

イオン性高分子吸着剤の調製および化学特性評価と 生体関連物質吸着能の関連性

○山下 彬宏¹, 坂田 眞砂代²

(¹熊本大学工学部技術部, ²熊本大学大学院先端科学研究部)

yamashita@tech.eng.kumamoto-u.ac.jp

1. はじめに

熊本大学工学部材料・応用化学科（旧物質生命化学科）では、3年次に学生実験を通年で実施している。2004年1月にISO14001取得以降、環境ISO（ISO14001）を組み込んだ独自の人材育成システムに積極的に取り組んでおり、技術職員は1学年約80名が一斉に取り組む学生実験全体を取りまとめ、学生およびTAに対して厳しく教育・指導している。筆者らは、本学科3年次の学生実験において「生命化学実験」を担当し、「イオン性高分子吸着剤の調製」、「カチオン性およびアニオン性高分子吸着剤の化学特性評価」および「カチオン性およびアニオン性吸着剤の生体関連物質に対する吸着・分離特性」といった3テーマの実験を実施する。一方、本学生実験は2015年に新規実験テーマとして開始以降、測定・分析に係る予算や時間等の問題から、高分子吸着剤における化学構造の定性、あるいは官能基定量の大きな指標となる有機微量元素分析を用いた化学特性評価に取り組んでいなかった。

そこで今回は、有機微量元素分析装置（JM10, 株式会社ジェイ・サイエンス・ラボ製）を用いて、本学生実験にて調製したイオン性高分子吸着剤の化学特性評価に新規に取り組んだ。加えて、イオン性高分子吸着剤の化学特性評価と生体関連物質（リゾチームおよびDNA）吸着能の関連性を詳細に検討したことを報告する。

2. 内容

生命化学実験の実験内容は、以下の3テーマである。

① イオン性高分子吸着剤の調製

セルロースは、タンパク質および核酸等の生体関連物質の分離・精製を目的としたクロマトグラフィー用の担体として幅広く利用され、商業化されている。本実験では、セルロース繊維（Celish ろか名人[®], マイクロフィブリル型, 繊維幅1-10 μ m, 株式会社ダイセルファインケム製）（Fig. 1）表面に、アミノ基（カチオン基）、あるいはカルボキシル基（アニオン基）を化学修飾する。

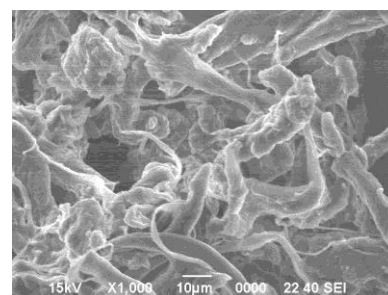


Fig. 1 セルロース繊維のSEM画像

② カチオン性およびアニオン性高分子吸着剤の化学特性評価

高分子における化学構造の定性、あるいは官能基の定量には、元素分析、NMR測定、IR測定および末端官能基滴定法など、様々な定性・定量法がある。本実験では、IR測定およびpH滴定法を用いた末端官能基定量法により、調製したイオン性セルロース繊維の化学構造の確認および官能基含有量を定量する。

③ カチオン性およびアニオン性吸着剤の生体関連物質に対する吸着・分離特性

近年、種々のタンパク質およびDNAは、新規な治療薬に応用され、医療用薬品として必需品となっている。血液や細胞破碎溶液などからのタンパク質およびDNAの分離・精製法の1つとして、クロマトグラフィー法が幅広く利用されている。本実験では、バッチ法を用いて、イオン性セルロース吸着剤の生体関連物質（リゾチームおよびDNA）に対する吸着・分離特性について検討する。

3. 結果と考察

Table 1 に各班が実施したイオン性セルロース吸着剤の化学特性評価（有機微量元素分析値および pH 滴定法を用いた末端官能基定量値）とリゾチームおよび DNA に対する吸着量を示す。結果として、次のことが明らかになった。(1) 各班同様の実験操作をすることにより、再現性の高い同様なイオン性高分子吸着剤が調製できた。(2) 有機微量元素分析値から算出した官能基量において、各班同様の結果が得られているにもかかわらず、pH 滴定法を用いた末端官能基定量法の結果およびリゾチームおよび DNA に対する吸着量は、各班によってそれぞれ異なる結果となった。これらの結果が得られた要因として、次のことが考えられる。「イオン性高分子吸着剤の調製」においては、三角フラスコ（100 mL、あるいは 200 mL）といった比較的に大容量な実験器具を取り扱う。一方、「カチオン性およびアニオン性高分子吸着剤の化学特性評価」および「カチオン性およびアニオン性吸着剤の生体関連物質に対する吸着・分離特性」では、ビュレット、ホールピペット、あるいはメスピペットといった低容量・定容系の精密な実験器具を取り扱う。そのため、低容量・定容系の精密な実験器具を取り扱う学生の技術・経験が未熟なため、各班によってそれぞれ異なる結果が得られたと考えられる。

Table 1 イオン性高分子吸着剤の化学特性評価と生体関連物質吸着能の関連性

吸着剤	班	有機微量元素分析				pH滴定法	吸着率 [%]	
		H [%]	C [%]	N [%]	官能基量 [mmol g ⁻¹]	官能基量 [mmol g ⁻¹]	リゾチーム	DNA
カチオン性 セルロース 繊維	1	6.60	42.30	0.79	0.29	0.34	17.0	82.3
	3	6.69	42.10	1.01	0.38	0.58	11.7	95.6
	5	6.71	42.27	1.07	0.40	0.28	10.4	94.7
	7	6.74	42.29	1.01	0.38	0.72	<1.0	91.8
	9	6.65	42.20	0.99	0.37	0.54	2.9	95.0
	11	6.65	42.25	1.11	0.42	0.53	3.4	93.7
	13	6.70	42.21	0.95	0.35	0.58	9.9	94.2
アニオン性 セルロース 繊維	2	6.57	42.17	0.30	0.45	0.56	13.9	<1.0
	4	6.74	42.42	0.32	0.47	0.82	17.3	1.9
	6	6.57	42.20	0.29	0.43	1.14	21.3	1.8
	8	6.54	41.85	0.33	0.49	0.33	5.8	2.2
	10	6.47	41.88	0.29	0.44	0.54	30.6	3.9
	12	6.58	42.19	0.28	0.42	0.73	10.9	2.0
	14	6.55	41.98	0.26	0.39	0.58	17.6	7.4

6. まとめ

有機微量元素分析装置を用いて、筆者らが担当する「生命化学実験」にて調製したイオン性高分子吸着剤の化学特性評価と生体関連物質に対する吸着能との関連性を詳細に検討した。結果として、本学生実験では再現性の高い同様なイオン性高分子吸着剤が調製できているにもかかわらず、ビュレット、ホールピペット、あるいはメスピペットといった低容量・定容系の精密な実験器具を取り扱う学生の技術・経験が未熟なため、pH 滴定法を用いた末端官能基定量法の結果およびリゾチームおよび DNA に対する吸着量において、各班それぞれ異なる結果が得られた。

これらの結果より、学生実験にて調製した試料を技術職員がさらに測定・分析を実施することで、得られた結果を詳細に検討することができた。また、今後の学生実験におけるより具体的な教育・指導に大きく繋がることが明らかとなった。