キトサンを素材とする新規な分離機能材料

*脇田正明 栗田工業(株) Masa-aki WAKITA | 橋本正憲 栗田工業(株) Masanori HASHIMOTO

キトサンは、天然に豊富に存在するキチンの脱アセチル化によって得られる塩基性多糖である。近年、バイオテクノロジー分野での分離機能材料や医用材料などへの利用が注目されている。本稿では、キトサンから調製した脂質分子膜固定化ゲルによるタンパク質溶液からのリポ多糖(LPS)の除去について紹介する。

LPSはグラム陰性菌の細胞壁由来の発熱物質で、多糖部と糖脂質部からなるアニオン性の両親媒性物質である。遺伝子組み替え菌を培養して医薬用タンパク質を製造する場合、混入するLPSを除去する必要がある。種々の液体クロマトグラフィーが利用されているが、目標レベル(通常は100 pg/mL以下)まで除去できないことが多い。

筆者らは、脂質二分子膜でタンパク質溶液中のLPSを選択的に吸着できることを見出した¹⁾。実用的な吸着材とするためには、NaOH水溶液での洗浄(滅菌)が可能で、脂質が溶出しない脂質分子膜固定化ゲルの合成が必要である。キトサンは、耐アルカリ性に優れ、タンパク質を吸着しにくい。そこで、キトサンを素材として、脂質分子膜固定化ゲルの合成を検討した。

まず、キトサンを1-ブロモオクタデカンでN-アルキル化し、二分子膜ベシクルを形成するN-オクタデシルキトサンを合成した²⁾。次に、N-オクタデシルキトサンを、大きな孔(直径約2 μm)を持ち物理化学的安定性に優れた多孔質キトサンゲルに共有結合で固定化した³⁾。固定化は、キトサンゲルを無水コハク酸で処理してカルボキシル基を導入し、水溶性カルボジイミドとN-ヒドロキシコハク酸イミド存在下でN-オクタデシルキトサンのベシクルを反応させることにより行った(図1)。得られたゲルの赤外吸収スペクトルや電子顕微鏡観察などから、N-オクタデシルキトサンの分子膜を親水部に残留する第一級アミノ基とゲル表面のカルボキシル基の間のアミド結合により固定化できたものと判断できた。また、0.5 N NaOH水溶液による洗浄にも安定で、脂質の溶出は極めてわずかであった。

得られた脂質分子膜固定化ゲルをカラムに充填して、タンパク質溶液からのLPS除去性能を検討した。LPS

図1 脂質分子膜固定化ゲルの合成スキーム

で汚染されていた牛血清アルブミン(BSA)の粉末試薬を緩衝液で溶解して通液したところ、LPS(148 ng/mL)を100 pg/mLまで吸着除去でき(除去率99.9%)、BSA(5 mg/mL)は吸着されずにほぼ100%回収できた⁴⁾。また、ヒト血清アルブミン(HSA)溶液に大腸菌由来のLPSを添加した混合溶液では、LPSを定量限界(リムルス試験、20 pg/mL)以下まで選択的に除去できた。脂質分子膜固定化ゲルは、繰り返し使用することができ、イオン吸着あるいはLPSへの親和性で吸着する既存のLPS除去用吸着材よりも低濃度までLPSを除去できた。この優れた除去性能は、キトサンを素材とするカチオン性脂質分子膜によるイオン吸着と疎水吸着が統合された効果と考えられる。

文 献

- 1) M.-a. Wakita, M. Hashimoto: *Langmuir*, **11**, 607 (1995)
- 2) 脇田正明, 橋本正憲: 高分子論文集, **52**, 589 (1995)
- 3) M.-a. Wakita, M. Hashimoto: *Langmuir*, **11**, 4013 (1995)
- 4) M.-a. Wakita, T. Adachi, J.-i. Ida, M. Hashimoto: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **69**, 1017 (1996)

* (新規技術グループ・担当課長, 工博, 専門=機能性高分子, 分子集合体)

(新規技術グループ・グループリーダー, 工博, 専門=水溶性高分子, キチン・キトサン)