

## 熟成時間を変化させたアパタイトの吸着特性評価

(中部大学<sup>1</sup>, 産総研<sup>2</sup>) ○長寄稔生<sup>1,2</sup>, 永田夫久江<sup>2</sup>, 櫻井誠<sup>1</sup>, 加藤且也<sup>2</sup>

### 【緒言】

骨の主成分である水酸アパタイト( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ; HAp)は、生体親和性を有するタンパク質吸着材料として知られている。各結晶面の原子の配置から、*a*面に酸性タンパク質、*c*面に塩基性タンパク質をそれぞれ特異的に吸着すると理論上考えられている。そのため、HApの結晶形態を変化させて合成することにより、特定のタンパク質を分離精製することへの応用が期待されている。しかし、合成条件により結晶形態や結晶性が同じHApであっても、吸着量が変わることが知られている。そこで本研究では、HAp粒子表面の細孔に注目し、表面状態を変化させたHApを熟成時間を変えて調製した。得られたアパタイトを用い、タンパク質吸着特性と粒子の表面細孔の関係について報告する。

### 【実験方法】

リン酸水素二アンモニウムと酢酸カルシウム水溶液を混合し、60°Cまで昇温した後、1-72時間60°Cで保持し、これを熟成時間とした。攪拌後、ろ過洗浄、乾燥を行いHAp粒子を得た。得られた粒子をSEM、IR、XRD、BET法によって分析した。タンパク質吸着実験には、酸性タンパク質(Bovine Serum Albumins; BSA)、塩基性タンパク質(Lysozyme; LSZ)を用いた。それぞれのタンパク質溶液とHAp粒子を混合し、一晩攪拌し吸着させた。その後遠心分離を行い、吸着量をBradford法にて測定した。

### 【結果と考察】

合成したHAp粒子は、どの熟成時間においても約200×50 nmの柱状であることが確認された(Fig. 1)。単位面積当たりのタンパク質吸着量は、全ての熟成時間においてBSAがLSZよりも増大していた。これは合成したHAp柱状粒子は*a*面が多く表出し、酸性タンパク質であるBSAが吸着しやすかったためと考えられる。LSZの吸着量はどの熟成時間もほぼ一定であった。一方、BSAの吸着量は72 h熟成したHApが、他の時間のHApのBSA吸着量と比較して約1.5倍の吸着量となった。BET法により粒子の細孔分布を測定したところ、2.5 nmの細孔の存在を示すピークがみられた。そのピークは72 hにおいて消失していることが確認された(Fig. 2)。HApの吸着特性に及ぼす因子である、形態、結晶性、置換基は熟成時間によってほとんど変化していないため、この2.5 nmの細孔の有無がBSAの吸着量に影響を及ぼしたと考えられる。72 h熟成したHApのBSA吸着量増大の要因を探るため、BSAのサイズ(4×14 nm)より小さい直径10 nm以下の細孔体積を算出し吸着量とプロットしたところ負の相関が確認された。一方、LSZには相関が確認されなかったことから、タンパク質の種類によって粒子細孔から受ける影響が異なると考えられる。2.5 nmの細孔に対してBSAのサイズが大きく細孔内の面積は吸着に寄与しなかったと考えられる。本実験の結果から、HApのタンパク質吸着において、粒子の形状だけでなくその粒子の表面細孔とタンパク質のサイズが重要な要素となることを明らかにした。

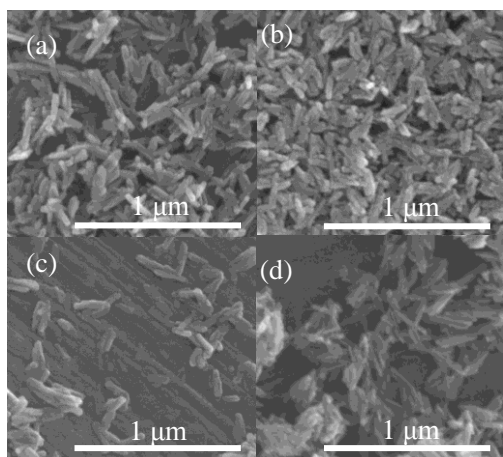


Fig. 1 HAp particles with various aging times  
(a) 1 h (b) 5 h (c) 24 h (d) 72 h

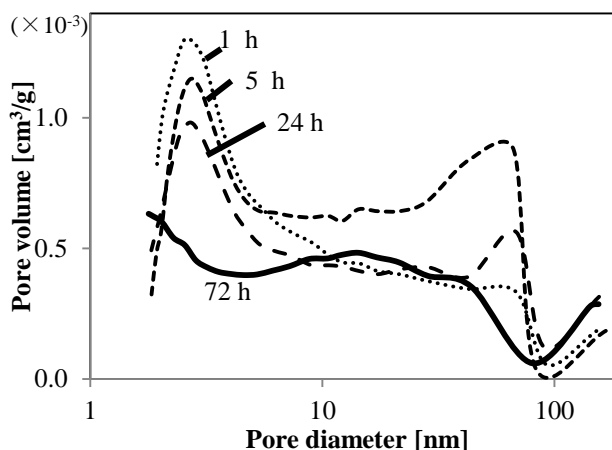


Fig. 2 Pore distribution of HAp particles