

トルくらいのもスシリンダーで作った気がしますが最終的には試験管 1 本分程度の沈殿になりました。ほとんど 1 日仕事でした。でもそのタンパク質吸着能力は凄くて、数 mg のタンパク質が何百 ml に薄まったバッファーに、このリン酸カルシウムゲル県濁液を 1 ml くらい加えてよく混ぜ、大きな遠心管に入れて軽く（数百 rpm 程度）遠心して沈殿を集めます。時には 300ml の遠心管を 4 本なんてこともありまして。遠心管の底に僅かに付いた沈殿を 1 ml 程度の濃いリン酸バッファーで注意深く県濁させます。県濁液は今度は小さい遠心管で遠心すると得られる上澄みを調べると殆ど全ての目的酵素の活性がこの 1 ml に濃縮されて出てきます。

DEAE セルロースカラムクロマトグラフィーでは、担体（DEAE セルロース：Diethylaminoethyl cellulose）をまず 0.005M という薄いリン酸バッファー（pH7 くらい）を一晩流して平衡化します。こうして準備されたカラムに、同じバッファーに溶かした（実際は硫酸分画した沈殿物をこのバッファーで一晩透析したもの）試料を乗せてこのバッファーを 1 リットルくらいながして洗います。このあと 0.05M 位から 0.2M 位までの KCl を混ぜたバッファーを順次流して流出液を一定量ずつ分取していきます。分取したもの（フラクション）の酵素活性を一つ一つ根気よく調べて活性のあるフラクションだけ集まると大量になるわけです。この一連の操作で大切なことは薄いリン酸バッファー（0.005M）で吸着、濃いリン酸バッファー（0.2M 以上）で脱着ということです。KCl が 0.2M あっても吸着するのです。大切なことは、DEAE セルロースでの吸脱着は塩濃度の差で行いますが、リン酸カルシウムゲルでは塩濃度ではなくリン酸イオンの濃度なのです。

リン酸カルシウムゲルはこのように大変便利なもので、一度作っておくと冷蔵庫で何カ月か使えました。筆者が乳酸ラセマーゼなる酵素を初めて単離して学位論文にした 1967 年まで大変お世話になりました。

ちなみに、昨年畑中顕和先生に“みどりの香り”の研究をお話し頂いたとき、先生がアメリカで初めて酵素の研究をすることになり、「酵素研究法」というを日本からわざわざ送らせたとおっしゃって居られました。この大部の（全 4 巻で重さ数キロ！）は当時一冊 6500 円（当時の初任給くらい）高価な本は、奥山先生の指導教官だった赤堀四郎教授の編纂です。筆者も当時研究室にあったこの本を愛読していて、上記のリン酸カルシウムゲルの作り方は第 1 巻に出ています。

その後、筆者は日本を離れ 12 年間アメリカでは光合成のそれも分光測定を中心に研究に変わり、タンパク質精製のような「もの取り」の仕事からすっかり離れていました。1979 年に帰ってきて埼玉大学理学部生化学科にささやかな研究室を頂き、再びもの取りの仕事を始めようとしていたころ、ハイドロキシアパタイトというセラミックスがクロマトグラフィーの担体として市場に現れ始めました。そのハイドロキシアパタイトなるものはリン酸カルシウム結晶の一種だと分かり、昔のリン酸カルシウムゲルがもっと使いやすく丈夫になったものと聞き、ちょっと使ってみたいと思っていましたが、高価で手が出ずにいました。それからのいろいろな経緯があって（詳細は長くなるので省略しますが）、結局それから数年後、当時あったいくつかのハイドロキシアパタイトメーカーの一つだった旭光学（ペンタックス）から頂いた試供品を使わせて頂けることになりました。そして、葉緑体由来の膜タンパク質やらカイコ体液の特殊タンパク質などに大変役立ち、いくつもオリジナル論文が出せました。閑話休題。

今回の小林伸太郎さんのお話は、特にウィルスの分離についてもお話いただけるということ

で、今インフルエンザに加え昨年はデング熱やら今年に入って南米のジカ熱やらワクチン開発が喫緊の問題になっている折から非常に興味あるお話を期待しています。

2) 第70回定例会(2016/1/22)の報告

2-1. 超高純度素材に対する期待という話題で数年前まで広島国際学院大学工学部教授で居られた松坂菊生にお話しいただきました。今回の話題はバイオテクノロジーと一見あまり関係ないように見えますが、物質を非常に高度に純化していくとそれまで知られていなかった全く異なる性質が見えてくるというお話です。逆にこれまでその物質の特性と考えられていたものが混在していた微量の他の物質に由来することが分かってきます。今回は金属(アルミニウム)を純化して行く特殊な装置のお話から分析法もICPなどバイオではあまりなじみが少ない手法など大変興味深いお話でした。決してバイオと無縁の話ではないかもしれません。奥山先生はじめ非常に多くの生化学者がタンパク質の単離と純化に努めてきた歴史があります。最近のバイオ分野では複雑系の解析が主流ですばらしい結果が次々と発表されていますが、永年にわたって生化学者たちが膨大な種類のタンパク質や生体物質を単離して詳細な研究を積み重ねてきた実績があったからこそということをお忘れしないで頂きたいと思います。

＊ ＊

＊ ＊

＊ ＊

3) 第71回定例会のおしらせ。

バイオテクノロジー標準化支援協会 第71回 定例会

日時：2016年2月26日(金) 14時00分 - 16時00分

参加費：無料

* (定例会は会員でも会員でなくても自由に出席して、自由に発言も出来ます。)

友人同士誘い合わせてご出席ください。出席するのが面倒な方はメールでご意見をお寄せください。

場所：八雲クラブ (ニュー渋谷コーポラス 10階-1001号) (首都大学東京同窓会)
(渋谷駅から坂(井の頭通り)を上がり東急ハンズの角を右に回り、直ぐまた右に曲がるとハンズの搬入口でその隣の建物です)

住所： 渋谷区宇田川町 12-3 電話番号： 03-3770-2214



八雲クラブ案内図：地図はグーグルマップで、赤い丸印の場所です。

話題

*1 クロマトグラフィーに用いられるアパタイト充填剤の性質

—アパタイトにおけるウィルス精製の特質—

演者：HOYA Technosurgical 株式会社 小林伸太郎 氏

今回は若手の登場です。演者はPENTAXニューセラミックス事業部で永年奥山先生の右腕としてカラムクロマトグラフィーの開発に携わって来られた小林伸太郎さんです。ご略歴は下記の通りで現在はHOYA Technosurgicalのグループリーダーとして活躍して居られます

講演要旨：

1956年に Tiselius, Hjerten らがハイドロキシアパタイトを充填剤として適用し、クロマトグラフィーによるタンパク質の分離を行って以来、ハイドロキシアパタイトは等電点が酸性から塩基性にいたる幅広い範囲の生体高分子類を分離・精製する担体として広く用いられてきた。

さらに球状セラミック型の創出により、再現性のある分離・分析が行われるようになった。昨今では世界的にワクチン製造の精製工程にもアパタイトが用いられバイオ医薬品の製造工程においてはアパタイト充填剤は欠かせない物となっている。

今回は一般的なアパタイトクロマトグラフィーとアパタイトを用いたウィルス粒子精製の実際について発表することになる。

演者略歴：

1995年 3月 北海道大学院工学部 生体工学科卒業

1995年 4月 PENTAX ニューセラミックス事業部入社

1995年 4月 ニューセラミックス事業部開発部所属

以下セラミックスフィルター、クロマトグラフィーの研究に携わる

1998-2015 奥山典生先生 PENTAX の技術顧問となる。アパタイト関係の技術指導を受ける。

2008年 HOYA が PENTAX を買収

2010年 開発部 G1 グループリーダーとなる。アパタイトクロマトグラフィー用カラム。骨補填材の研究開発のマネジメントを行う。

2013年 HOYA ニューセラミックス事業部が HOYA100%子会社の HOYA Technosurgical として独立

ぜひ皆様のご参加をお待ちして居ります。

＊ ＊

＊ ＊

＊ ＊

この会では会員でも会員でなくてもご自由に出席、発言して頂くことになっていきます。ぜひ友人同士誘い合わせてご出席ください。

また出席されない方でもメールでご意見をお寄せください。お待ちしております。またぜひ「昨日・今日・明日」にもご投稿ください。内容・字数は自由です。また話題提供も大歓迎です。時間は2時間程度ですが短くても長くても（この場合は2回以上に分けますが）また内容も自由です。ぜひ皆さまのご参加を歓迎します。

＊ ＊

＊ ＊

＊ ＊

4) ホームページに e-library のリストがあります。会員の方はその中から希望のものをご指摘ください。