

## D13 Pectin-HAp 複合粒子の合成とそのタンパク質吸着能の評価

(産総研<sup>1</sup>・中部大学<sup>2</sup>) ○鈴木葵<sup>1,2</sup>・永田夫久江<sup>1</sup>・宮島達也<sup>1</sup>・今枝健一<sup>2</sup>・加藤且也<sup>1</sup>

E-mail: f.nagata@aist.go.jp

### 【緒言】

水酸アパタイト ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , HAp) は、タンパク質吸着材として応用されている。HAp は、Ca が多く存在する a 面と  $\text{PO}_4$  が多く存在する c 面の 2 種類の結晶面を有しており、a 面には酸性タンパク質、c 面には塩基性タンパク質が特異的に吸着すると考えられている。当研究グループでは、高分子を基材に c 面を多く露出した HAp シェルの形成に成功している。本研究では、食物由来で安全性が確認されており、さらに HAp の核生成サイトとなるカルボキシル基を多く有するペクチンを基材として選択し、Pectin-HAp 複合粒子の作製、およびそのタンパク質吸着能について評価した。

### 【実験方法】

ペクチンと  $\text{Ca}^{2+}$  の共存溶液は、ペクチンを分散させた水溶液と  $\text{Ca}^{2+}$  を含む水溶液を混合して調製した。 $\text{PO}_4^{3-}$  を含む水溶液は、合成時の Ca/P 比が 1.67 になるように調製し、ペクチンと  $\text{Ca}^{2+}$  の共存溶液中加入した。得られた懸濁液は、攪拌をしながら 3 日間熟成させ HAp を形成させた。その後、凍結乾燥を行い Pectin-HAp 複合粒子を得た。また、比較のためにペクチンを用いない条件でも HAp の合成を行い、pure-HAp を得た。Pectin-HAp 複合粒子は、FT-IR、XRD で分析、および TEM により形態観察を行った。タンパク質吸着能の評価は、酸性(Bovine Serum Albumin, BSA)、中性(Myoglobin, MGB)、塩基性(Lysozyme, LSZ)タンパク質を用いて吸着実験を行い、Bradford 法で定量した。

### 【結果と考察】

生成物の FT-IR 分析では、 $557\text{ cm}^{-1}$  と  $600\text{ cm}^{-1}$  にリン酸基(O-P-O)の変角振動に起因するピークが観測された。さらに、ペクチンのカルボキシル基に由来する  $1560\text{ cm}^{-1}$  近傍のピークがカルボキシル基と  $\text{Ca}^{2+}$  の結合によりレッドシフトしたことを確認した。ゆえに、ペクチンとリン酸カルシウムの複合化が明らかになった。また、XRD パターンより、析出したリン酸カルシウムは HAp であることを明らかにした。

タンパク質吸着能の評価は、ペクチン、Pectin-HAp 複合粒子、pure-HAp の 3 種類で比較検討を行った(Fig. 1)。pure-HAp は、BSA を  $68\text{ }\mu\text{g}/\text{mg}$ 、MGB を  $57\text{ }\mu\text{g}/\text{mg}$ 、LSZ を  $22\text{ }\mu\text{g}/\text{mg}$  吸着し、塩基性タンパク質よりも酸性、中性タンパク質に対して大きな吸着能を持つことが認められた。一方、Pectin-HAp 複合粒子のタンパク質吸着量は、BSA が  $8.2\text{ }\mu\text{g}/\text{mg}$ 、MGB が  $15\text{ }\mu\text{g}/\text{mg}$ 、LSZ が  $98\text{ }\mu\text{g}/\text{mg}$  であり、塩基性タンパク質に対して特に優れた吸着能を示した。ペクチンは、いずれのタンパク質に対しても吸着量が  $0\text{ }\mu\text{g}/\text{mg}$  であることから、Pectin-HAp 複合粒子の吸着挙動は、形成された HAp が寄与していると考えられた。Pectin-HAp 複合粒子の TEM 観察では、ペクチン上に  $0.34\text{ nm}$  を基本単位とする格子縞が観察された。これは、ペクチン上に HAp が c 軸方向へ規則的に成長していることを示している。以上の結果より、複合体の表面に形成した HAp の c 面が、塩基性タンパク質への特異的な吸着能を発現させたと考えられた。

### 【謝辞】

本研究の一部は JST 研究成果最適支援プログラムの支援によって行われた。

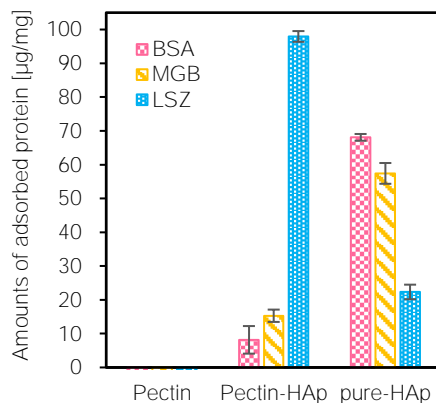


Fig.1 Protein adsorption behavior on Pectin, Pectin-HAp and pure-HAp.