

クロゴキブリ(*Periplaneta fuliginosa*)を無色化してキチンを単離する試み

兵庫県立姫路東高等学校 科学部(ゴキブリ班)

梶本貫太 赤瀬彩香 高瀬健斗

キーワード クロゴキブリ(*Periplaneta fuliginosa*): 体長25~30mm程度で、黒褐色の光沢をもち雑食性で、日本全国に広く生息している。孵化後300~350日で成虫になり、その後200日前後生存する。国内に生息する屋内性のゴキブリでは、唯一越冬可能な種である。

チロシン: 4-ヒドロキシフェニルアラニンとも呼ばれるアミノ酸の一種
化学式は $C_9H_9NO_3$

キチン(図1): エビやカニなどの甲殻類から昆虫類などに広く含まれている天然素材であるため枯渇の心配がない。安全性も高く、生物分解性であることから注目されている。直鎖型の含窒素多糖高分子の、ポリ-β-1-4-N-アセチルグルコサミン。化学式は $(C_8H_{13}NO_5)_n$ で、構造はセルロースと類似しているが、2位炭素の水酸基がアセトアミド基である。分子間や分子内に強固な水素結合をもち、加熱によって分解する。

この水素結合は、低い溶解性の原因ともなっており、ほとんどの溶剤に溶解しない。濃塩酸や濃アルカリに浸すと、加水分解によって分子鎖が切断されて分子量が低下する結果、溶解する。

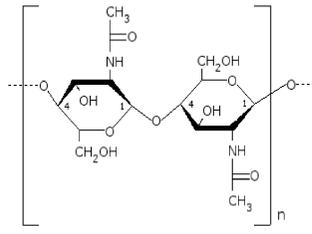


図1 キチンの分子構造

動機・目的 キチンは生物によって、年間1000億トンも生産されているとされている。枯渇することのない豊富な生物資源である。生体に対する親和性が高く、おもに廃棄される部分に含まれているため、さまざまな形で再利用することができる。甲殻類から得たキチンは、すでに縫合糸など医療分野において実用化されている(木船, 1994)ほか、腸管の炎症の抑制、皮膚の健康の増進効果、食品の食感の改良効果、ダイエット効果、植物の免疫機能の活性化効果、などさまざまな活用が考えられている(伊福, 2015)。Shamsほか(2012)は、カニの殻のキチンの構造を明らかにし、伊福(2015)はカニ殻のキチンをキチンナノファイバーの形で単離することに成功している(図2)。

一方、昆虫のキチンをバイオマテリアルとして利用しようとする研究は1996年に旧科学技術庁のプロジェクトとして始まった(羽賀, 2011)。昆虫にもキチンが多く含まれていることは知られているが、昆虫キチンは普通の溶媒には溶解しないために、比較的容易な甲殻類のキチンの活用比べて遅れており、これまでに、カイコ蛹脱皮殻やカブトムシ幼虫からのキチン単離が報告されているのみである(羽賀・張, 1998, 1999)。これは、昆虫クチクラに含まれるフェノール化合物をはじめとするさまざまな物質を溶解する安定した方法が見つかっていないからである。昆虫キチンは甲殻類のキチンに比べて加水分解されやすく、脱アセチル化されやすいため、穏和な条件下で分子量の低下を抑えた化学修飾ができることが知られている(羽賀, 2011)。日常生活で身近な存在であり、世間では一般に忌み嫌われるクロゴキブリにも、昆虫類で最大の50%程度のキチンが含まれているともいわれている(詳細は不明)。カニ殻のキチン含有率が20~30%程度である(伊福, 2015)ことから、その豊富さが理解できる。

筆者らは、困難とされている昆虫の一種であるクロゴキブリでキチンの単離(脱色透明化)が可能になれば、クロゴキブリのキチンから生体への親和性の高い新しい素材を作成するヒントが得られるのではないかと考えた。そこで、甲殻類のキチンの脱色透明化の方法を参考にして、クロゴキブリのキチンの単離を試みることにした。クロゴキブリを脱色透明化することは、キチン以外の成分を溶解してキチンを単離することを意味する。クロゴキブリを用いた研究は、本研究が初めてのものである。

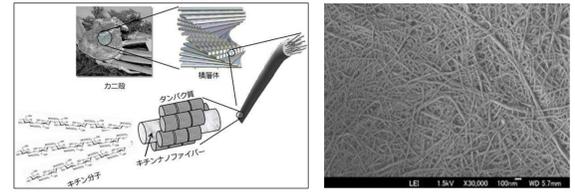
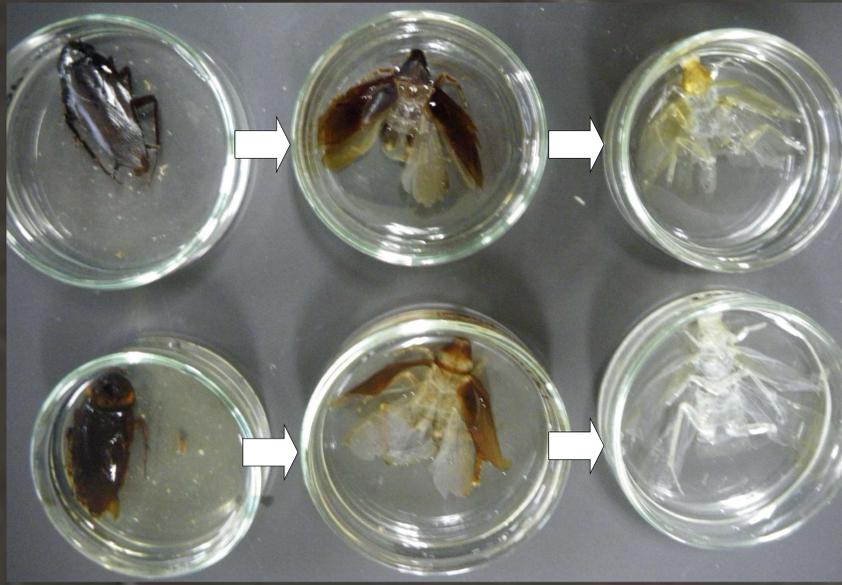


図2 カニ殻の階層構造とキチンナノファイバー(伊福, 2015)



実験方法と結果 クロゴキブリには多くのキチンが含まれているが、カニの殻とクロゴキブリでは、その成分に違いがある。甲殻類由来のキチンは主にカルシウムとタンパク質が階層構造をなしているのに対して、クロゴキブリにはカルシウムが存在せず、ジフェノール化合物が15~25%程度含まれている(羽賀, 2011)。キチナーゼに対する感受性も高く、甲殻類に比べてキチンの単離はきわめて難しいとされている。筆者は、カニの殻の透明化の方法をヒントにして、試行錯誤の末、独自に①~⑤の脱色透明化の方法を考え、クロゴキブリの体表には炭酸カルシウムがないため、塩酸で溶解する必要がない。一方、油分を多く含んでいるため、脱脂する必要がある。実験に用いたクロゴキブリはアース製薬株式会社研究部から提供を受けた20個体で、そのすべてをほぼ脱色透明化することができた。

- ① クロゴキブリの死骸から内臓を取り出す。
 - ② 乾燥させた後、アセトンに1日浸して脱脂する。
 - ③ イオン交換水を用いて中性になるまで十分に洗浄して乾燥させた後、色素タンパク質を溶解するために、1.0mol/Lの水酸化ナトリウムに浸して加熱する。
 - ④十分にタンパク質を溶解させるために、一定時間ごとに蒸発した量のイオン交換水を加えて攪拌しながら3時間加熱を続ける。
 - ⑤イオン交換水を用いて中性になるまで十分に洗浄して乾燥させた後、色素を溶解するために過酸化水素水に3日間浸す。
- 以上の方法によって、クロゴキブリをほぼ脱色透明化することができた。しかし、わずかに色素が残存してしまい、完全なキチンの単離には至らなかった(図3)。

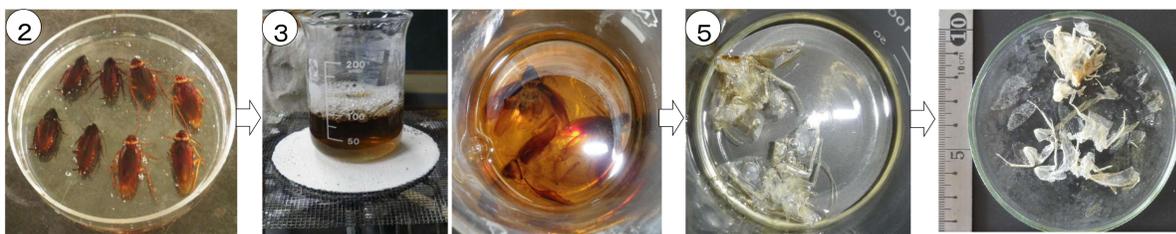


図3 クロゴキブリの脱色透明化実験(番号は本文中の手順に相当している)

考察 昆虫キチンは甲殻類のキチンよりも、穏和な条件下での利用価値が高いとされている。本研究では、困難とされている昆虫の一種であるクロゴキブリのキチンの脱色透明化に挑戦し、試行錯誤の結果、クロゴキブリをほぼ脱色透明化することができた。クロゴキブリのキチンを単離する方法の確立に向けた一定の成果が得られたが、クロゴキブリには、キチンと色素タンパク質を結合させるチロシンなどが含まれているため、クロゴキブリを完全に脱色透明化してキチンを単離することはできなかった。

現在、クロゴキブリの完全な脱色透明化ができなかった原因の可能性として考えられるチロシンなどの含有物の成分を特定し、科学的根拠を明らかにするとともに、完全脱色透明化のための方法を検討しているところである。現在、完全な透明化の方法をさらに追及している。

参考文献 キチン、キトサン研究会(1988)最後のバイオマス:キチンキトサン(技報堂出版)

キチン、キトサン研究会(1990)キチン、キトサンの応用(技報堂出版)

キチン、キトサン研究会(1991)キチン、キトサン実験マニュアル(技報堂出版)

キチン、キトサン研究会(1995)キチン、キトサンハンドブック(技報堂出版)

羽賀篤信(2011)昆虫キチンの利用技術の開発と応用(蚕糸・昆虫バイオテック80, 3, 193-210)

羽賀篤信・張敏(1998)蚕とカブトムシクチクラ由来キチンの精製(日本蚕糸学雑誌, 67, 1, 17-21)

羽賀篤信・張敏(1999)昆虫由来キチンの化学構造特性(平成10年度蚕糸・昆虫農業技術研究所研究成果情報, 28-29)

伊福伸介(2015)カニ殻由来の新素材「キチンナノファイバー」の製造とその利用開発(化学と生物, 53, 7, 473-477)

木船純爾(1994)キチン、キトサンの医療への応用(技報堂出版)

Shams, I., Nogi, M., Berglund, L., and Yano, H. (2012) The transparent crab: preparation and nanostructural implications for bioinspired optically transparent nanocomposites (Soft Matter, Issue 5)

The 8th International Conference on Chitin and Chitosan and 4th Asia Pacific Chitin and Chitosan Symposium, Yamaguchi, Japan (2000) CHITIN AND CHITOSAN - IN LIFE SCIENCE (Kodansha Scientific Ltd.)

矢吹稔(1992)キチン、キトサンのはなし(技報堂出版)

謝辞 アース製薬株式会社研究部生物研究課の有吉立氏には、実験用のクロゴキブリ試料を提供していただいた。また本校科学部顧問の川勝和哉先生には、有意義な助言をいただいた。ここに記して謝意を表す。