

プラスチック表面における生体物質の吸脱着

Adsorption and desorption of a bio-substance on a plastic surface

ライフサイエンス専攻 生活環境化学研究室 9840434 中村 美穂

Miho NAKAMURA

＜目的＞

コンタクトレンズは眼球に装着して使用するため、涙液中に含まれる各種の生体物質と接触する。これらにはタンパク質や脂質などが含まれており、レンズに汚れとして吸付着する。

レンズの汚染性には、材料であるプラスチックの表面特性や内部結晶構造など物理的性質が関与し、かつ吸着質と基質との親和性など化学的性質も関係してくる。これまでに、涙液中から吸着するタンパク質の種類や洗浄剤の洗浄力評価などの研究は行われている¹⁾が、コンタクトレンズへのタンパク質の吸脱着機構について詳しいことはわかっていない。

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ように、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。また、コンタクトレンズ装用中のレンズの外表面では、水分が蒸発するため、タンパク質の乾燥付着も生じる。

本研究では、コンタクトレンズの主成分であるポリメタクリル酸メチル(PMMA)を基質として、涙液中に多く含まれるリゾチームの吸付着実験を行った。さらに平衡吸着の実験から吸着の化学親和力と熱力学的パラメーター、吸着の活性化エネルギーなどを算出し、プラスチックへの生体物質の吸脱着機構を探ることとした。

＜方法＞

I. モデル汚染—洗浄実験

(1)汚染

試料：○PMMA 樹脂板

(ニットウ工業, 10×10×0.5 mm, 約 0.1g)

○卵白リゾチーム

(純度 95%, 結晶法, SIGMA)

緩衝液：NaCl 3.7g/L, KH₂PO₄ 1.1g/L,
Na₂HPO₄ 3.8g/L

方法：

①滴下—乾燥法

2g/L リゾチーム溶液 0.1mL/PMMA 1 cm²

シリカゲルデシケータ中乾燥保管

温度：25℃ 時間：5days

②平衡吸着法²⁾

6g/L リゾチーム溶液 2mL/PMMA 0.1g

ガラスバイアル瓶, 恒温振盪器 (70cpm)

温度：37℃ 時間：1~2 weeks

(2)洗浄

試料：汚染した上記2種の試料

溶媒：逆浸透膜処理水、

方法

温度：25℃ 浴比 約 1:20 (溶媒：2mL)

時間：1, 3, 10, 30, 100, 300, 500(780), 1440min.

装置：恒温振盪器 (70cpm, TAIYO M-100)

(3)除去率の算出

PMMA 板(265nm)および汚染浴・洗浄浴(280nm)の吸光度測定

除去率 ① $R_1 = A_w / \alpha \cdot 0.1$ (g/L) A_w ：洗浄後の吸光度 α (L/g)：吸光係数② $R_2 = 1 - \{(A_{pw} - A_{po}) / (A_{ps} - A_{po})\}$ A_{pw}, A_{ps}, A_{po} ：洗浄後、洗浄前、汚染後の PMMA の吸光度

II. 吸着平衡実験

試料：○PMMA パウダー (関東化学)

○卵白リゾチーム

濃度：0.3, 0.6, 0.9, 1.2 g/L(緩衝液)

方法

装置：恒温振盪器(100cpm) 時間：780 min.

温度：20, 30, 40℃ 浴比：1:2

分離：減圧濾過

(Cellulose Acetate membrane filter, $\phi 3 \mu m$)

＜結果・考察＞

I. 汚染—洗浄モデル実験

リゾチーム溶液を PMMA 板に滴下し、乾燥する方法①で汚染した試料の、水による除去率は、ほぼ 100%を示した。これは吸着法②による汚染・洗浄実験での除去率 60%

とは大きく異なっている(図1)。乾燥付着したリゾチームは、実験した洗浄時間1分で、すでにほぼ100%除去され、脱離速度が非常に大きいことがわかる。この相違は汚染時の温度および時間が、タンパク質の溶出に大きく影響したと考えられ、J. L. BOHNERT らの研究³⁾とも矛盾しない。他にも水分子の影響が考えられる。

以上の結果から、吸着におよぼす温度効果等を探ることとした。

II. 吸着平衡実験

予め求めたリゾチーム吸着量-時間曲線から、300分以上で吸着平衡に到達することがわかった。そこで780分における吸着量と、初濃度から差し引いた浴濃度を平衡値とした。PMMA-リゾチーム吸着等温線を図2に示す。吸着質が高分子の場合、吸着等温線は、高親和性の吸着等温線を描くことが多く、この場合も実験したいずれの温度でも低濃度で吸着量が著しく増加し、高濃度側で吸着量が一定になることが予想される。

そこでLangmuir Plotを行った(図3)。その結果、直線関係が得られ、Langmuir型吸着であると判定した。すなわちPMMAにはリゾチームの吸着サイトがあり、リゾチームはその表面上のサイトで結合して単分子層を形成すると考えられる。この吸着の飽和吸着量 $[S]_p$ を求め、算出した自由エネルギー変化 $(-\Delta\mu^\circ)$ と共に表1に示した。飽和吸着量は30℃のときに最も高く、20℃および40℃では一致していた。 $-\Delta\mu^\circ$ は浴から基質への移行しやすさの尺度であり、40℃でやや高い値となった。

この結果から、吸着の強さに対応するエンタルピー変化 (ΔH°) とエントロピー変化 (ΔS°) を求めた(表2)。これらの結果をBSA/ポリアミド系⁴⁾と比較すると、どちらの系でも吸着は吸熱過程であり、エントロピーの増加を伴うことがわかった。 $-\Delta\mu^\circ$ はBSA/ポリアミド系が高く、 ΔH° はリゾチーム/PMMA系が高い。

(指導教官 駒城 素子)

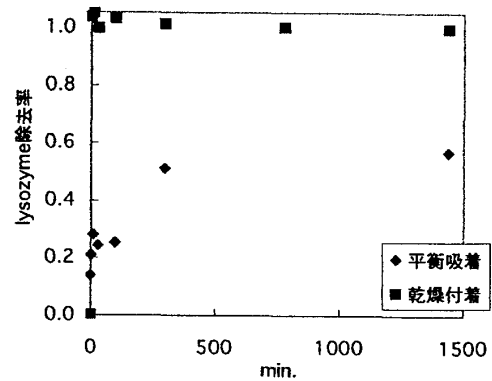


図1. 汚染方法の相違とリゾチーム除去率

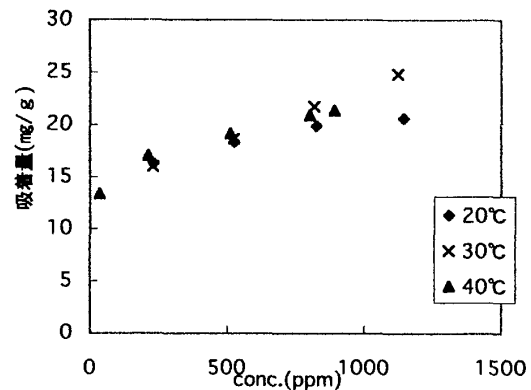


図2. PMMA-リゾチーム吸着等温線

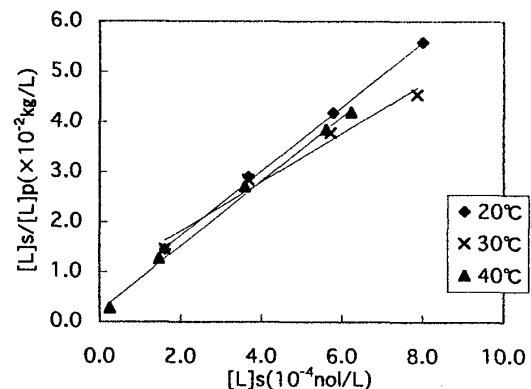


図3. Langmuir plot

表1. 飽和吸着量及び化学ポテンシャル変化

温度 (°C)	飽和吸着量 $[S]_p$ ($\times 10^{-2}$ mol/kg)	$-\Delta\mu^\circ$ (kJ/mol)
20	1.55	18.8
30	2.04	18.9
40	1.54	21.7

表2. エンタルピー変化及びエントロピー変化

ΔH° (kJ/mol)	ΔS° (J/mol · deg)
22.8	0.14

1) 例)坂本伴子ら,日本コンタクトレンズ学会誌, 33, 62-171(1991)

2) 中村 美穂, お茶の水女子大学卒業論文(1998)

3) J. L. BOHNERT, J. Colloid Interface Sci., 111, 363-377 (1986)

4) 鈴木美保子, お茶の水女子大学修士論文(1992)