

生体腎の糸球体をモデルとする蛋白分離膜の合成と評価

Synthesis and evaluation of protein-separating membranes
by modeling glomerular capillary wall

代表研究者	長岡技術科学大学助教授 Assoc. Prof., Nagaoka Univ. of Technology Yoshio NOSAKA	野 坂 芳 雄
協同研究者	長岡技術科学大学名誉教授 Prof. Emeritus, Nagaoka Univ. of Technology Hajime MIYAMA	三 山 創
	長岡技術科学大学教授 Prof., Nagaoka Univ. of Technology Nobuyuki FUJII	藤 井 信 行

Charged polymers, polyacrylonitrile having grafts of quaternized poly(dimethylaminoethyl methacrylate) and poly(sodium styrenesulfonate), were synthesized photochemically. Charged ultrafiltration membranes modeled after glomerular capillary wall were made by casting dimethylsulfoxide solutions of these polymers with water-soluble poly(vinyl alcohol) and rinsing with water. At first, molecular weight cutoff curves were measured with dextran aqueous solution under the various conditions of membrane preparation and ultrafiltration. Aqueous solutions of dextran and negatively charged dextran sulfate (DS) were used as samples to investigate the effect of charges of the ultrafiltration membranes. It was clearly demonstrated that the permeability of negatively charged DS decreases by ultrafiltration with the negatively charged membrane compared with a non-charged ultrafiltration membrane. Increase in permeability by the positively charged membrane was also observed. For both positively and negatively charged membranes, the permeability of albumin changes markedly at isoelectric point where protein changes a sign of its electrostatic charge. Since the permeability with noncharged membrane was high at whole pH range studied, this result shows that the electrostatic repulsion between membrane and filtrate takes a significant role in the ultrafiltration with charged membranes. The result of the experiment for the separation of albumin and γ -globulin from their mixed solution indicates the possibility of using charged ultrafiltration membranes as protein separation by changing pH of the solution.

研究目的

物質を分離することは化学プロセスに必要なだけでなく、生体系をはじめとするあらゆる物質系に不可決的操作である。膜による分離は生体系にその例が多くみられるように非常に効率の良い分離法であり、最近工業的プロセスにも盛んに用いられてきている。現在実用化されている膜には、逆浸透膜、限外ろ過膜、精密ろ過膜、イオン交換膜、透析膜などがある。限外ろ過膜は粒子の大き

さの違いによるふるい効果によって分離するものであり、分子量が10倍ほどの差がないと効率の良い分離はできない。一方、イオン分離膜は分子の電荷の相互作用の差によって分離するものであるが、その機能を限外ろ過膜に兼ね備えた膜によりより機能的な分離膜が開発されることが期待できる。生体の腎臓は、生体の内部環境の恒常性を保つために細胞外液に存在する代謝産物、過剰な水や電解質を尿として体外に排除する重要な役割

を担っているが、腎臓にある糸球体基底膜が荷電の効果を持つ限外ろ過膜であることが分かっている。すなわち、分子量が数千から数万の荷電状態の異なるデキストランという高分子を、負荷電を持つ正常の糸球体基底膜を用いてろ過実験を行ったところ、同じ大きさを持つデキストランでも正電荷を持つものは中性のものより透過が促進され、負荷電を持つものの透過は逆に抑制されることが見いだされている。これに対し、負荷電が消失している病態の糸球体基底膜では正および負のデキストランは中性のデキストランと同様の透過特性を示すことが見いだされた。近年、バイオミメティック（生体模倣）化学として生体の機能を模倣する化学研究が盛んに行われてきたが、荷電を持つ限外ろ過膜の研究はほとんどなされていない。そこで、本研究では、膜特性のよいポリアクリロニトリルを幹とする荷電型ポリマーを合成し、それを用いて高分子をある程度透過できる大きさの細孔を持つ限外ろ過膜を作製し、その荷電の効果を評価することにより、効率的な人工の荷電型限外ろ過膜を作製することを目的とした。

研究経過と方法

1. 光官能基を持つ幹ポリマーの合成

機能性高分子を合成する場合、本質的にまったく新しい高分子を合成するより、物理的、機械的性質がよく分かっている汎用高分子に共重合やグラフト（枝接ぎ）重合などの方法で機能を付与する方法が実際的である。高分子の合成方法として開始反応を熱によるものと光で行うものがある。我々の研究室では、化学的安定製、機械的強度、製膜性、紡糸性に優れた汎用高分子であるポリアクリロニトリル（以下 PAN と略す）に硫化水素を加熱しながら吹き込み、チオアミド化した後それを開始点とする熱重合で親水性ポリマーをグラフトすることに成功している。しかし、この反応は気相液相の反応を含むため制御がむずかしく、また、工程が3段階になることなどから本研究には用い得なかった。簡単な熱重合反応で荷電を持った PAN をつくる目的から、アクリロニトリルとジメチルアミノチルメタクリレート（以下 DAEM と略す）をランダム共重合した。しかし、

このポリマーを製膜したところ、荷電は現れなかった。これは、荷電を持つ成分がポリマー主鎖に埋もれてしまったためと思われる。そこで、本研究では光官能基を持つ PAN を合成した光により開始されるグラフト重合で膜材料を合成したところ比較的良い結果が得られたので、本研究ではこの方法を用いることにした。

荷電ポリマーの幹となるポリマーの合成条件を種々検討した結果、次の手順で合成するのが良いことが見いだされた。アクリロニトリルは、水酸化ナトリウム、リン酸水溶液で洗浄後無水炭酸カリウムで脱水し蒸留により精製した。このように精製したアクリロニトリル 300 ml と光重合開始剤である四臭化炭素 7g とを溶媒であるメチルスルフォキシド（以下 DMSO と略す）600 ml に溶かし 100W 高圧水銀灯を 4 時間照射することにより幹ポリマーを合成する。合成したポリマーの固有粘度を、ジメチルフォルムアミド（以下 DMF と略す）を溶媒として、ウベローデ粘度計を用いて 25°C で測定したところ 2.1~2.3 であり、分子量数十万の比較的高分子量の PAN が合成できていることが分かった。元素分析法により臭素の含有量を測定したところ、ポリマーには 0.6% 前後の臭素が含まれていることが分かった。この幹ポリマーを今後 PAN-Br と略す。

2. 荷電型ポリマーの光グラフト重合による合成

ポリマーに正荷電を持たせる一般的な方法は 4 級化窒素を含ませることにより達成される。そこで本研究では、ジメチルアミノ基を持つビニルモノマーである DAEM を PAN-Br に光開始重合でグラフトし、その後 4 級化により正荷電を持たせることにした。荷電の含有量はグラフトの長さによって調整できるが、代表的な実験条件を次に示す。15g の PAN-Br を 400 ml の DMSO に溶解したものと 45g の DAEM を 400 ml の DMSO に溶解したものを 1l の容器に入れ、窒素気流下攪拌しながら容器に挿入した 100W 高圧水銀灯で 6 時間照射した。生成したポリマーは析出、洗浄後乾燥したが、これを以後 PAN-g-DAEM 膜と略す。

ポリマーに負電荷を持たせるのにはいろいろ考えられるが、解離定数の大きいスルホン基をもったビニルモノマーであるスチレンスルホン酸ナトリウム（以下 SSS と略す）をグラフトするのが確実であると思われる。そこで、PAN-g-DAEM と同様な光グラフト重合で負荷電を有する PAN を合成した。仕込量としては、12 g の PAN-Br に対し 12~24 g の SSS を用いた。

グラフト後のポリマーの分析は 270MHZ プロトン NMR によって行った。溶媒の DMSO のプロトンシグナルを 2.50ppm としたとき幹ポリマーのメチレンとメチンのプロトンのシグナルはそれぞれ、2.05, 3.15 ppm に見られた。PAN-g-DAEM の場合、DAEM に由来するシグナルは 0.80, 0.98, 2.20, 4.00 に見られた。シグナル強度からグラフト量を計算すると重量%で 7.2 から 9.0% であり、4 級化によって期待される電荷量を計算するとポリマー 1g 当たり 0.4~0.5 mmol であった。PAN-g-SSS の場合 6.45 と 7.45 ppm に側鎖のシグナルが現れるのでこれよりグラフト量を計算した。グラフト重量は、4~18% で荷電量に換算すると PAN-g-SSS 1g 当り 0.2~0.7 mmol になる。

3. 荷電型限外ろ過膜の作製

限外ろ過膜は、一般に、緻密層と空隙の大きな支持層から成る非対称膜からできている。支持層は膜の強度を保つのみで抵抗無しに大きな分子も透過し、緻密層で透過の抵抗を生じさせることから分離膜としての特性を持たせている。簡単な湿式キャスト法は一般に次のステップからなる。(1) ポリマーを添加剤とともに適当な溶媒に溶解する、(2) 液状の膜を引き、(3) ポリマーの非溶媒で添加剤の溶媒に膜を浸しゲル化させる。この湿式キャスト法は簡単であるが、作製した膜の特性は各ステップのわずかな条件の違いに微妙に影響されることが多いため、ポリマーや添加剤の濃度、膜引き、ゲル化の温度、溶溶媒の種類などの条件を変化させて透水性の良い膜が作製できる条件を検討した。

実験に用いた膜は次のようにして作製したものである。PAN-g-DAEM 膜については、所定量の

ポリマーを DMF に溶解したものと、添加剤としてポリビニルアルコール 2.3 (クラレ (株) 製) を DMSO に溶解したものを所定量混合し、80℃で 5 時間加熱攪拌する。混合液を、40℃で加温した金属板 (写真用フェロタイプ板) にガラス棒ですばやく展開後、素早く 20℃の蒸留水に入れ、約 15 分後金属板から剥離し、2 日間蒸留水に浸漬することにより、溶媒である DMF と DMSO、そして添加剤を完全に除去する。膜は、直径 45 mm に打ち抜き、PAN-g-DAEM 膜として透過実験に用いた。膜厚はスペーサーを用いておよそ 100 μm になるようにした。この膜は完全には正荷電を持っていないので、打ち抜き前に 4 級化するために、臭化エチルの水-メタノール混合溶液に 8 時間浸漬した。そのようにして製作した膜を PAN-g-DAEM⁺ 膜と略す。負荷電を持つ PAN-g-SSS 膜は PAN-g-DAEM 膜と同様の方法で製作したが、異なる点は、ポリマーを DMSO に溶解させたこと、および、50℃に加熱したシリカガラス板を展開に用いたことである。

膜の荷電密度の測定は、イオン交換法で行った。すなわち、十分乾燥した 5 mm 角程度の膜片を精秤し、正荷電膜は、水酸化ナトリウム水溶液に浸し水洗後 pH 指示薬の存在で塩酸で滴定した。負荷電膜の場合は、希硝酸水溶液に浸し水洗後水酸化ナトリウム水溶液で滴定した。測定された膜の荷電量はポリマー溶液についての NMR 測定から予想される量とほぼ等しいことから、イオン性基は膜表面に存在することが示唆された。

4. 膜の透水性と透過特性の評価

膜の透水性と透過特性の評価は市販の限外ろ過用セル (アミコン社製) を用いアルゴンガスで静水圧 76 cm の圧力 (血圧の圧力差にほぼ対応) をかけ、攪拌して行った。透水性は、イオン交換水を初め 5 ml 透過した後の単位時間当たりの流出量 ($\text{l}/\text{m}^2\text{h}$) で表した。透水性と添加剤濃度の関係を調べたところ、透過性はポリマー濃度が低く添加剤濃度が高いほど高くなることが分かった。そこで出来るだけ高い透水性を持ち、しかも丈夫な膜が出来る条件の範囲で製膜した。

限外ろ過膜の特性の一つに分画分子量がある。

本研究では、種々の大きさ（分子量）を持つデキストランが膜をどれくらい透過するかを測定し、膜の分画特性として評価した。透過実験は種々の分子量を持つデキストランの0.2%水溶液について行った。加圧5分後より、5分おきに3回透過液を採取し、その体積から体積流量を求め、また、その濃度を示差屈折計を備えたゲルパーミエーションクロマトグラム(GPC)で測定することより求めた。透過率は透過液のデキストラン濃度の原液に対する割合で表した。1.0から透過率を引いたものは阻止率と呼んでいるものに相当する。

デキストラン以外の高分子の透過実験も同様に行った。負電荷をもつデキストランサルフェート(DS)については、濃度の定量をフェノール硫酸法で行った。血しょう蛋白の透過および分離には牛の血清アルブミンや γ -グロブリンの0.2%溶液を用いた。溶液は0.154 mol/l塩化ナトリウムを用い生体のイオン強度と同じとし、緩衝溶液を用いて作製した。透過液の蛋白濃度は、色素溶液を用いた呈色反応により定量した。アルブミンと γ -グロブリンの分離実験はそれぞれ0.1%を含む緩衝食塩水溶液を用い二つの蛋白の分析は紫外光検出器を備えたゲルクロマトグラムあるいはゲル電気永動装置を用いて行った。

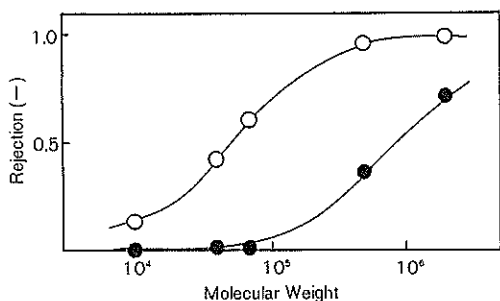


図1. PAN-g-DAEM 限外ろ過膜の4級化による分子量分画特性の変化。
●: 4級化前(PAN-g-DAEM), ○: 4級化後(PAN-g-DAEM⁺).

研究成果

1. 分画特性の評価

作製した限外ろ過膜の孔の大きさを表す分画特性を調べるために、分子量1, 4, 7, 50, 200万のデキストラン(フェルマシア社製)を用い透過実験を行った。PAN-g-DAEMと4級化後のPAN-g-DAEM⁺とを比較したものを図1に示す。用いた膜は、ポリマー濃度7.0%, 添加剤濃度2.0%において製膜したもので荷電量は2.25 mmol/gであった。図から分かるように4級化により分画分子量がおよそ1桁小さくなり、透過膜の細孔の大きさが小さくなる。これは、4級化を製膜後行うために、膜を形成するポリマーの体積が増加するのに対し、膜全体はそれほど膨潤しないところから、膜の穴が小さくなること、あるいは、イオン性基の付与による水和構造の変化などがその原因と考えられる。

ポリマー濃度を8.0%と一定にして、添加剤濃度を1, 3, 4%と上げていった場合のPAN-g-DAEM⁺の分画分子量特性を図2に示す。ここで、荷電量は0.75 mmol/gであった。このように、作製した膜の孔の大きさには添加剤の量が大きく影響することが分かった。

上述の二つの結果は、イオン強度がゼロの水溶液について測定したが、生体中では塩化ナトリウムなどのイオンによりイオン強度が0.154であるとされている。そこで、イオン強度を0.077,

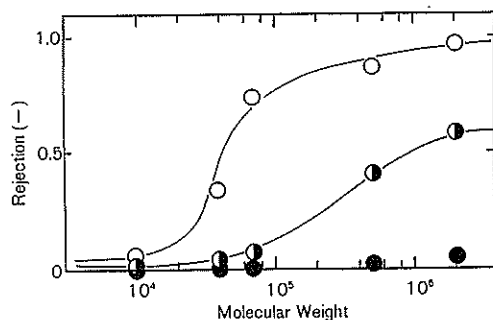


図2. 製膜時の添加剤濃度が分画分子量特性に及ぼす影響。
PAN-g-DAEM⁺ 限外ろ過膜。製膜時のポリマー濃度8.0%, 添加剤濃度1.0%(○), 3.0%(●), 4.0%(●).

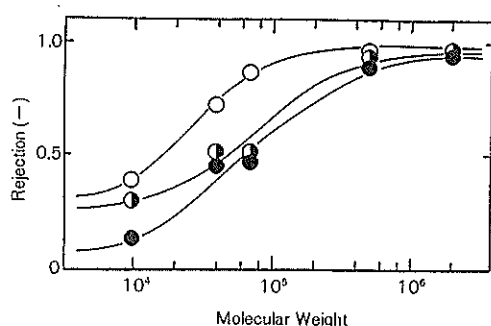


図3. 透過液のイオン強度が分画分子量特性に及ぼす影響。
イオン強度 0(○), 0.077(◐), 0.154(●).
PAN-g-DAEM⁺ 限外ろ過膜.

0.154 と変化させて分画特性を測定した。用いた膜は、ポリマー濃度 9%、添加剤濃度 0.5% で 0.59 mmol/g の PAN-g-DAEM⁺ 膜である。結果を図 3 に示すが、溶液のイオン強度を上げるほど大きな分子量のデキストランを通すのが容易になる。これは、膜を形成するポリマーがイオン性のため、イオン強度が小さい場合は広がっているが、イオン強度を上げることによってイオン間の反発が弱まり広がりが小さくなるため、孔の大きさが大きくなるためと考えられる。

原料ポリマーのグラフト量の分画特性への影響について調べたところ、PAN-g-DAEM⁺ 膜では DAEM 含有量が大きいほど分画分子量が少し小さくなる程度であるが、製膜時に荷電を持っている PAN-g-SSS 膜では図 4 に示すように大きく変化する。図に示した膜はポリマー濃度 8% で添加剤濃度 1% であるが、荷電量が 0.12, 0.67 mmol/g と異なっており、荷電量が、大きくなると孔の大きさは小さくなるのが分かった。これは、ポリマーの親水性が増加すると製膜時のポリマー溶液中で添加剤であるポリビニルアルコールの糸まり構造（ドメイン）が小さくなるためではないかと考えられる。

2. 膜と透過分子の荷電の影響

種々の荷電を持った限外ろ過膜において透過する高分子の荷電の効果を調べるために、荷電を持ったデキストランサルフェイト (DS) など荷電をもった水溶性高分子は、同じ分子量の荷電のな

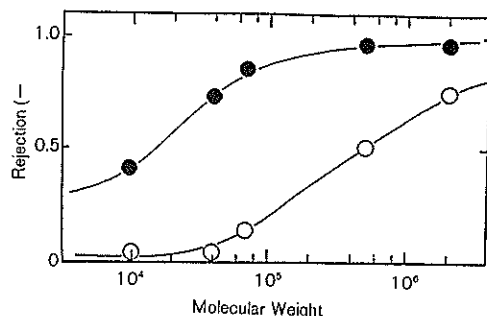


図4. 負荷電限外ろ過膜の荷電量が分画分子量特性に及ぼす影響。
PAN-g-SSS, [SO₃]=0.12(○),
0.67(●)mmol/g.

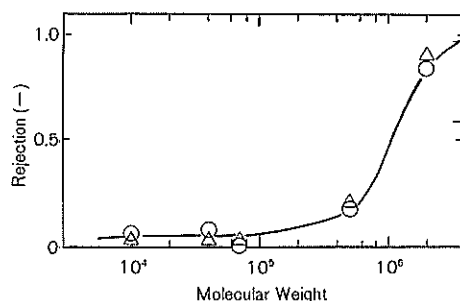


図5. 同程度の特性を持つ不荷電および負荷電膜の分画分子量特性。
PAN-Br 膜 (△), PAN-g-SSS 膜 (○).

いデキストランに比べて水溶液中で分子内の荷電の反発により体積が大きくなることが予想される。そこで透過分子と膜との荷電の影響を明確にするには、分画特性のほぼ等しい荷電膜と不荷電膜をつくり荷電高分子の実際の大きさを不荷電膜で測定すれば良いと考えた。図 5 に、このような目的のために作製した荷電量 0.22 mmol/g の PAN-g-SSS 膜と、荷電を持たない PAN-Br 膜について分画特性を示す。この 2 種類の膜について、市販されている負荷電型デキストランである DS について透過実験を行ったところ、表 1 に示すような結果が得られた。荷電のない PAN-Br 膜については DS は荷電の無いデキストランと同様 100% 近く透過する。このことは、負荷電の PAN-g-SSS 膜は、分画特性が PAN-Br と同じであるので、荷電の効果がなければ DS は容易に通

表 1. 不および正荷電型限外ろ過膜によるデキストラン (D) およびデキストランサルフェイト (DS) の透過率と体積流量 (イオン強度 0).

分子 量	透 過 率 (%)		体 積 流 速 (l/m ² h)	
	PAN-Br	PAN-g-DAEM ⁺	PAN-Br	PAN-g-DAEM
D 10000	97.2	95.6	292	99.1
DS 5000*	99.6	50.9	154	40.3
DS 8000*	99.5	66.0	213	54.8

* サルフェイトを除いた分子量。サルフェイトはユニット当たり 0.5 付いている。

表 2. 正および負荷電型限外ろ過膜によるデキストラン (D) およびデキストランサルフェイト (DS) の透過率と体積流量 (イオン強度 0.077).

分子 量	透 過 率 (%)		体 積 流 速 (l/m ² h)	
	PAN-g-DAEM ⁺	PAN-g-SSS	PAN-g-DAEM ⁺	PAN-g-SSS
D 10000	68.6	85.1	15.8	59.5
DS 5000*	90.5	71.6	75.5	37.5
DS 8000*	95.3	79.3	82.5	38.8

* 表 1 と同じ。

過できることを示している。しかし実際は、その負荷電膜を DS は半分ほどしか通れない。したがって、負荷電を持つ透過分子の DS は同じく負荷電を持つ PAN-g-SSS 膜との静電的な反発により、膜の細孔内に取り込まれにくく流出液の中に出てこない事をこの事実は示している。

限外ろ過膜において、膜と透過分子の静電的な相互作用が働いていることを確かめるために、正荷電を有する PAN-g-DAEM⁺ 膜について負荷電を有する DS の透過特性を調べた。用いた PAN-g-DAEM⁺ 膜は、ほぼ図 3 に示されている分画特性を持っている。透過実験の結果を表 2 に示す。実験は、イオン強度 0.077 の溶液について行ったので、同じ条件での負荷電 PAN-g-SSS 膜についての結果も示してある。正荷電を持つ限外ろ過膜では負荷電の DS が細孔中に濃縮されるため荷電を持たない限外ろ過膜に比べ DS の透過が促進されると解釈できる。また、さきに述べた負荷電膜についてはこの条件において透過が抑制されることが確認された。

3. 血しょう蛋白の分離

血液成分の分離は、血液構成成分の物性、構造、機能などを研究する際の基礎的な方法論として、また各成分の定量、定性分析に基づく検査、診断

への応用、さらには補充療法剤としての分画製剤の製造や病因物質の除去などのために不可欠の技術である。近年、この技術を支える素材として高分子材料が多面で活用されるようになり、逆浸透法、精密ろ過法、限外ろ過法による優れた分離膜が開発されている。しかし蛋白分離に用いられる、限外ろ過膜に荷電の機能を付加した膜は開発されていない。

蛋白は一般に溶液の水素イオン濃度 (pH) によって荷電の符号が変化するので、そのサイズだけでなく荷電によっても分けることが出来ると考えられる。そこで、血しょう蛋白の分離に先立ち、血しょう蛋白の一つであるアルブミンの透過実験を pH を変化させて行った。その結果は図 6 に示したように、限外ろ過膜の持つ荷電によって大きく変化することが分かった。用いた限外ろ過膜の分画特性は先に示した図 5 にほぼ等しく、分子量 50 万のデキストラが 50% 以上透過するものである。分子量 50 万のデキストランは文献によれば直径が約 30nm と見積ることが出来、円錐形のアルブミンの大きさが 4.1×13.4 nm であるので、荷電の効果がなければいずれの限外ろ過膜もその孔は十分アルブミンを透過できる大きさであることが分かる。アルブミンの等電点は pH 4.7~4.9

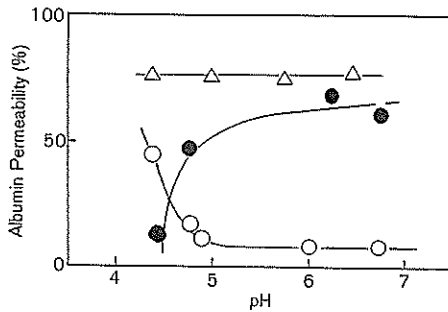


図 6. アルブミンの透過率に及ぼす pH と膜荷電の影響. PAN-Br 膜 (Δ), PAN-g-SSS 膜 (\circ), PAN-g-DAEM⁺ 膜 (\bullet).

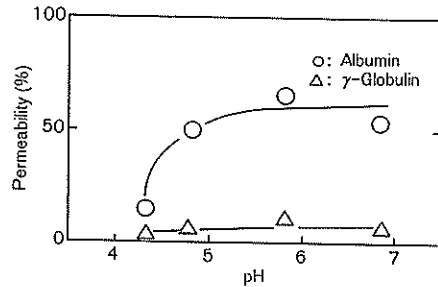


図 7. PAN-g-DAEM⁺ 限外ろ過膜を用いたアルブミンと γ -グロブリン混合溶液における蛋白の透過率.

表 3. アルブミンと γ -グロブリン混合溶液における負荷電 PAN-g-SSS 限外ろ過膜による蛋白分離.²⁾

pH	全蛋白の透過率 (%)		体積流速 (l/m^2h)		分離係数	
	PAN-Br	PAN-g-SSS	PAN-Br	PAN-g-SSS	PAN-Br	PAN-g-SSS
6.8	31.5	36.6	3.3	1.7	1.22	1.72
5.3	30.3	31.9	0.3	1.3	-	2.75
4.3	28.4	35.5	0.1	10.2	-	4.05

であるので、これより高い pH では負に帯電し負荷電膜での透過が抑制され、逆に、これより低い pH では正に荷電するため正荷電膜での透過が抑制される。また、荷電の無い PAN-Br 膜では pH による透過率の変化は生じない。

蛋白は高分子材料に対し吸着しやすい。PAN 膜表面においても蛋白の吸着などによる流速の低下 (ファウリング) を起す可能性がある。確かに、4 級化していない PAN-g-DAEM 膜では 20 分の透過実験前後において食塩水の流速が 5 分の 1 に低下した。しかし、4 級化した PAN-g-DAEM⁺ 膜では食塩水の流速が 5 分の 4 程度にしか低下しない。また、4 級化していない膜においては pH 6 以上でアルブミンの透過率が、15 分の透過実験でも数分の 1 にまで低下したが、4 級化した正荷電膜では透過率の低下は見られなかった。

もう一つの血しょう蛋白である γ -グロブリンは、そのサイズが 4.4×23.5 nm と比較的近いが、等電点が pH 6.5~7.0 とアルブミンと異なるので異なった透過率-pH 特性を示すことが期待される。実験結果は、PAN-g-DAEM⁺ 膜を用いた場

合、透過率は pH によらず数%の低いものであった。これは、 γ -グロブリンが容易に吸着し、また不安定で多量体をつくりやすいという性質によるためろ過膜表面や細孔に吸着や目詰まりを起こしたことが原因であると思われる。そのことは、透過実験の後に食塩水の流速が極端に低下したことから確かめられた。

次に、二つの蛋白の混合溶液を用いて分離実験を行なった。負荷電を持つ PAN-g-SSS 膜において限外ろ過液中のアルブミンと γ -グロブリンの比 (分離係数) を表 3 に示した。中程の pH ではアルブミンは負に帯電しているが γ -グロブリンは正に帯電しているため γ -グロブリンの方がアルブミンより透過しやすいと予想されるが、実際は吸着等の原因で透過量が少ない。しかし、アルブミンが正に帯電する低い pH では分離係数が 4 倍と大きくなった。荷電を持たない、PAN-Br 膜では全蛋白の透過率自体が非常に小さくなり分離係数が計算できなかった。正電荷を持つ PAN-g-DAEM⁺ 膜で、アルブミンの透過は等電点以上の pH において γ -グロブリンより大きい等電点以

下では極端に小さくなる。一方、 γ -グロブリンの透過はさきに述べたようにそれ自体小さいが pH によってあまり変化しない。蛋白の違いによる吸着性の問題などが残るが、ここで述べた正および負荷電型限外ろ過膜は、蛋白の大きさだけでなく荷電によって分離できることの可能性を示している。

今後の課題と発展

我々の作製した荷電型限外ろ過膜は、理論的に予想される荷電の効果を備えていることが、負荷電のデキストランや pH を変えた蛋白の透過実験で明らかに出来たが、蛋白分離膜として実際に用いるには次のような問題点が残されている。それは、1) イオン強度を生体系と同じ程度まで高めると十分な荷電の効果が得られない、2) γ -グロブリンなど吸着しやすい蛋白は透過しにくい、などであるが、今後、負荷電のみならず、正荷電を持った種々の分子量のデキストランを合成しその分画分子量特性におよぼす荷電量の影響を調べ、どの

程度の荷電量が蛋白分離に必要なついでを立てる。また、膜の特性を蛋白が吸着しにくいように、親水性基をグラフトさせる試みも必要かと思われる。

発表論文等

- 1) H. Miyama, K. Tanaka, Y. Nosaka, N. Fujii, H. Tanzawa and S. Nagaoka: "Charged Ultrafiltration Membrane for Permeation of Proteins", *J. Appl. Polym. Sci.*, **36**, 925 (1988).
- 2) H. Miyama, H. Yoshida, Y. Nosaka and H. Tanzawa: "Negatively Charged Polyacrylonitrile Graft Copolymer Membrane for Permeation and Separation of Plasma Proteins", *Makromol. Chem. Rapid Commun.*, **9**, 57 (1988).
- 3) 三山 創, 真名子裕俊, 野坂芳雄, 藤井信行, 丹沢 宏: 「糸球体基底膜をモデルとした荷電型限外ろ過膜による血しょう蛋白分離」, *膜*, **14**, 45 (1989).
- 4) 三山 創, 「糸球体膜モデルとタンパク質の分離」, *高分子*, 332 (1988).
- 5) 三山 創, 「荷電膜によるタンパク質のふるい分け」, *化学と工業*, 1032 (1989).