



Title	生物が重金属イオンから身を守る仕組みに着想を得た高分子の開発と金属イオンの吸着能の評価
Author(s)	
Citation	令和4（2022）年度学部学生による自主研究奨励事業 研究成果報告書．2023
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/90971
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

令和4年度大阪大学未来基金「学部学生による自主研究奨励事業」研究成果報告書

ふりがな氏名	おかもと ちかの 岡本 愛乃	学部学科	理学部化学科	学年	2 年
ふりがな 共同 研究者氏名		学部 学科		学年	年
					年
					年
アドバイザー教員 氏名	橋爪 章仁・中畑 雅樹	所属	理学研究科		
研究課題名	生物が重金属イオンから身を守る仕組みに着想を得た高分子の開発と金属イオンの吸着能の評価				
研究成果の概要	研究目的、研究計画、研究方法、研究経過、研究成果等について記述すること。必要に応じて用紙を追加してもよい。（先行する研究を引用する場合は、「阪大生のためのアカデミックライティング入門」に従い、盗作剽窃にならないように引用部分を明示し文末に参考文献リストをつけること。）				

1. 本研究について

2030 年までに達成すべき 17 の目標が持続可能な開発目標（SDGs）として設定されている。SDGs の 6 つ目は「安全な水とトイレを世界中に」である。日本人の身の回りでは安全な水が水道から容易に入手できるが、世界的に見るとそのような国は珍しい。水の汚染源の一つは、工業廃水に含まれる有害な重金属イオンである。したがって、重金属イオンの除去は SDGs の達成のために重要な課題である。本研究では重金属イオンのひとつであり、イタイイタイ病の原因として知られているカドミウムイオンをターゲットとする。世界保健機関（WHO）が定める環境基準では、飲料水に含まれるカドミウムイオンは $0.03 \mu\text{M}$ 以下でなければならない。そこで本研究ではその環境基準を達成するためにカドミウムイオンを吸着するポリマーを合成することを目的とする。

生物には有害な重金属イオンから身を守るため、生体内からそれらの重金属イオンを取り除く機能が備わっている。植物ではファイトケラチン、動物ではメタロチオネインという金属イオン結合タンパク質がこの機能に関わっている。これらのタンパク質の中にあるシステイン残基がチオールを介して重金属イオンと結合し体内から取り除いていることが知られている。本研究ではこのファイトケラチンの構造に着想を得てシステイン残基を含有するポリマーを設計した（図 1）。

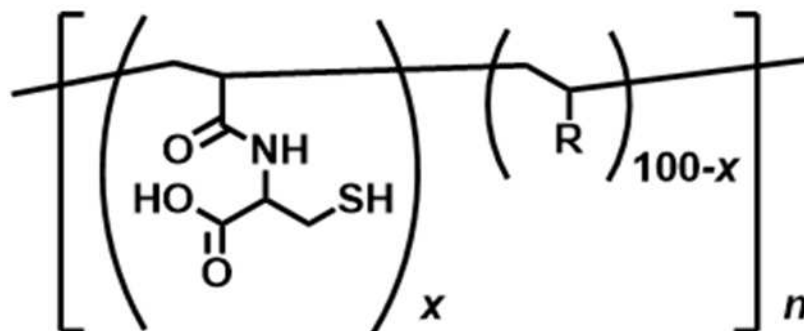


図 1. システイン含有ポリマー

2. ポリマーの生成

金属イオン結合タンパク質では、およそアミノ酸残基の三つに一つがシステインである。本研究ではシステイン含有モノマーのコモノマーとして 4 つのモノマー (AA, Gly, Asp, Glu) を選択した (図 2)。アクリル酸 (AA) 最も簡単な不飽和カルボン酸である。ほかの 3 種類はアミノ酸残基を有するアクリルアミド誘導体である。アミノ酸残基として最も簡単なアミノ酸であるグリシン (Gly) と酸性アミノ酸のアスパラギン酸 (Asp) とグルタミン酸 (Glu) を選択した。今回は、システイン含有モノマーとコモノマーの仕込みモル比 5 : 95 に固定した。

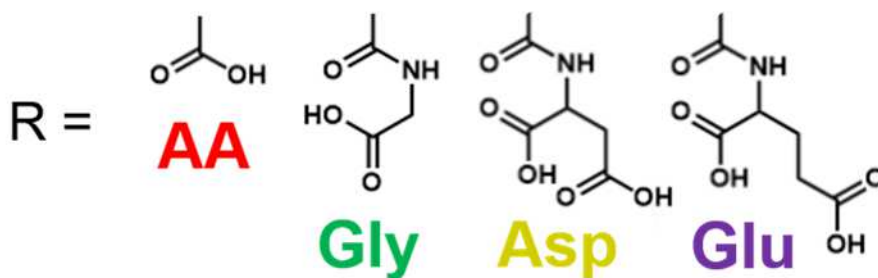


図 2. 本研究で用いたコモノマー

システイン残基のチオール基は、ラジカル重合において連鎖移動を引き起こすため、チオール基をトリフェニルメチル基で保護したモノマーを準備した。保護したシステイン含有モノマーとコモノマーを、アゾビスイソブチロニトリル (AIBN) を開始剤として用いた共重合することによりコポリマーを得た。得られたコポリマー中のトリフェニルメチル保護基をトリフルオロ酢酸と反応させることにより除去し、脱保護したカルボン酸 (COOH) 型のポリマーを再沈殿により回収した。酸型のポリマーは水溶性に乏しいため、カルボン酸と当量の水酸化ナトリウムで中和し、塩 (COONa) 型のポリマーを得た。

トリフェニルメチル基の脱保護の前後で測定した ^1H NMR スペクトルを比較することにより、定量的な脱保護を確認した。

3. カドミウムイオンとの吸着測定

Tris-HCl 緩衝溶液を溶媒とし、 $10\ \mu\text{M}$ 塩化カドミウムと異なる濃度のポリマーを含む溶液を調製した。1 時間以上攪拌後、透析膜がついた容器に置いて遠心分離を行うことによりフリーのカドミウムイオンを分離した。フリーのカドミウムイオン濃度を、定量用の呈色試薬を用いた吸光度測定によって決定した。

それぞれのポリマーに対して、フリーのカドミウムイオン濃度を測定した結果を図 3 に示す。いずれのポリマーにおいてもポリマー濃度の増加とともにフリーのカドミウムイオン濃度は減少していた。ポリマー濃度が $0.01\ \text{mg mL}^{-1}$ 以上になると、全てのポリマーにおいてフリーのカドミウムイオンは検出されず、測定限界値の $0.02\ \mu\text{M}$ 以下の濃度であることが示された。つまり、本研究で合成したすべてのポリマーにおいて、カドミウムイオン濃度 $0.03\ \mu\text{M}$ 以下という飲料水の環境基準を達成できることが分かった。

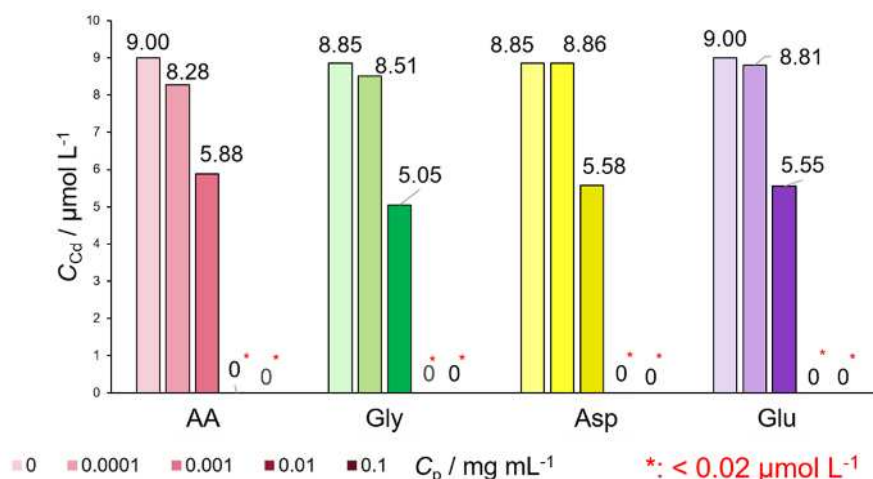


図 3. 溶液中のカドミウムイオン濃度

フリーのカドミウムイオン濃度の結果 (図 3) を用いてポリマー単位重量あたりのカドミウムイオンの吸着量を求めた結果を図 4 に示す。AA ポリマーの場合、ポリマー濃度の増加と共に、ポリマー単位重量あたりのカドミウムイオン吸着量は減少した。一方、Gly ポリマー、Asp ポリマー、Glu ポリマーの場合、ポリマー濃度が 0.001 mg mL^{-1} のときにポリマー単位重量あたりのカドミウムイオン吸着量が極大を示した。この結果は、Gly ポリマー、Asp ポリマー、Glu ポリマーに比べ、AA ポリマーのカドミウムイオン吸着能が高いことを示している。今回の実験では、AA ポリマーの濃度が $0.0001 \text{ mg mL}^{-1}$ のときにポリマー単位重量あたりのカドミウムイオン吸着量はもっとも高い値で 7.2 mmol g^{-1} を示した。この値は、現在の世界記録である 7.5 mmol g^{-1} に匹敵する^(1,2)。

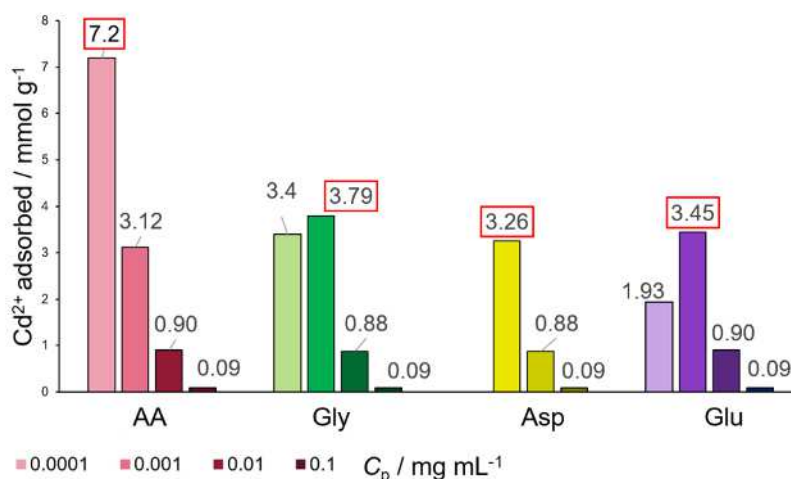


図 4. ポリマー単位重量あたりのカドミウムイオンの吸着量

4. pAA-CX の組成の最適化

pAA-CX のシステインモノマーの割合を示す X の値を変化させて pAA-CX の組成の最適化を図る測定を行った。ポリマーは pAA-C5, pAA-C10, pAA-C20, pAA-C30 の 4 種類を合成した。はじめにカドミウムイオンの濃度を $10 \mu\text{M}$ に固定し、ポリマー濃度を変化させて測定を行った。測定結果から、 $0.0001 \text{ mg mL}^{-1}$ の pAA-C5, 0.001 mg mL^{-1} の pAA-C10 と pAA-C20 のポリマー単位重量あたりの吸着量が他の濃度のポリマーに比べて大きくなったため、この 3

つの濃度のポリマーを対象にポリマー単位重量当たりの最大吸着量を測定する実験を行うことにした。溶液中のカドミウムイオンの濃度を $10\ \mu\text{M}$, $100\ \mu\text{M}$, $1\ \text{mM}$ の 3 種類に変化させて吸着測定を行った。その測定結果からポリマー単位重量当たりのカドミウムイオンの吸着量を求めたものを図 5 に示す。ただしカドミウムイオン濃度が $1\ \text{mM}$ での測定結果は、ポリマー濃度が $0.0001\ \text{mg mL}^{-1}$ の pAA-C5 と $0.001\ \text{mg mL}^{-1}$ の pAA-C20 の場合は統計学的に有意とはいえない値となったため、今回はカドミウムイオン濃度が $10\ \mu\text{M}$ と $100\ \mu\text{M}$ の時の測定結果のみを記述する。カドミウムイオン濃度が $10\ \mu\text{M}$ の時はポリマー濃度が $0.0001\ \text{mg mL}^{-1}$ の pAA-C5 の吸着量がほかのポリマーよりもかなり大きかったのに対して、カドミウムイオン濃度が $100\ \mu\text{M}$ のときは、ポリマー濃度が $0.001\ \text{mg mL}^{-1}$ の pAA-C10 の吸着量がポリマー濃度が $0.0001\ \text{mg mL}^{-1}$ の pAA-C5 に迫るほど上昇した。

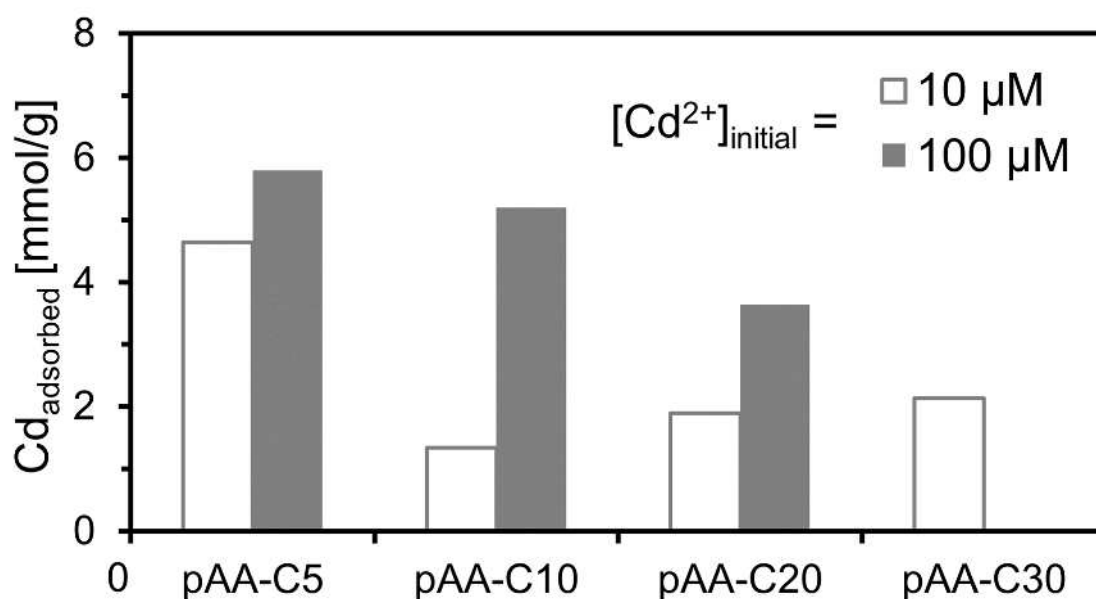


図 5. pAA-CX ポリマー単位重量あたりのカドミウムイオンの吸着量

4. 考察

今回用いた全てのポリマーはカドミウムイオン吸着能を示し、本研究における分子設計指針が妥当であることが示された。特に、AA ポリマーは最も強いカドミウムイオン吸着能を示した。今後、この理由を明らかにする必要があるが、現時点では、AA ポリマーは立体的な混み合いが少なく、カドミウムイオンがより結合しやすい状態にある、あるいは、AA ポリマー中のチオール基とカルボキシル基が適切な配置であるからだと考えられる。また、システインモノマーの含有量を増大させてもポリマー単位重量当たりの吸着量は増大しないことから、カドミウムイオンの吸着にはシステインモノマー内のチオール基だけではなく、ポリマー内のカルボキシ基も関わっており、この 2 つの残基の量的関係、あるいは位置的関係がカドミウムイオンの吸着量に影響していると考えられる。

5. まとめ

本研究では、WHO が定めるカドミウムイオン濃度 $0.03\ \mu\text{M}$ 以下という飲料水の環境基準を達成するためにカドミウムイオンを吸着するポリマーを合成することを目的とし、ファイトケラチンの構造に着想を得て、5 mol% のシステイン残基を含有するポリマー (AA, Gly, Asp,

Glu) を設計・合成した。得られたポリマーを用いてカドミウムイオンの吸着実験を行った結果、全てのポリマーが飲料水の環境基準を達成できることが示された。AA ポリマーは、ポリマー単位重量あたりのカドミウムイオン吸着量の最大値 (7.2 mmol g^{-1}) を示した。この値は、現在のポリマー単位重量あたりのカドミウムイオンの吸着量の世界記録に匹敵する。今後、ポリマーに吸着されたカドミウムイオンの環境やチオール基とカルボキシ基のポリマーないでの量的・位置的関係を調べることで、世界記録を超えるポリマーが得られることが期待される。

6. 参考文献

- (1) Rad, L. R.; Momeni, A.; Ghazani, B. F.; Irani, M.; Mahmoudi, M.; Noghreh, B. *Chem. Eng. J.* **2014**, 256, 119-127.
- (2) Qasem, N. A. A.; Mohammed, R. H.; Lawal, D. U. *npj Clean Water* **2021**, 4, 36.