

アルブミンのプラスチック表面への吸着
Adsorption of Albumin to Plastics Surface

0030114 下川 有紀 Yuki SHIMOKAWA

1. 目的と背景

人体と接するプラスチックとしてコンタクトレンズがある。今やコンタクトレンズ装用者は約1300万人（日本コンタクトレンズ協会調べ）に達している。しかし、実際に装用されている使い捨てレンズの2割、従来型レンズの4割で汚れが付着しており、これらは角膜を傷つけるなどの障害を引き起こす恐れがある。汚れの成分は主に涙や目やにによるタンパク質、カルシウム、脂質のほか化粧品などとみられているが、その中でもタンパク質が多い¹⁾。

涙液中に存在するタンパク質の疎水基は、水との接触を少なくするために涙液中からコンタクトレンズの疎水性表面に吸着すると考えられる。一般に、タンパク質の高分子への吸着性は、高分子の表面特性（親・疎水性）や、イオン強度・pH・温度など媒質条件に支配される。

本研究室ではこれまでに、ハードコンタクトレンズの主な材料であるポリメタクリル酸メチル（PMMA）と涙液の成分であるリゾチームを用いて吸着実験を行ったところ、300分以上で吸着平衡に達すること、Langmuir型吸着であることがわかった²⁾。

そこで、本研究ではモデルタンパク質としてアルブミンを、プラスチック基質としてPMMAとポリスチレン（PS）を選定し、タンパク質のプラスチック表面への吸着機構を解明することを目的として実験を行った。

2. 実験

〈二種のプラスチックに対するタンパク質の平衡吸着時間〉

2.1 試料

- タンパク質：牛血清アルブミン
（未脱脂 BSA）[SIGMA]
- プラスチック基質：
 - ・ポリスチレン（PS）厚さ 0.2mm
 - ・ポリメタクリル酸メチル（PMMA）厚さ 0.5mm
 測定用吸収セルに合わせて 10mm×30mm の大きさに切り、一条件につき一枚用いた。

2.2 装置

- 恒温振盪機：TAIYO INCUBATOR M-100N
[TAITEC]
- UV測定：紫外可視自記分光光度計 V-550
[日本分光]

2.3 方法

1 BSA 溶液

ヒト涙液に含まれる各種タンパク質の濃度を参考に調整した 0.1, 0.4, 0.8% の BSA 溶液の 280nm における吸光度 A_{280} を測定し、検量線を作成した。

2) 吸着条件

50ml のガラス製振盪瓶に溶媒 5ml とプラスチック板 1 枚を入れ、70rpm で 96 時間まで振盪した。

- 液性：pH 7, イオン強度 0.1
（緩衝液 Na_2HPO_4 :4.37g/l, KH_2PO_4 :1.05g/l）
- 温度：20, 30, 37°C
- 時間：24, 48, 72, 96 h

3) 吸光度測定

所定時間後に振盪瓶からプラスチック板を取り出し、汚染前の同一プラスチック板を reference としてサンプル一枚につき三ヶ所の吸収スペクトルを直接測定した。 A_{280} の平均値を記録し、その増加分が吸着量に比例するとして考察を行った。

4) 補正

緩衝液のみを溶媒とするブランク実験も行ったところ、わずかではあるがプラスチック基質の A_{280} に増減が認められた。そこで、数値の補正を行った。

3. 結果と考察

3.1 検量線

BSA 溶液の濃度 0.4% までは Lambert-Beer 則が成り立ち、定量可能であることを確認した (Fig. 1)。そこで、BSA 濃度は 0.1%, 0.4% の二段階に決定し、実験をすすめた。

3.2 BSA 溶液の経時変化 (Fig. 2)

0.1%, 0.4% では 37°C で長時間 (96 時間) 振盪

しても吸光度変化はないことを確認した。

3.3 プラスチック板への BSA の吸着 (Fig. 3~6)

PMMA 基質の場合、溶液の濃度や吸着時間、温度に関係なく、BSA はほとんど吸着しないことがわかった (Fig. 3 には 37°C の結果を示した)。一方 PS 基質の場合、24 時間でほぼ一定となった。また、温度が低いほど吸光度は高くなり吸着量が増加した (Fig. 4, 5, 6)。これは、高温ほど飽和吸着量が増加したという BSA/ポリアミド系³⁾とは異なる結果である。しかし、リゾチーム/PMMA 系は温度依存性が低いという報告もあることから²⁾、吸着は、高分子表面やタンパク質の性質に大きく影響されることが明らかである。pH 7 で共に負に帯電している BSA とプラスチック表面との間には静電的反発力が働く。PS で吸着量が多くなったのは、強い疎水性相互作用によるものだと考えられる。

(指導教官 駒城素子)

引用文献

- 1) 国民生活センター
「たしかな目 4月号」(2003)
- 2) 中村美穂, 修士論文 (1999)
- 3) 鈴木美保子, 修士論文 (1992)

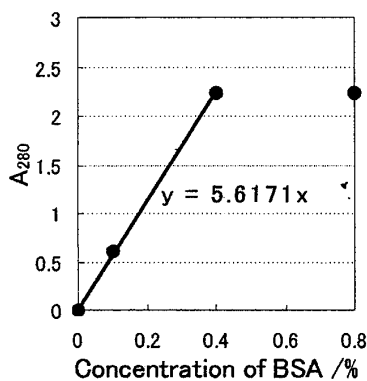


Fig. 1 Calibration curve of BSA solution

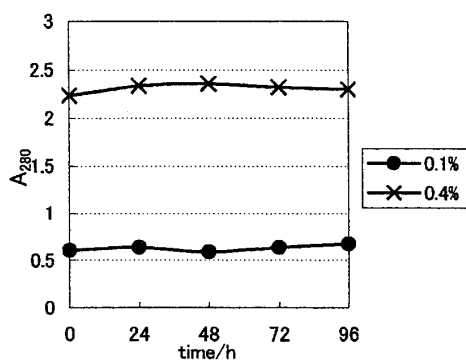


Fig. 2 Absorbance-time curves of BSA solution at 37°C

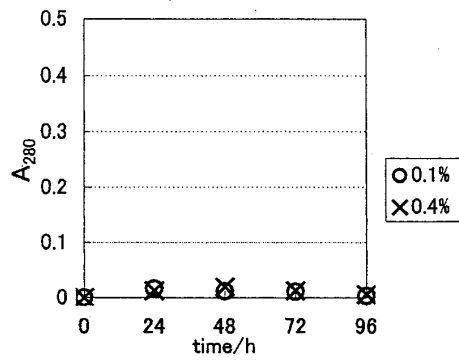


Fig. 3 Absorbance-time curves of PMMA plate treated in BSA solution at 37°C

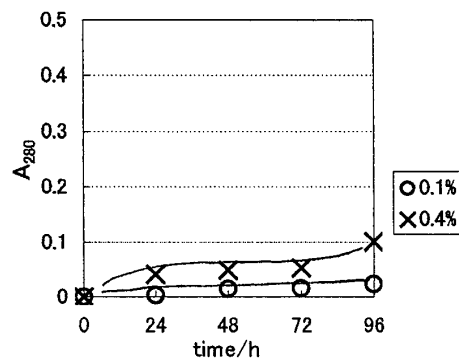


Fig. 4 Absorbance-time curves of PS plate treated in BSA solution at 37°C

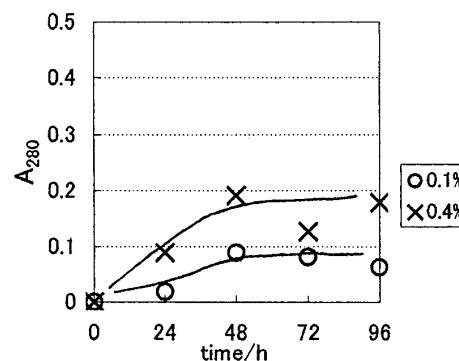


Fig. 5 Absorbance-time curves of PS plate treated in BSA solution at 30°C

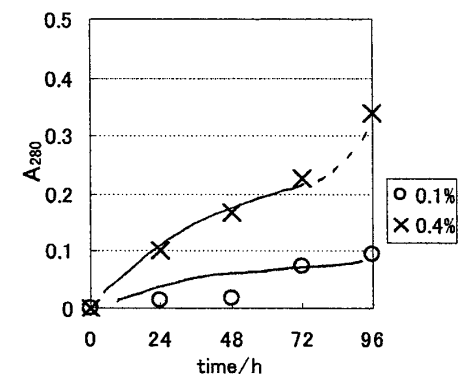


Fig. 6 Absorbance-time curve PS plate treated in BSA solution at 20°C