

界面活性剤を利用したタンパク質の分離技術

生物応用化学科・衣笠 巧

界面活性剤が形成するマイクロエマルジョン(逆ミセル)や複合マイクロエマルジョンを利用した溶媒抽出法による物質分離操作に関する研究に取り組んでいる。前者は有機溶媒中で形成されるナノサイズの分子集合体(逆ミセル)を用いたタンパク質の分離法に、後者は「(W/O) / W エマルジョン」を利用した乳化液膜の安定性とそれを利用した分離法に関する研究である。そして、従来にない簡易な操作によって大量のタンパク質の分離・精製を行える工業的技術を世の中に送り出すことを目標としている。現在検討中の技術として、「脈動多孔板塔によるタンパク質の逆ミセル抽出」、「逆ミセル乳化液膜法」、「界面活性剤-タンパク質複合体沈殿分離法」の3つを紹介する。

有機溶媒中で界面活性剤が親水基を内側に向けて会合した分子集合体を「逆ミセル」と呼ぶ。(図1)その中心部分には、ナノメートルサイズの微小水滴を形成することができる。このナノ水滴には、タンパク質などの親水性物質を可溶化させることができ、さらに有機溶媒との接触を避けられるので変性・失活が抑制される。そこで、適当な条件においてタンパク質水溶液と逆ミセル有機溶液とを接触させると、タンパク質を逆ミセル中に可溶化することができる。このように逆ミセルを抽出剤として利用する技術を「逆ミセル抽出法」と呼ぶ。また、「逆ミセル抽出法」によるタンパク質の大量連続抽出処理を行うための装置として図2に示す「脈動多孔板塔」を開発している。

逆ミセル内のナノサイズ水滴を利用して有機溶媒にタンパク質を抽出すること技術と、その逆ミセルをキャリアとして乳化液膜法に適用しタンパク質の選択的能動輸送する技術を検討している。(図3)すなわち乳化液膜のキャリアとして逆ミセルを用いることにより、タンパク質の高選択的能動輸送を実現できる新規分離システムである。「逆ミセル乳化液膜法」では、逆ミセル形成のための界面活性剤と乳化液膜安定化のための界面活性剤が共存するため、その影響を明らかにすることが重要である。

「逆ミセル抽出」では、界面活性剤とタンパク質の静電的相互作用が推進力となる。図4に示すようにタンパク質水溶液に界面活性剤を加えると、界面活性剤がタンパク質に結合して不溶化し、凝集沈殿を形成する。この沈殿はアセトンやエタノールなどの極性有機溶媒に溶解し、さらにこれに微量の電解質水溶液を添加するとタンパク質が析出する。これにより、沈殿生成率の違いを利用したタンパク質分離を行っている。

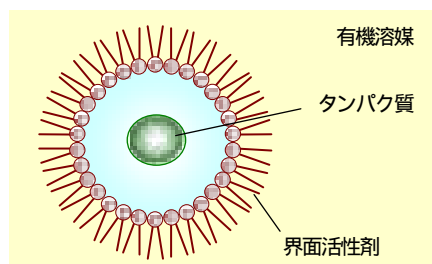


図1 逆ミセルに可溶化されたタンパク質。

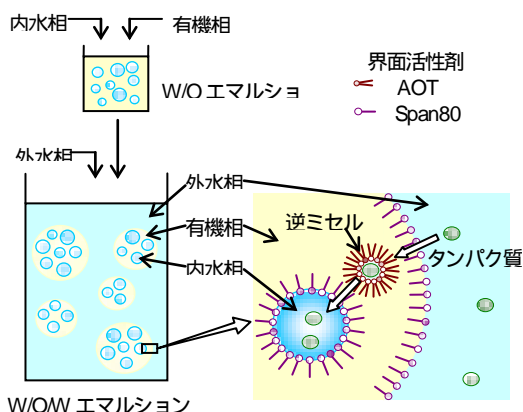


図3 逆ミセル乳化液膜法の概念図。

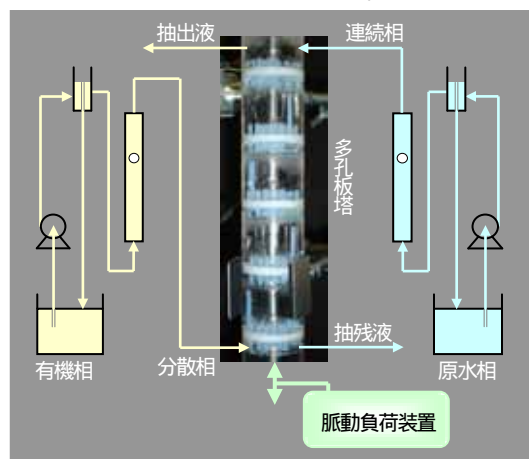


図2 脈動多孔板塔装置図。

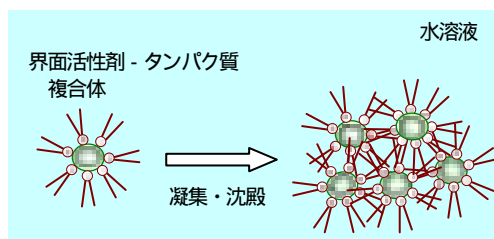


図4 界面活性剤-タンパク質複合体の沈殿挙動。