

B102

キレート指示薬を用いた金属アフィニティーに基づく
生体分子の水性二相抽出

(宮崎大工) ○(学)甲斐 千夏・(正)大島 達也*・(正)馬場 由成

【1.緒言】

水性二相抽出系は両相ともに水相で、細胞内に類似した疎水性環境を形成し、不安定で失活しやすい生体分子においても安定化できるといった点で生体分子の分離系として優れている。

遷移金属イオンと金属配位性の生体分子との親和性に基づく固定化金属アフィニティーは高選択性の水性二相抽出分離系を構築するために有望であると期待される。本研究では、ポリマー/塩から構成される水性二相系に金属キレートとして Alizarin complexone (L1 と略記, Fig.1) をはじめとしたキレート指示薬および遷移金属イオンを添加した系におけるアミノ酸等の分配特性を評価し、分配に影響する支配因子を明らかにすることを目的とした。

【2.実験】

分配実験はすべてバッチ法により行った。所定濃度のアミノ酸、リガンド、Cu(II)を含む水溶液を調製し、HEPES、HCl および NaOH により pH を調整した。この水溶液と Polyethyleneglycol(PEG, Mw: 8000)水溶液および Li₂SO₄ を遠沈管で混合した。系全体を 8 cm³ とし、PEG 濃度 10wt%、Li₂SO₄ 濃度 11 wt% とした。Voltex mixer にて 30 分間程度激しく攪拌後、遠心分離(6000 rpm、3min)によって二相に分離した。上相および下相を分取し、アミノ酸自動分析計、原子吸光光度計(Perkin Elmer AAnalyst 100)でアミノ酸および Cu(II)濃度を定量し、アミノ酸濃度の抽出率を濃度・体積より算出した。

【3.結果と考察】

Fig.2 に PEG/ Li₂SO₄ 水性二相系における各種リガンドによる Cu(II) の抽出挙動を示す。イミノ二酢酸基を有する各種リガンドのうち、ベンゼン環等を有し疎水性の大きい BAPTA、XO や L1 の濃度を増加させると、Cu(II) の抽出率が増加した。すなわち、リガンド・Cu(II) 錯体が上相に分配するには、ある程度疎水性の高さが重要であると考えられる。

Fig.3 に L1 および Cu(II) 存在・非存在下における His 抽出の pH 依存性を示す。L1 または Cu(II) が存在しない条件では His はほとんど上相に分配しなかった。これに対して L1、Cu(II) 存在下では、

pH が中性付近から高 pH 領域にかけて His の抽出率が増加した。His は AH 型で存在していることから His は静電的相互作用ではなく Cu(II) と配位結合に基づいて抽出されていることが示された。

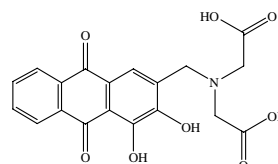
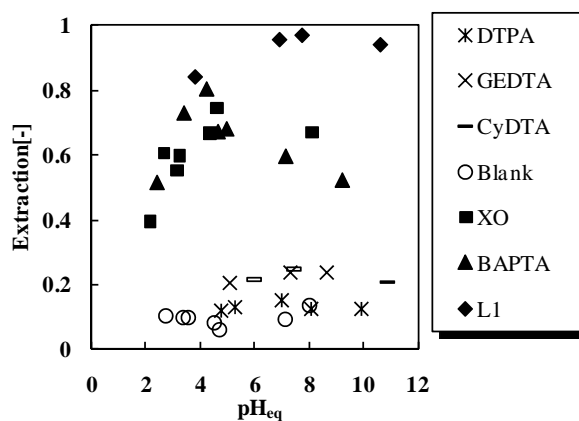
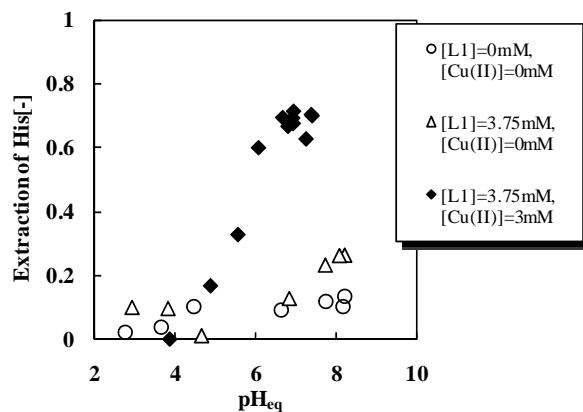


Fig.1 Chemical structure of L1.

Fig.2 Dependence of pH on extraction of Cu(II) in PEG/Li₂SO₄ system. [His]_{ini} = 0.1 mM, [ligand]_{ini} = 3.75 mM, [Cu(II)]_{ini} = 0.3 mM, [Li₂SO₄]_{ini} = 11 wt%, [PEG]_{ini} = 10 wt%.Fig.3 Dependence of pH on extraction of His in PEG/Li₂SO₄ system. [His]_{ini} = 0.1 mM, [ligand]_{ini} = 0 or 3.75 mM, [Cu(II)]_{ini} = 0 or 3 mM, [Li₂SO₄]_{ini} = 11 wt%, [PEG]_{ini} = 10 wt%.

* e-mail: oshimat@cc.miyazaki-u.ac.jp