

B203

生分解性高分子界面活性剤を用いた有機溶媒中への DNA 抽出

(岡山大院環)○(学)岸 佑磨・(正)小野 努*・(正)木村 幸敬

1. 緒言

近年、細胞内に遺伝子を導入して病気の源となる遺伝子の発現を抑えることで疾患を治療する遺伝子治療の研究が活発に行われている。遺伝子治療では、遺伝子 (DNA) を保護し、細胞内へと送達する安全な人工ベクター (vector) の開発が成功の鍵を握っている。

高分子や界面活性剤を用いた DNA の複合化が盛んに研究されており、本研究質では、DNA の逆ミセル抽出^[1]を利用した高効率な DNA 複合法の開発を目指している。しかしながら、従来用いられている DNA 抽出剤は生態適合性が低いため、本研究では DNA 抽出が可能な生態適合性の高い界面活性剤の開発を目的としている。

そこで我々は、生分解性高分子であり、側鎖への機能性付与が容易なポリアスパラギン酸 (PAsp) に着目した。本研究ではカチオン性 PAsp 誘導体の合成を行い、DNA の抽出および有機溶媒中での会合挙動の評価について報告する。

2. 実験

まず、L-アスパラギン酸を熱重縮合することによりポリコハク酸イミド ($M_w = 9.1 \times 10^3$: PSt standard) を合成した。次いで、その側鎖に *N,N*-ジメチル-1,3-プロパンジアミン (DMPA) を約 30%、残りの側鎖部分(約 70%) にオレイルアミン (OA) を導入した PAsp 誘導体 (DMPA-OA-PAsp) の合成を行った。さらに、DMPA-OA-PAsp とヨードメタンを反応させ、DMPA のアミノ基を4級アミン化したTMPA-OA-PAsp (Figure 1) の合成を行った。

合成を行った TMPA-OA-PAsp をヘキサン/1-ブタノール (19:1, v/v) の混合溶媒に 1 w/v% になるように溶解させ、10 mg/mL DNA 水溶液と混合した。混合した溶液は、300 rpm で4時間振盪させ、振盪後分離している上下の2層をそれぞれ分取した。分取した溶液のうち下層の水溶液は、吸光度測定を行い DNA 抽出の可否を確認した。油相側の溶液については、動的光散乱法を用いた粒径測定およびカールフィッシャー水分計による水分量測定を行った。

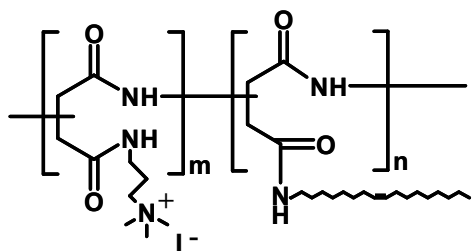


Figure 1. Structure of TMPA-OA-PAsp.

3. 実験結果および考察

DNA 抽出操作前後での水溶液の吸光度を測定した結果、吸光スペクトルには変化が見られなかった。このため、合成した TMPA-OA-PAsp では、DNA 抽出を行っていないことがわかった。これは、DNA の抽出に必要なカチオン性の不足のほか、TMPA-OA-PAsp の立体構造が DNA との相互作用を阻害していることが原因として考えられる。

Figure 2 には、油相の粒径測定結果を示した。抽出操作前は、約 10 nm の粒径をもつ会合体が形成されており、抽出操作後には粒径が約 30 nm に増加することが明らかとなった。この粒径の増加は、油中に水分を取り込んだことにより、大きな逆ミセルを形成したためだと考えられる。

実際に、抽出操作前後での油相中の水分量測定を行った結果、抽出前の水分量が 2.7 mg/mL であったのに対し、抽出後の水分量は 34.6 mg/mL となった。つまり、抽出操作を行うことで約 30 mg/mL の水を油中に抽出していることがわかった。TMPA-OA-PAsp は、疎水部だけではなく、親水部も備えた両親媒性の高分子界面活性剤であるため、このように多くの水を油中に抽出できたと考えられる。

これらのことから、TMPA-OA-PAsp は振盪操作によって油相中に水を取り込むことが可能な高分子逆ミセルを形成していることが示唆された。

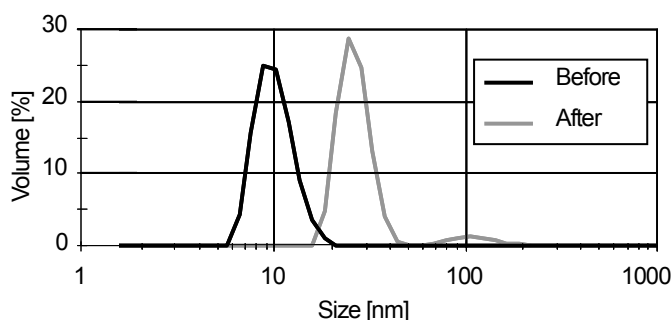


Figure 2. Size distribution of reverse micelles of before and after extraction.

参考文献

[1] M. Goto et al., *J. Chem. Eng. Jap.*, **32**, 123 (1999)

* TEL&FAX: 086-251-8908

e-mail: tonos@cc.okayama-u.ac.jp