

23R-pm03

酵素固定化担体への展開を指向したセルロースナノファイバーの表面機能化

○笹井 泰志¹, 南田 陽日¹, 土井 直樹¹, 山内 行玄², 葛谷 昌之³, 近藤 伸一¹ (¹岐阜薬大, ²松山大薬, ³中部学院大)

【目的】セルロースナノファイバー (CNF) は、高い安定性や大きな比表面積を持ち、酵素固定化担体として有用性の高い材料である。一方、バイオ領域での応用を考えたとき、その表面へのタンパク質など各種生体成分の非特異的吸着が問題となる。本研究では、迅速タンパク質消化システム開発の基盤研究として、タンパク質分解酵素であるトリプシンの固定化担体として CNF を利用すべく、タンパク質吸着抑制効果が知られているカルボキシベタイン系高分子 (pCB) による CNF の表面修飾と pCB を介したトリプシンの固定化について検討した。

【方法】CNF は窒素環境下にて高速振動ボールミル処理し、機械的エネルギーにより惹起される化学結合の切断に伴うメカノラジカルを発生させた。その後、粉碎試料をカルボキシベタインモノマー溶液中にて所定時間攪拌し、セルロースのメカノラジカルを開始剤とするフリーラジカル重合により CNF 表面に pCB を伸長させた。pCB のカルボキシル基とトリプシンのアミノ基との縮合反応により、pCB 修飾 CNF (pCB-CNF) にトリプシンを固定化した。

【結果および考察】FT-IR 測定により CNF 表面における pCB 鎖の伸長を確認した。得られた pCB-CNF では、ウシ血清由来のタンパク質の吸着が強く抑制され、CNF 表面全体が pCB グラフト鎖によって覆われていることが示唆された。pCB のカルボキシル基を介して pCB-CNF 表面に固定化されたトリプシンは、37 °C、pH 8.0 のリン酸緩衝液中において、24 時間後も約 75% の活性を保持しており、高い安定性を示した。これは、固定化によりトリプシンの自己消化が抑制されたことに起因するものと考えられる。本発表では、トリプシン固定化 pCB-CNF を用いたタンパク質試料の消化処理に関する結果についても報告する。