

## タンパク質吸着特性に及ぼす HAp 熟成時間の影響

(中部大学<sup>1</sup>, 産総研<sup>2</sup>) ○長寄稔生<sup>1,2</sup>, 永田夫久江<sup>2</sup>, 櫻井誠<sup>1</sup>, 加藤且也<sup>2</sup>

### 【諸言】

水酸アパタイト( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ; HAp)は、タンパク質を分離精製する担体として広く知られている。HApは六方晶であり、a面には酸性タンパク質、c面には塩基性タンパク質をそれぞれ特異的に吸着すると理論上考えられているが、吸着特性に関する多くの報告は結論が一致せず、その吸着機構には未だ議論がある。これは、基本構造がHApであっても合成条件によってその表面特性が大きく変化するHAp特有の性質が要因と考えられる。そこで本研究では、HAp結晶界面がより安定になる条件を探索するため、熟成時間を変化させてHApを合成し、それらのタンパク質吸着挙動について評価した。

### 【実験方法】

リン酸水素二アンモニウム水溶液(50 mM, 200 mL)と酢酸カルシウム水溶液(30 mM, 300 mL)を混合し、60°Cまで昇温した後、それぞれ1、3、5、24時間熟成させた。熟成後、ろ過洗浄、乾燥しHAp粒子を得た。タンパク質吸着実験には、酸性タンパク質(Bovine Serum Albumine; BSA)と塩基性タンパク質(Lysozyme; LSZ)を用いた。それぞれのタンパク質溶液とHAp粒子を混合し吸着させた後、遠心分離を行い、吸着量をBradford法により測定した。

### 【結果と考察】

タンパク質吸着の結果はBSAの吸着量がLSZの吸着量より多いことを示していた(Fig.1)。本研究で得られたHAp粒子の形態は、約200 nm×50 nmの柱状であり、HApはc軸方向に成長しやすい特徴を持つことから、より広い面が表れているa面に酸性タンパク質であるBSAが吸着したと考えられる。熟成時間によるBSA吸着量の推移は、熟成時間5hまでは吸着量が減少することを示した。HAp粒子の比表面積は熟成時間5hまで上昇を示し(Fig.2)、これは新たな結晶核の生成を示唆するものである。これらの結果から、熟成時間5hまでは新たな結晶核が生成するが、新たに生成した小さな結晶核にはBSAが吸着しにくいと推察された。熟成時間24hでは、比表面積は低下を示し結晶核が成長したと考えられ、その時のBSA吸着量は増大した。このように、熟成時間24hまでにHAp結晶界面は大きな変化を示し、HAp合成時の熟成時間はタンパク質吸着挙動に大きく影響を及ぼすことを明らかにした。

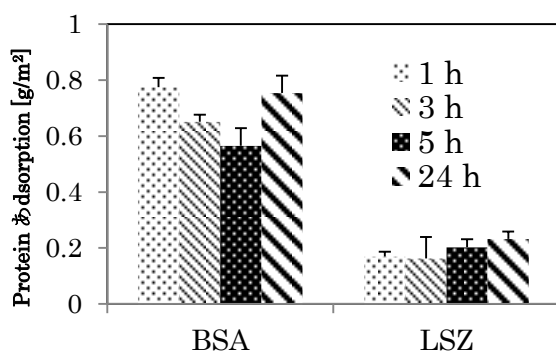


Fig.1 . Protein adsorption on HAp

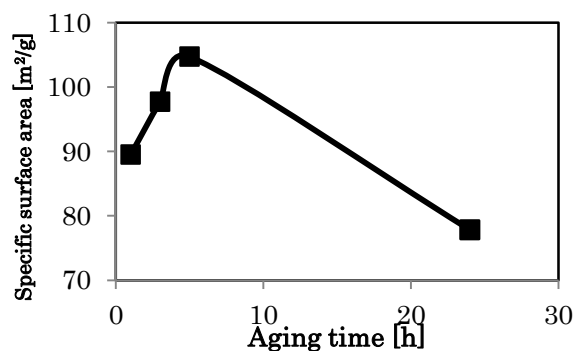


Fig.2. Specific surface area of HAp