

B203

水分散性リグノフェノールによるタンパク質吸着

(三重大院生資) ○ (正) 野中 寛*・(三重大生資) 花本和奏・(三重大院生資) (正) 船岡正光

[1] 緒言

リグノフェノールとは、原料に木材などのリグノセルロース、副原料としてフェノール誘導体を用いて、相分離系変換システムによりえられる、リグニン由来の機能性芳香族系高分子である。リグノフェノールは、アセトンなどの有機溶媒に可溶であることが特徴だが、リグニンは土壤中における吸着現象を担う物質であり、酵素の固定化担体や金属イオンの吸着など、水系溶媒中での利用においても優れた性能を示す。リグノフェノールは、原料とするリグニンの種類 (植物種)、副原料のフェノール誘導体、精製溶媒の選択、各種の分子修飾反応、機能変換反応により、分子内の官能基、疎水・親水性、分子量、リニア性、凝集構造などの制御が可能である。これらの優れた特性は、クラフト蒸解の副産物であるクラフトリグニン、木材糖化のための酸加水分解で排出される加水分解リグニンなど、従来法により単離されるリグニンにはないもので、リグノフェノールのみがテーラーメイド系バイオ担体としての可能性を有する。

リグノフェノールは、他のリグニンに比べて 5~10 倍の高いタンパク質吸着能を示す。副原料のフェノール誘導体が導入されているので、フェノール性水酸基量が多く、水中での分散性がよいことが理由の一つとして挙げられているが、分子構造と水中における分散性、さらにはタンパク質吸着能との関係性は未だ明らかではない。そこで本研究では、分子集合体であるリグノフェノールから水分散性のよい画分の取得を試み、その物性とタンパク質吸着特性を検討することにより、バイオ担体設計の指針をえることを目的とする。

[2] 実験

リグノフェノールとして、ヒノキ (*Chamaecyparis obtusa*) のアルコール・ベンゼン脱脂木粉 (60 mesh pass) と *p*-クレゾールを用いて、相分離系変換システム 2 step process II により、リグノ-*p*-クレゾールを合成した。リグノ-*p*-クレゾール 0.2 g を蒸留水 20 mL に超音波分散後、遠心分離 (3500 rpm) を行ったとき上澄み液に分散した画分を「水分散性リグノフェノール」とし、凍結乾燥により取得した。沈降した画分を「水沈降性リグノフェノール」として、乾燥により取得した。タンパク質の吸着試験には BSA を用いた。1.5 mL マイクロチューブ中にて、リグノフェノール 5 mg を 0.1 M 酢酸緩衝液 1 mL に十分に分散させる。所定濃度の BSA 溶液 0.5 mL を加え、常温にて 20 分間溶液を攪拌し吸着させたのち遠心分離し、上清に残存する

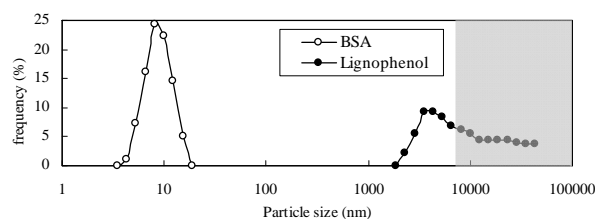


Fig. 1 Particle size distributions of BSA and ligno-*p*-cresol in acetate buffer. (1 mg/mL, pH=5)

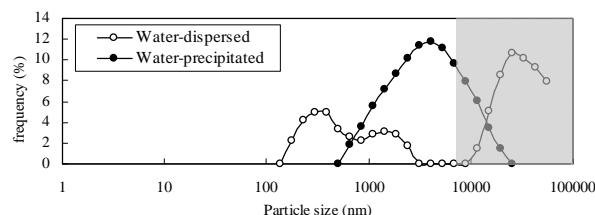


Fig. 2 Particle size distributions of water-dispersed and water-precipitated fractions of ligno-*p*-cresol in acetate buffer. (1 mg/mL, pH=5)

BSA を Bradford 法により定量することにより、BSA 吸着量を算出した。粒径測定は、粒径測定システム ELSZ-2 (大塚電子, 測定範囲 0.6~7000 nm) によった。

[3] 結果と考察

BSA, リグノフェノールの粒径は、前者が約 10 nm, 後者は 2 μ m 以上で幅広い分布を示した (Fig. 1)。測定セル中で試料沈降が認められたため、超音波による分散直後の測定データを採用した。水中においてタンパク質の 100 倍以上のサイズの凝集塊を形成していることが明らかになり、微粒子化による吸着量増大が期待された。水分散性リグノフェノールは 150~2000 nm の粒径を示しナノオーダーのリグノフェノール取得に成功した。一方、水沈降性リグノフェノールの平均粒径は 5 μ m であった (Fig. 2) が、両者に分子量分布の違いはなく、全く同じ分子集合体が、凝集により異なるサイズの粒子を形成していることが示唆された。しかし、BSA 吸着量はいずれも約 50 mg/(g-担体) であり、その原因として、①水分散性リグノフェノールナノ粒子の再凝集による大粒子形成 (Fig. 2) で、総表面積は増加していない ②タンパク質が担体表面に吸着するのではなく、リグノフェノール内部包括型である、のいずれかを考えている。②の可能性を検証するため凝集構造の制御も検討中である。

[4] 謝辞 粒径分布測定に協力してくださった (株) 大塚電子の皆様には謝意を表します。本研究は、文科省科研費 (若手B, 20710059) の助成によった。

*Tel: 059-231-9520, Email: nonaka@bio.mie-u.ac.jp