放射線前照射乳化グラフト重合法を適用した タンパク質を高容量に吸着するためのカチオン交換繊維の作製[†]

松崎 優香・工藤 大樹・小島 隆・河合（野間） 繁子・梅野 太輔・斎藤 恭一^{††}

千葉大学大学院工学研究科, 〒263-8522 千葉市稲毛区弥生町1-33

キーワード：放射線前照射乳化グラフト重合法, 6-ナイロン製繊維, タンパク質吸着, スルホン酸基, 動的吸着容量

タンパク質を高容量に吸着するカチオン交換繊維をグラフト重合によって作製するために, モノマー液に溶液とエマルションを使う2種類のグラフト重合法, すなわち放射線前照射溶液および乳化グラフト重合法（以後, 溶液および乳化グラフト重合法）を採用し, 比較した. 市販の6-ナイロン製繊維ヘグリシジルメタクリレート（GMA）をグラフト重合後, 亜硫酸ナトリウムとの反応によってポリGMA鎖のエポキシ基をスルホン酸基へ転化し, カチオン交換繊維を作製した. 得られた2種類のカチオン交換繊維を充填したカラムに, リゾチーム溶液（pH 9.0）を空間速度 60 h^{-1} で流通させた. GMA グラフト率が81–87%のとき, 乳化グラフト重合法によって作製した繊維のカラム体積あたりの10%動的吸着容量は, 溶液グラフト重合法によって作製したそれよりも4倍高い値を示した. 乳化グラフト重合法によって作製した繊維の周縁部に形成されたグラフト鎖が, タンパク質の高速吸着に寄与すると推察される.

緒 言

ガンや自己免疫疾患の治療薬として, 抗体の開発が盛んに行われている（Bossaller and Rothe, 2013; Feldmann, 2002; Li and Zhu, 2010; Scott *et al.*, 2012）. 抗体のダウストリーム精製工程では, 多孔性ビーズを充填したカラムを用いて, イオン交換クロマトグラフィーを含む, 複数のクロマトグラフィーが採用されている. タンパク質は, 濃度勾配を駆動力とする拡散によって, ビーズ内部に固定されたイオン交換基またはリガンドまで移動し捕捉される. そのため, 多孔性ビーズ充填カラムへ流通させるタンパク質溶液の流量は, タンパク質のビーズ内部への拡散物質移動速度によって制限されるという欠点がある（Gagnon, 2012）.

Sekiya *et al.* (2010) および Shimoda *et al.* (2013) は, モノマーが溶媒に均一に溶解したモノマー液を用いる放射線前照射溶液グラフト重合法（以後, 溶液グラフト重合法）を適用し, イオン交換基を有する高分子鎖をポリエチレン製粒子に接ぎ木（グラフト）して, タンパク質がイオン交換基まで拡散移動する距離を短縮させたイオン交換粒子を作製した. イオン交換粒子は, タンパク質の動的吸着容量の流量依存性がないという利点がある一方で, 吸着容量が小さいという欠点があった. これは, 溶液グラフト重合法を適用した場合, グラフト鎖のうち, タンパク質の吸着に利用される基材表面に出ている部分（ポリマーブラシ）の形成割合が小さいからである. 溶液グラフト重合法によって得られるポリマーブラシの形成割合は, ポリエチレン製多孔性シートを基

材に用いた場合, 10%前後である（Ishihara *et al.*, 2013; Uchiyama *et al.*, 2013）. 吸着容量を増大させるためには, ポリマーブラシの形成割合を大きくできる重合法の検討が望まれている.

本研究では, ポリマーブラシの形成割合を大きくできる重合法として, 放射線前照射乳化グラフト重合法（以後, 乳化グラフト重合法）を提案する. 乳化グラフト重合法とは, モノマーを界面活性剤含有分散媒に乳化させたモノマー液を用いる重合法であり, 水に難溶性のモノマーのグラフト重合を有機溶媒を使用せずに水で行うことができる（Seko *et al.*, 2007, 2010）. 乳化グラフト重合法では, モノマーがミセル内部に高濃度で存在する. そのため, モノマーを含むミセルが基材上のラジカルに衝突すると, グラフト重合時のモノマー濃度は, 溶液グラフト重合法のそれよりも高くなる. グラフト重合時のモノマー濃度が高いと, 重合速度が速くなり, ミセル内のモノマーが基材内部へ侵入するよりも先に基材表面で重合が進行し, ポリマーブラシの形成割合を大きくできると考えた.

本研究の目的は, つぎの2点である. (1) 乳化グラフト重合法を適用して, 6-ナイロン製繊維にグラフト鎖を付与し, そこにカチオン交換基を導入して, カチオン交換繊維を作製すること, および (2) タンパク質の吸着容量について, 乳化グラフト重合法によって作製したカチオン交換繊維と, 従来の溶液グラフト重合法によって作製したカチオン交換繊維とを比較することである. カチオン交換繊維へ吸着させるモデルタンパク質としてリゾチームを選択した.

1. 実験方法

1.1 基材と試薬

グラフト重合法での基材として, 6-ナイロン製繊維（以

[†] 2016年11月7日受理, 2017年1月10日掲載決定

DOI: 10.1252/kakoronbunshu.43.88

^{††} marukyo@faculty.chiba-u.jp

Fig. 1 Preparation scheme of fiber containing sulfonic acid group

後, nylon fiberと略記, 東レ(株)製)を使用した。ビニルモノマーとして, グリシジルメタクリレート (glycidyl methacrylate (GMA), $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)\text{COOCH}_2\text{CH}(\text{OCH}_2)_2$) をナカライテスク(株)から購入し, そのまま使用した。亜硫酸ナトリウム (Na_2SO_3) および亜硫酸水素ナトリウム (NaHSO_3) をナカライテスク(株)から購入した。モノラウリン酸ポリオキシエチレンソルビタン (Tween-20, 以後, TW-20と略記) を関東化学(株)から購入した。硫酸銅 (II) 五水和物をナカライテスク(株)から購入し, 50mM酢酸緩衝液 ($\text{CH}_3\text{COOH}-\text{CH}_3\text{COONa}$, pH 5.1) に溶かして 20mM硫酸銅 (II) 溶液を調製した。リゾチーム (等電点11.35) をSigma-Aldrichから購入し, 10mM炭酸緩衝液 ($\text{NaHCO}_3-\text{NaOH}$, pH 9.0) に溶かして 1g/Lリゾチーム溶液を調製した。

1.2 カチオン交換繊維の作製

カチオン交換繊維の作製経路を Figure 1 に示す。作製は3つの工程から成る。まず, 基材である nylon fiber 約 1g (約 40m) に 100kGy の電子線を照射し, ラジカルを発生させた。つぎに, その nylon fiber を 5v/v% GMA モノマー液に 40°C, 100rpm で所定時間浸漬振とうし, 乳化または溶液グラフト重合を行った。このとき, 乳化グラフト重合に用いたモノマー液は, 組成が GMA/TW-20/ H_2O =5/0.5/94.5 v/v/v% になるように, TW-20 水溶液に GMA を添加して調製した。一方, 溶液グラフト重合に用いたモノマー液は, 組成が GMA/ CH_3OH =5/95 v/v% になるように調製した。グラフト重合にともなう重量増加率をグラフト率として Eq. (1) から算出した。

$$\text{グラフト率, dg [\%]} = 100(W_1 - W_0)/W_0 \quad (1)$$

ここで, W_0 および W_1 は, それぞれ nylon fiber およびグラフト重合後の繊維の重量 [g] である。乳化および溶液グラフト重合法によって得られた繊維をそれぞれ emu- および sol-GMA (dg) fiber と呼ぶ。ここで, emu および sol は, それぞれ乳化 (emulsion) および溶液 (solution) グラフト重合法を表す。dg はグラフト率を表す。

さらに, emu- および sol-GMA (dg) fiber のグラフト鎖中のエポキシ基をスルホン酸基 (以後, SA 基と略記) へ転化するために, emu- および sol-GMA (dg) fiber を $\text{Na}_2\text{SO}_3/\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3/\text{H}_2\text{O}=10/15/75 \text{ w/w/w\%}$ 溶液 または $\text{Na}_2\text{SO}_3/\text{NaHSO}_3/\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3/\text{H}_2\text{O}=8/4/12/76 \text{ w/w/w/w\%}$ 溶液 に 80°C で 30–72h 浸漬した。エポキシ基から SA 基へのモル転化率を Eq. (2) から算出した。また, 重量増加から SA 基物質量を算出し, SA 基導入後の繊維 (SA fiber) 重量あたりおよび nylon fiber 重量あたりの SA 基密度を, それぞれ Eqs. (3) および (4) から算出した。emu- および sol-GMA (dg) fiber へ SA 基を導入して得られた繊維を, それぞれ emu- および sol-SA (dg, x) fiber と呼ぶ。ここで, x は Eq. (3) によって算出された SA 基密度を表す。emu-

Fig. 2 Experimental apparatus for evaluating binding capacity of SA fiber

および sol-SA (dg, x) fiber の中性塩分解容量を中和滴定によって定量し, その滴定値から SA 基密度を算出した。

$$\begin{aligned} \text{エポキシ基から SA 基へのモル転化率 [\%]} \\ = 100[(W_2 - W_1)/104]/[(W_1 - W_0)/142] \end{aligned} \quad (2)$$

$$\begin{aligned} \text{重量増加から算出した SA fiber 重量あたりの SA 基密度,} \\ x [\text{mmol/g-SA fiber}] = 1000[(W_2 - W_1)/104]/W_2 \end{aligned} \quad (3)$$

$$\begin{aligned} \text{重量増加から算出した nylon fiber 重量あたりの SA 基密度} \\ [\text{mmol/g-nylon fiber}] = 1000[(W_2 - W_1)/104]/W_0 \end{aligned} \quad (4)$$

ここで, W_2 は SA 基導入後 SA 基を Na 型にしたときの繊維重量 [g] である。104 および 142 は, それぞれ NaHSO_3 および GMA の分子量である。

1.3 繊維断面方向の硫黄および銅の元素分布の観察

乳化および溶液グラフト重合法によって作製した emu-SA (81, 2.3) および sol-SA (87, 2.3) fiber の繊維断面方向の硫黄の元素分布を, 走査電子顕微鏡-エネルギー分散型 X 線分析装置 (SEM-EDS, 日本電子(株)JSM-6510A) を用いて調べた。また, SA 基に銅 (II) イオンを飽和するまで吸着させ, 銅の元素分布も同様に調べた。加速電圧を 15kV とした。

1.4 カチオン交換繊維への銅 (II) イオンおよびリゾチームの吸着

乳化および溶液グラフト重合法によって作製した emu- および sol-SA (dg, x) fiber への銅 (II) イオンおよびリゾチームの 10% および 90% 動的吸着容量を測定するための実験装置を Figure 2 に示す。emu- または sol-SA (dg, x) fiber 約 0.1g を約 1cm の長さに裁断し, 直径 0.55cm のカラムへ充填した。このとき, カラム体積あたりの emu- または sol-SA (dg, x) fiber の重量 (充填密度) を, それぞれ 0.35 または 0.25 g/mL-column になるようにした。つぎに, このカラムに硫酸銅 (II) またはリゾチーム溶液を室温で一定流量で流通させ, emu- および sol-SA (dg, x) fiber へ銅 (II) イオンおよびリゾチームを吸着させた。銅 (II) イオンの吸着では,

Fig. 3 Degree of GMA grafting vs. reaction time

50mM酢酸緩衝液 (pH 5.1) および 20mM 硫酸銅(II) 溶液 (pH 5.1) を順に流通させた。ここで、pHを酸性側にしたのは、水酸化銅(II) の生成を防ぐためである。一方、リゾチームの吸着では、10mM炭酸緩衝液 (pH 9.0) および 1g/L リゾチーム溶液 (pH 9.0) を順に流通させた。カラム下端から流出した液を連続的に採取し、各フラクションの硫酸銅(II) またはリゾチームを、それぞれ 800 および 280 nm の吸光度を測定して定量した。得られた破過曲線から、emu-および sol-SA (dg, x) fiber 重量あたりの銅(II) イオンまたはリゾチームの 10%, 90% 動的吸着容量、および捕捉効率を、それぞれ Eqs. (5), (6) および (7) から算出した。

$$10\% \text{ 動的吸着容量 [mmol/g-SA fiber or mg/g-SA fiber]} \\ = \int_0^{V_1} (C_0 - C) dV / W_2 \quad (5)$$

$$90\% \text{ 動的吸着容量 [mmol/g-SA fiber or mg/g-SA fiber]} \\ = \int_0^{V_2} (C_0 - C) dV / W_2 \quad (6)$$

$$\text{捕捉効率 [\%]} \\ = 100(10\% \text{ 動的吸着容量}) / (90\% \text{ 動的吸着容量}) \quad (7)$$

ここで、 C_0 および C は、それぞれ供給液および流出液の硫酸銅(II) またはリゾチーム濃度 [M または g/L] である。また、 V , V_1 , および V_2 は、それぞれ流出量 [mL], $C=0.1C_0$ に達するまでの流出量 [mL], および $C=0.9C_0$ に達するまでの流出量 [mL] である。また、空間速度を Eq. (8) によって定義し、 60 h^{-1} に設定した。

$$\text{空間速度 [h}^{-1}\text{]} = Q / V_c \quad (8)$$

ここで、 Q および V_c は、それぞれ流量 [mL/h] およびカラム体積 [mL] である。

2. 実験結果および考察

2.1 グラフト率の経時変化および SA 基密度のグラフト率依存性

nylon fiber への GMA の乳化および溶液グラフト重合でのグラフト率の経時変化を Figure 3 に示す。乳化および溶液グラフト重合法によって得られるグラフト率の経時変化は、ほぼ一致した。最終グラフト率は、両者ともに約 300% であった。

Fig. 4 Molar conversion of epoxy group into SA group and SA group density

Fig. 5 SA group density determined by titration vs. SA group density calculated from weight gain

グラフト率を 15–300% の範囲で変えて作製した emu-および sol-GMA (dg) fiber を $\text{Na}_2\text{SO}_3/\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3/\text{H}_2\text{O}=10/15/75 \text{ w/w\%}$ 溶液に浸漬して SA 基を導入したときのモル転化率および SA 基密度のグラフト率依存性を Figure 4 に示す。モル転化率は平均で 72% であり、nylon fiber 重量あたりの SA 基密度は、グラフト率の増大に比例して増大した。タンパク質の吸着にはこれらのカチオン繊維を使用した。繊維断面方向の元素分析の観察に使用するカチオン交換繊維には、SA 基を導入するために反応液として $\text{Na}_2\text{SO}_3/\text{NaHSO}_3/\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3/\text{H}_2\text{O}=8/4/12/76 \text{ w/w\%}$ 溶液を用いた。得られた繊維のモル転化率は、平均で 95% であった。

中性塩分解容量測定の滴定値から算出した SA 基密度と、重量増加から算出した SA 基密度との関係を Figure 5 に示す。両者はほぼ一致した。したがって、エポキシ基を SA 基に転化するときの副反応は無視できることがわかった。

2.2 繊維断面方向の硫黄および銅の元素分布の観察

乳化および溶液グラフト重合法によって作製した emu-SA (81, 2.3) および sol-SA (87, 2.3) fiber における断面方向の硫黄および

Fig. 6 Distributions of S and Cu across fibers

Fig. 7 Breakthrough curves of SA fibers for copper(II) ion vs. lysozyme

Table 1 Binding capacity of fiber containing SA groups for copper(II) ion and lysozyme

	Copper(II) ion			Lysozyme		
	10% Dynamic binding capacity [mmol/g-SA fiber]	90% Dynamic binding capacity [mmol/g-SA fiber]	Capture efficiency [%]	10% Dynamic binding capacity [mg/g-SA fiber]	90% Dynamic binding capacity [mg/g-SA fiber]	Capture efficiency [%]
emu-SA (81, 1.8) fiber	0.95	1.0	95	71	130	55
sol-SA (87, 1.9) fiber	0.91	1.0	91	18	55	33

銅の分布を **Figure 6** に示す。上段から、繊維断面方向のSEM像、EDSによる硫黄および銅の元素分析結果である。なお、EDSによる面分析結果にひかれた横線は、線分析における測定箇所を示す。基材に用いた nylon fiber の断面の形状は、直径 $34\mu\text{m}$ のほぼ円形であった。

emu-SA (81, 2.3) fiber は、nylon fiber と同じ直径の繊維の周縁部に $10\mu\text{m}$ 程度の大きさの塊が複数個付着した形をしていて、最大直径は nylon fiber よりも 1.3 倍大きくなっていた。また、繊維の断面の形状は、星のような形をしていた。乳化グラフト重合法によって作製した材料の表面に塊が付着している現象は、ポリエチレンテレフタレートフィルムへアクリル酸を乳化グラフト重合させたときにも観察されている (Sun *et al.*, 2010)。硫黄および銅は、大部分が nylon fiber の周縁部に付着した塊に分布し、nylon fiber の内側には分布していなかった。言い換えると、塊状のグラフト鎖が nylon fiber の周縁部に付与されていた。これより、乳化グラフト重合法を適用すると、グラフト鎖はポリマーブラシとして付与されることがわかった。

sol-SA (87, 2.3) fiber は、nylon fiber よりも直径が 1.2 倍大きくなっていた。また、繊維の断面の形状は nylon fiber と同様にほぼ円形であった。硫黄および銅は、特に外縁部の濃度が高いものの繊維断面全体に分布していた。これより、溶液グラフト重合法を適用すると、グラフト鎖は、nylon fiber の繊維断面全体に付与されることがわかった。溶液グラフト重合法において、グラフト鎖が基材の繊維断面全体に付与される現象は、6-ナイロン繊維へ *p*-スチレンスルホン酸ナトリウムを溶液グラフト重合したときにも観察されている (Nakatani *et al.*, 2014)。

乳化グラフト重合法において、グラフト鎖をポリマーブラシとして付与できた理由として、重合時のモノマー濃度が高いことが挙げられる。乳化グラフト重合法を適用した場合、モノマーを含むミセルが nylon fiber 上のラジカルに衝突して重合が進行する。そのため、重合時のモノマー濃度は 100% であり、溶液グラフト重合法の 5% よりも 20 倍高くなり、重合速度が速くなる。重合速度が速いために、モノマーの繊維内部への侵入と比較して、ミセル内での重合が優先的に進行すると考えられる。

2.3 銅(II) イオンとリゾチームの破過曲線の比較

乳化または溶液グラフト重合法によって作製した emu-SA (81, 1.8) および sol-SA (87, 1.9) fiber をカラムへ充填し、銅(II) イオンおよびリゾチームを吸着させたときの破過曲線を **Figure 7** に示す。Figure 7 の破過曲線から算出した銅(II) イオンおよびリゾチームの 10%, 90% 動的吸着容量、および捕捉効率を **Table 1** にまとめた。銅(II) イオンを吸着させたときの emu-SA (81, 1.8) および sol-SA (87, 1.9) fiber の破過曲線は一致した。このことから、銅(II) イオンのような低分子のグラフト鎖への吸着は、グラ

Fig. 8 Binding capacities of SA fibers for lysozyme vs. degree of GMA grafting

Table 2 Dynamic binding capacities of cation-exchange adsorbers containing SA groups for lysozyme

		Cation-exchange adsorber	Shape	Grafting methods	10% Dynamic binding capacity [mg/mL-adsorber]	Space velocity [h ⁻¹]	Ref.
porous	non-grafted	Mustang S membrane ¹	membrane	-	> 52 ⁶	766	Pall, 2014
		Sartobind S nano ²	membrane	-	25	600	Sartorius, 2013
		SP Sepharose Fast Flow ³	beads	-	> 82 ⁷	61	Nash and Chase,1998
		MacroPrep High S ⁴	beads	-	33	57	Staby <i>et al.</i> , 2006
		Fractogel SE HICAP (M) ⁵	beads	-	37	33	Staby <i>et al.</i> , 2006
non-porous	grafted	Cation-exchange graft-chain-immobilized particle	particles	solution	< 43 ⁸	-	Sekiya <i>et al.</i> , 2010
		sol-SA (290, 2.7) fiber	fiber	solution	11	60	this work
		emu-SA (300, 2.9) fiber	fiber	emulsion	40	60	this work

1 : Pall

2 : Sartorius

3 : GE Healthcare

4 : Bio-Rad Laboratories

5 : Merck

6 : 0% Dynamic binding capacity

7 : 5% Dynamic binding capacity

8 : Equilibrium binding capacity

フト鎖の形成部位の影響を受けないことが示された。一方、リゾチームを吸着させたときの破過曲線は顕著な差が生じた。このことから、リゾチームのような高分子のグラフト鎖への吸着は、グラフト鎖の形成部位の影響を受けることが示された。

銅(II) イオンとリゾチームの捕捉効率について、銅(II) イオンは、90%以上と高い値を示した一方で、リゾチームは、60%以下と低い値を示した。これは、リゾチームの方が銅(II) イオンよりも分子サイズが大きく、拡散係数が小さいためと推察する。拡散係数が小さいために、グラフト鎖層内での拡散に時間がかかる。emu-SA (81, 1.8) fiberへのリゾチームの90%動的吸着容量は、sol-SA (87, 1.9) fiberよりも2.4倍高い値を示した。これは、emu-SA (81, 1.8) fiberの方が、ポリマーブラシの形成割合が大きいためである。

2.4 リゾチーム吸着容量のグラフト率依存性

グラフト率を15–300%の範囲で変えて作製したemu-およびsol-SA (dg, x) fiberをカラムへ充填し、リゾチームを吸着させたときの10%および90%動的吸着容量をFigure 8に示す。emu-およびsol-SA (dg, x) fiberへのリゾチーム吸着容量は、グラフト率の増大にともない増大した。このことから、ポリマーブラシの量は、グラフト重合法の種類にかかわらずグラフト率の増大にともない増大することが示唆された。また、emu-SA (dg, x) fiberの吸着容量は、グラフト率によらずsol-SA (dg, x) fiberよりも高い値を示した。吸着容量が最も優れた繊維は、emu-SA (300, 2.9) fiberであり、10%および90%動的吸着容量は、それぞれ130および240 mg/g-SA fiberであった。

SA基を有するさまざまなカチオン交換体へのリゾチーム吸着容量をTable 2にまとめた。本研究で得たemu-SA (300, 2.9) fiberのカラム体積あたりの10%動的吸着容量は40 mg/mL-columnであった。この値は、市販の多孔性ビーズであるMacroPrep High SおよびFractogel SE HICAP (M) と同程度の値である。

結 言

乳化および溶液グラフト重合法を適用して、6-ナイロン製繊維を出発材料にしてカチオン交換繊維を作製した。得られた繊維をカラムに充填し、リゾチーム溶液を流通させて、リゾチームの吸着性能を評価し、以下の結論を得た。

- (1) 電子線を照射した6-ナイロン製繊維に、エポキシ基をもつモノマーであるグリシジルメタクリレート (GMA) を乳化および溶液グラフト重合し、引き続き、ポリGMA鎖のエポキシ基をスルホン酸基へ転化して、カチオン交換繊維を作製した。
- (2) 溶液グラフト重合法によって作製した繊維のグラフト鎖は繊維断面方向全体に分布しているのに対し、乳化グラフト重合法によって作製した繊維のグラフト鎖は繊維周縁部に塊状に分布していた。
- (3) GMAグラフト率が81–87%のとき、乳化グラフト重合法によって作製した繊維におけるカラム体積あたりの10%動的吸着容量は、溶液グラフト重合法によって作製したそれより

も4倍高い値を示した。

タンパク質を高容量に吸着することは、抗体精製にかかるコストを低減させることができる。これは、抗体医薬品の価格を低減させることにつながる。タンパク質吸着容量がより高い繊維を作製するためには、さらに作製条件を探索する必要がある。

Literature Cited

- Bossaller, L. and A. Rothe; "Monoclonal Antibody Treatments for Rheumatoid Arthritis," *Expert Opin. Biol. Ther.*, **13**, 1257–1272 (2013)
- Feldmann, M.; "Development of Anti-TNF Therapy for Rheumatoid Arthritis," *Nat. Rev. Immunol.*, **2**, 364–371 (2002)
- Gagnon, P.; "Technology Trends in Antibody Purification," *J. Chromatogr. A*, **1221**, 57–70 (2012)
- Ishihara, R., S. Uchiyama, H. Ikezawa, S. Yamada, H. Hirota, D. Umeno and K. Saito; "Effect of Dose on Mole Percentages of Polymer Brush and Root Grafted onto Porous Polyethylene Sheet by Radiation-Induced Graft Polymerization," *Ind. Eng. Chem. Res.*, **52**, 12582–12586 (2013)
- Li, J. and Z. Zhu; "Research and Development of Next Generation of Antibody-Based Therapeutics," *Acta Pharmacol. Sin.*, **31**, 1198–1207 (2010)
- Nakatani, Y., S. Umino, M. Sugiyama, K. Fujiwara, T. Sugo, T. Kojima, D. Umeno and K. Saito; "Impregnation of Hydrous Titanium Oxide onto Cation-Exchange Polymer Chain Grafted onto Nylon Fiber," *Bull. Soc. Sea Water Sci., Jpn.*, **68**, 196–201 (2014)
- Nash, D. C. and H. A. Chase; "Comparison of Diffusion and Diffusion-Convection Matrices for Use in Ion-Exchange Separations of Proteins," *J. Chromatogr. A*, **807**, 185–207 (1998)
- Pall Corporation; "Acrodisc® Units with Mustang® Q and S Membranes" (2014)
- Sartorius Stedim Biotech GmbH; "Sartobind® Membrane Adsorbers for Rapid Purification of Proteins" (2013)
- Scott, A. M., J. D. Wolchok and L. J. Old; "Antibody Therapy of Cancer," *Nat. Rev. Cancer*, **12**, 278–287 (2012)
- Sekiya, Y., Y. Shimoda, D. Umeno, K. Saito, G. Furumoto, H. Shirataki, N. Shinohara and N. Kubota; "Preparation of Cation-Exchange Particle Designed for High-Speed Collection of Proteins by Radiation-Induced Graft Polymerization," *J. Ion Exchange*, **21**, 29–34 (2010)
- Seko, N., L. T. Bang and M. Tamada; "Syntheses of Amine-Type Adsorbents with Emulsion Graft Polymerization of Glycidyl Methacrylate," *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B*, **265**, 146–149 (2007)
- Seko, N., N. T. Y. Ninh and M. Tamada; "Emulsion Grafting of Glycidyl Methacrylate onto Polyethylene Fiber," *Radiat. Phys. Chem.*, **79**, 22–26 (2010)
- Shimoda, Y., Y. Sekiya, D. Umeno, K. Saito, G. Furumoto, H. Shirataki, N. Shinohara and N. Kubota; "Protein-Binding Characteristics of Anion-Exchange Particles Prepared by Radiation-Induced Graft Polymerization at Low Temperatures," *J. Chem. Eng. Japan*, **46**, 588–592 (2013)
- Staby, A., J. H. Jacobsen, R. G. Hansen, U. K. Bruus and I. H. Jensen; "Comparison of Chromatographic Ion-Exchange Resins V. Strong and Weak Cation-Exchange Resins," *J. Chromatogr. A*, **1118**, 168–179 (2006)
- Sun, J., L. Yao, Z. Gao, S. Peng, C. Wang and Y. Qiu; "Surface Modification of PET Films by Atmospheric Pressure Plasma-Induced Acrylic Acid Inverse Emulsion Graft Polymerization," *Surf. Coat. Tech.*, **204**, 4101–4106 (2010)
- Uchiyama, S., R. Ishihara, D. Umeno, K. Saito, S. Yamada, H. Hirota and S. Asai; "Determination of Mole Percentages of Brush and Root of Polymer Chain Grafted onto Porous Sheet," *J. Chem. Eng. Japan*, **46**, 414–419 (2013)

Preparation of Cation-Exchange Fibers with High Protein-Binding Capacities by Pre-Irradiation Induced Emulsion Graft Polymerization

Yuka MATSUZAKI, Daiki KUDO, Takashi KOJIMA, Shigeko KAWAI-NOMA,
Daisuke UMENO and Kyoichi SAITO

Department of Applied Chemistry and Biotechnology, Chiba University, 1-33 Yayoi-cho, Inage-ku, Chiba 263-8522, Japan

Keywords: Pre-Irradiation Induced Emulsion Graft Polymerization, 6-Nylon Fiber, Protein Adsorption, Sulfonic Acid Group, Dynamic Binding Capacity

To raise the adsorption capacity of cation-exchange fiber for protein, two methods of pre-irradiation grafting using either a solution or an emulsion of glycidyl methacrylate (GMA) were compared. The epoxy group of poly-GMA grafted onto a commercially available 6-nylon fiber was converted into a sulfonic acid group by reaction with sodium sulfite. Lysozyme solution (pH 9.0) was passed through a bed charged with one of the cation-exchange fibers at a space velocity of 60 h^{-1} . At a degree of GMA grafting of 81–87%, the 10% dynamic binding capacity of the bed charged with the fiber prepared by the emulsion grafting was four-fold that of the bed prepared by the solution grafting. The graft chain formed near the periphery of the fiber by the emulsion grafting is considered to contribute to the rapid capture of protein.

~~~~~