



Title	Novel Bioseparation Processes for Large Molecular Weight and Oligomeric Proteins by the Control of Their Interactions with Reverse Micelles
Author(s)	塩盛, 弘一郎
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3155684">https://doi.org/10.11501/3155684</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	塙 盛 弘一郎
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学 位 記 番 号	第 14796 号
学 位 授 与 年 月 日	平成11年3月25日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	Novel Bioseparation Processes for Large Molecular Weight and Oligomeric Proteins by the Control of Their Interactions with Reverse Micelles (逆ミセルとの相互作用制御による高分子量および多量体タンパク質の新規なバイオセパレーションプロセス)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教授 駒沢 勲
	(副査) 教授 久保井亮一 教授 田谷 正仁 教授 菅 健一

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、逆ミセル系を利用したタンパク質の分離において従来分離が困難と考えられていた変性し易い分子量3万以上の高分子量タンパク質や多量体タンパク質を主たる対象として、タンパク質と逆ミセルとの相互作用の評価と制御に基づく新規な抽出分離プロセスの設計に関する研究をまとめたものであり、3章から構成される。緒言では従来の研究を総括し、解決すべき問題点と本研究の必要性を論じ、全体の構成を示した。

第1章では、アニオン性界面活性剤AOTにより形成される逆ミセル系を用いて低分子量から高分子量の種々のタンパク質の抽出および逆抽出挙動、AOTとの相互作用によるタンパク質の構造変化、逆ミセル界面の特性を鋭敏に反映するパーコレーション挙動から、タンパク質とミセル界面間の相互作用を検討した。

第2章では、第1章の知見に基づき、タンパク質-逆ミセル界面・界面活性剤分子間の相互作用を多面的に検討するため油水界面へ吸着し有機相の基質と反応するリバーゼの逆ミセル系における酵素反応特性を明らかにし、界面反応モデルに基づく解析を行なった。

第3章では、第1章・第2章の知見を踏まえて、逆ミセルとタンパク質間の静電・疎水相互作用の制御・設計による3種類の新規な逆ミセル抽出分離プロセスを提案した。すなわち、(1)pHによるタンパク質表面電荷の制御、(2)多価カチオンによる表面電荷の修飾、(3)逆ミセルの界面電荷の修飾・制御である。はじめに、タンパク質とAOT逆ミセルとの強い静電反発を利用した注入法による溶解と逆抽出による選択的分離法を提案した。次に、二価金属を介するAOTとタンパク質の相互作用を利用する抽出を提案した。最後に、AOTと長鎖アミンの混合逆ミセル系において、AOTとアミンの静電相互作用を利用することにより、ミセルの形成およびAOTとタンパク質の静電・疎水相互作用の両方を制御する抽出法を提案した。

以上の研究結果は、タンパク質の界面との相互作用および機能性界面の設計に基づく高効率のタンパク質分離プロセスの開発のために有益な知見を与えると考えられる。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、逆ミセル系を利用したタンパク質の分離において従来分離が困難と考えられていた変性し易い分子量3

万以上の高分子量タンパク質や多量体タンパク質を主たる対象として、タンパク質と逆ミセルとの相互作用の評価と制御に基づく新規な抽出分離プロセスの設計に関して研究したものである。主な結果は次のとおりである。

- 1) アニオン性界面活性剤 AOT (Aerosol-OT) より形成される逆ミセル系を用いて、低分子量から高分子量の種々のタンパク質の抽出および逆抽出挙動、AOTとの相互作用によるタンパク質の構造変化、逆ミセル界面の特性を鋭敏に反映するパーコレーション挙動から、タンパク質とミセル界面間の相互作用を明らかにした。
- 2) タンパク質-逆ミセル界面・界面活性剤分子間の相互作用を多面的に検討するために油水界面へ吸着し有機相の基質と反応するリパーゼの逆ミセル系における酵素反応特性を明らかにし、界面反応モデルに基づく解析を行ない、リパーゼと界面との相互作用を評価した。
- 3) 逆ミセルとタンパク質間の静電・疎水相互作用の制御・設計による3種類の新規な逆ミセル抽出分離プロセスを提案した。すなわち、(1)pHによるタンパク質表面電荷の制御、(2)多価カチオンによる表面電荷の修飾、(3)逆ミセルの界面電荷の修飾・制御である。はじめに、タンパク質とAOT 逆ミセルとの強い静電反発を利用した注入法による溶解と逆抽出による選択的分離法を提案した。次に、二価金属を介するAOT とタンパク質の相互作用を利用する抽出を提案した。最後に、AOT と長鎖アミンの混合逆ミセル系において、AOT とアミンの静電相互作用を利用することにより、ミセルの形成およびAOT とタンパク質の静電・疎水相互作用の両方を制御する抽出法を提案した。これらの新規な逆ミセル抽出法は、高分子量タンパク質を高活性を保ったまま効率よく分離できることを明らかにした。

これらの一連の研究は、逆ミセルを用いるタンパク質の分離に化学工学の立場から新しい知見を与えたものであり、逆ミセルとタンパク質との相互作用および機能性界面の設計に基づき逆ミセルの分離場としての利用の道を拓いたものである。よって、博士（工学）の学位論文として価値あるものと認める。