

僅かな温度差でバイオ・ナノ材料を濃縮できるイオン液体の開発

産業技術総合研究所

河野 雄樹

要旨

水相に溶存するバイオ・ナノ材料を僅かな温度差のみで濃縮するスマート濃縮プロセスの構築を目指し、昇温により水と相分離するイオン液体を用いた水溶性タンパク質の濃縮を試みた。その結果、タンパク質の水相およびイオン液体相への溶解性は、タンパク質を塩析・塩溶させるイオン液体濃度に依存し、これを適切に調整することで、水相に溶解したタンパク質を少量のイオン液体相に濃縮できることを明らかとした。

1. 背景と目的・目標

室温で液体の塩であるイオン液体は、難揮発性や難燃性、高い熱的・化学的安定性など、従来までの分子性溶媒には無い特徴を持つ。構成イオンを適切に設計すれば特定機能を付与することもでき、温度などの外部因子で水との親和性を制御できるイオン液体も開発可能である。中でも、昇温により水と相分離する下限臨界溶解温度(lower critical solution temperature; LCST)型の相挙動を示すイオン液体(混合・相分離イオン液体)は、室温付近の僅かな温度差で可逆的に混合状態と相分離状態を制御でき、その相分離温度は構成イオンの構造や含水量等で調節可能である。混合・相分離イオン液体の特徴を生かせば、水相に溶存するターゲット材料をイオン液体相に濃縮し、水は蒸留や減圧等の操作を用いずに分離する高効率かつ省エネルギーなプロセスの構築が期待される。

本研究では、水相に溶解したバイオ・ナノ材料をターゲットとし、これらを僅かな温度差のみで水相からイオン液体相に濃縮する「スマート濃縮プロセス」の構築を目指した。図1に本研究で検討するスマート濃縮プロセスの概略図をまとめた。ターゲット材料が溶解した水溶液にイオン液体を加え、均一混合状態とする。その後、温和な昇温により溶液を二相とし、イオン液体相へターゲット材料を濃縮させる。濃縮を行う材料として、本研究では数種類の水溶性タンパク質を選定した。これら材料を温和な条件でイオン液体相に濃縮できれば、濃縮プロセスの省エネ化・効率化につながるだけでなく、タンパク質由来の触媒能やガス吸収能等の機能を付与した新たなイオン液体材料の開発も期待される。

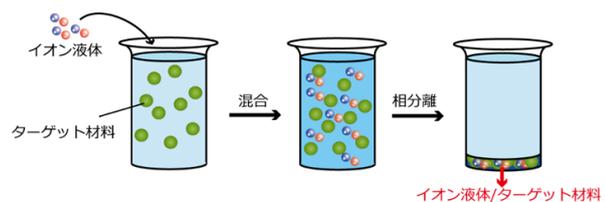


図1 イオン液体の混合・相分離機能を用いたスマート濃縮プロセス

2. 結果及び考察

まず、混合・相分離イオン液体として tetra-n-butylphosphonium 2,4,6-trimethylbenzenesulfonate (IL1)を用い、イオン液体の添加量が相分離挙動へ与える

影響を評価した。IL1 を 1,5,10,30,50 wt%となるよう水に加えて室温(ca. 20 °C)で均一相とした後、40 °C で 2 時間静置し、相挙動の確認を行った。その結果、IL1 の添加量が 1 および 5 wt%では昇温後も均一混合状態であったのに対し、10 wt%以上の添加量で水相とイオン液体相とに分離することがわかった。次に、1mg/g に調整したシトクロム c(Cyt.c)、ミオグロビン(Mb)、ヘモグロビン(Hb)水溶液に IL1 を上述の濃度となるよう混合し、タンパク質の溶解性を評価した(図 2 左)。室温で Cyt.c および Mb 水溶液に IL1 を添加し攪拌すると、全ての濃度範囲において均一な溶液が得られた。一方、Hb 水溶液に IL1 を混合すると、5-30 wt%の濃度範囲で Hb の塩析が認められ(図 2 黒枠)、IL1 濃度を更に上昇させると Hb は塩溶することが明らかとなった。作製した溶液を 40 °C で 2 時間静置して相分離させ、タンパク質の溶解性を評価した(図 2 右)。Cyt.c および Mb は IL1 濃度が 5wt%で塩析し、10wt%以上の条件で IL1 相に塩溶した(図 2 赤枠)。一方、Hb は IL1 濃度が 50wt%で IL1 相に塩溶した。このように、タンパク質の塩析・塩溶を引き起こすイオン液体濃度を考慮し、適切なイオン液体濃度に調節すれば、水相に溶存するいくつかのタンパク質をイオン液体相に濃縮できることを示した。

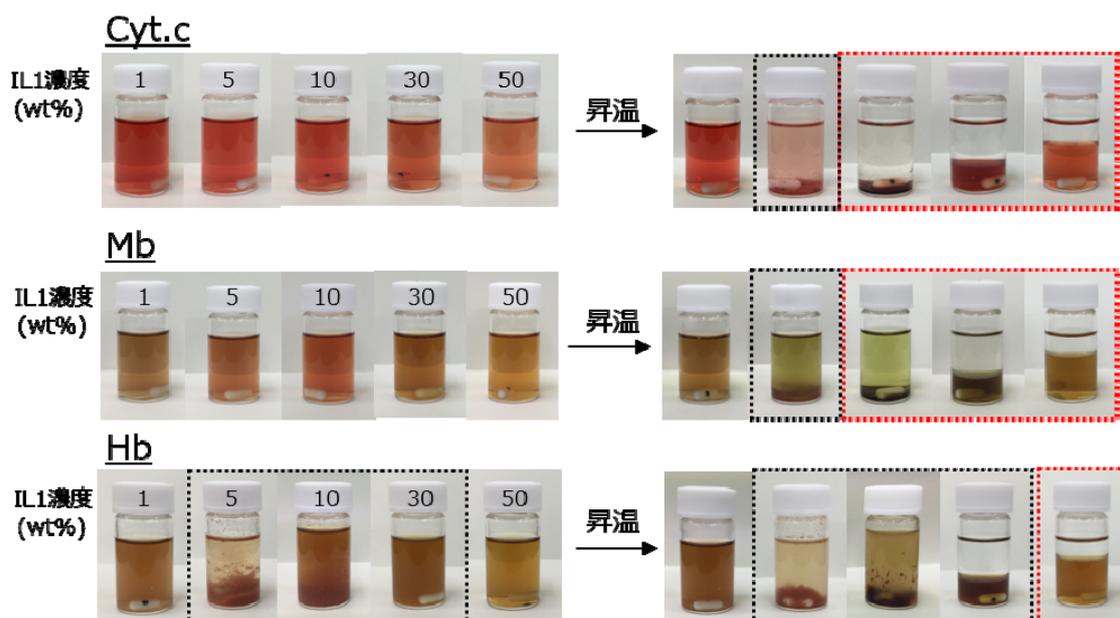


図 2 温度変化を利用したタンパク質の濃縮(左:室温で IL1 を混合した際の写真、右:40°C で静置した際の写真、黒枠:塩析が認められた溶液、赤枠:IL1 相にタンパク質が塩溶された溶液)

3. まとめと課題

水と LCST 型の相挙動を示すイオン液体を用い、数種類の水溶性ヘムタンパク質が水相から少量のイオン液体相へ濃縮されることがわかった。今後は、タンパク質の濃縮率や溶存状態等へ与える諸物性を検討し、特定タンパク質の性質に合わせてイオン液体に濃縮するための因子を整理するとともに、適応範囲の拡大とイオン液体中での材料の機能発現を目指す。