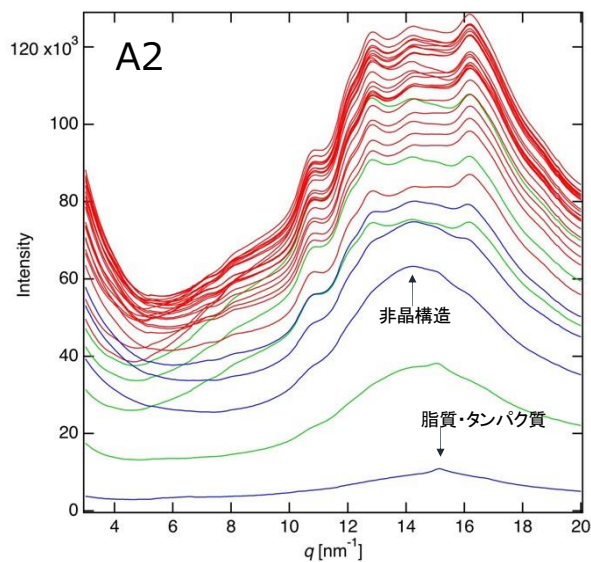
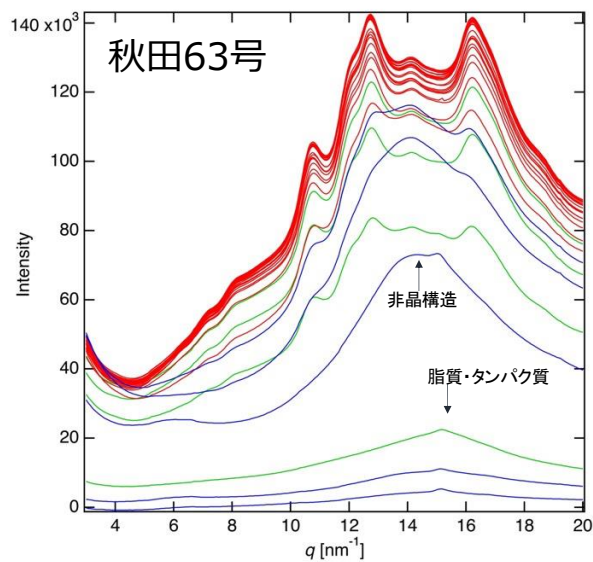
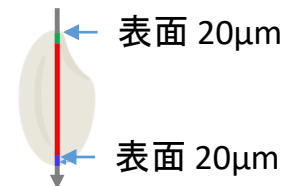
EM10 (B形結晶)

中央部にあるリングである程度の区別は可能
デンプン分子の配向は見られない

種子中央部分のWAXSプロファイル



種子の位置によるプロファイル変化



分析結果のまとめおよび考察

1. 総括的な観察結果

- 種々の米の種子内部の結晶構造を推測することができた。高RS澱粉を含み、かつ農業形質が優れているA6, A30, A34系統は、C型澱粉を含んでいた。高RSを含むが、農業形質が劣っているEM10の澱粉がB型であるのとは対照的だった。
- 種子の部位により、澱粉構造には大きな差異が観察された。
- 種子表面部分は非晶層がみられ、中には油脂・タンパク質由来の散乱が観測された。
- 種子の中央部においては、品種ごとに異なる結晶構造が見られた。
- これらの結果から、種子内には部位ごとに性質の異なる澱粉が含まれていることが初めて明らかになった。本分析の特筆すべき成果である。

2. 系統別の観察と相互比較

| 系統（品種）名 | 遺伝子型* | RS | アミロース量 | 澱粉結晶型 |
|--------------|---------------------------|----|--------|-------|
| ・秋田63号（野生系統） | <i>SSIIIa/BEIIb/gbss1</i> | 低 | 約19% | A |
| ・A2:あきたさらり | <i>ss3a/BEIIb/gbss1</i> | 弱 | 約29 | A |
| ・A6:まんぷくすらり | <i>ss3a/be2b/gbss1</i> | 高 | 約39 | C** |
| ・A30:白すらり | <i>SSIIIa/be2b/GBSS1</i> | 極高 | 約38 | C |
| ・A34:赤すらり | <i>SSIIIa/be2b/GBSS1</i> | 極高 | 約38 | C |
| ・EM10:ae変異体 | <i>SSIIIa/be2b/gbss1</i> | 極高 | 約23 | B |

(*小文字は、遺伝子（酵素）機能が欠損したもの。 **C型は、A型澱粉とB型澱粉が共存)

- ・すでに知られているように、ジャポニカイネの野生型の澱粉はA型で、*be2b* (*ae*) 変異体澱粉はB型だった。これらは基準系統である。
- ・高アミロースタイプで、RS性は弱い（野生型の約2-3倍）A2系統の澱粉は、A型で、澱粉結晶タイプは野生型と大きな差異はなかった。
- ・A6は、すでに品種名「まんぷくすらり」として登録され、産業利用されているが、基準品種とは異なるC型澱粉を生産し、EM10とも異なるRS性を有することが明らかになった。
- ・A30とA34は、極めて高いRSを含む（A6よりも3-5倍も高い）系統である。遺伝子背景は同一で、戻し交配中に分離されてきた。これらの澱粉はC型であるが、X線パターンは、明らかにA6のものとは異なっていた。従って、既に品種化されているA6とは異なるタイプの難消化性澱粉を大量に有すると予想される。これらの結果から、両系統共に、新品種としての価値を有する有望な系統となると期待される。

今後の課題と期待

- 今回の分析で、種子の部位別に、澱粉の結晶タイプや含有量などに大きな差異があることが明らかにされた。今回の分析では、イネの種子を丸ごと用いてスキャンしたが、種子のスライスサンプルを用いることができれば、部位別の特徴が正確でより鮮明になると思われる。適切なサンプル調製に取り組みたい。
- 高RS澱粉といっても、系統ごとに異なるタイプの澱粉があることが明らかになった。食品の健康への貢献など、機能性への期待が大きい高RSであるが、その性質やタイプなどは、現在はまだ明確ではない。今後、澱粉構造と高RS性の関連性を深めることにより、高RS米の素材としての価値を高めることができると期待される。
- これらの目的を達成するためには、高エネルギーX線ビームを有する放射光施設の利用は欠かせない。これらの試みにより、放射光施設の食品産業分野への貢献が顕著になる。