

タンパク質や高分子の分子量とサイズ測定

(極限粘度測定によって)

■ 概要

極限粘度は溶液中の分子のサイズと関連がある。分子の極限粘度は分子のサイズ、構造、分子同士の相互作用、溶媒との相互作用の情報を含んでいる。主なアプリケーションは次のとおりである。

- ・重合
- ・流体力学半径
- ・高分子の安定性や変性
- ・タンパク質の変性や凝集
- ・タンパク質の水和や構造
- ・イオン性高分子量の測定

■ 理論

Mark Houwink-Sakurada 式

$$[\eta] = KM^a$$

- $[\eta]$: 極限粘度 (溶媒中の高分子濃度が限りなくゼロに近いときの粘度)

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \left(\frac{\eta_r - 1}{C} \right) = \lim_{c \rightarrow 0} \left(\frac{\eta_{sp}}{C} \right)$$

ここで、 $\eta_r = \frac{\eta}{\eta_s}$

η_r	相対粘度	η_s	溶媒粘度
η	溶液粘度	C	濃度 [mg/ml or mg/dl]

極限粘度は濃度がゼロの時の $\frac{\eta_{sp}}{C}$ (還元粘度と呼ばれる) の値となる。

- K, a : 高分子の種類、溶媒の種類、および温度によって決まる定数
よって、極限粘度より分子量あるいは分子サイズを求めることができる。

極限粘度と還元粘度の関係は次式で表される。そのため、極限粘度は、種々の濃度の高分子溶液の粘度を測定し、濃度に対してプロットすることで切片として求めることができる。

- Huggins 式: $\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + \kappa_H [\eta]^2 c$ κ_H : Huggins 定数

- Kraemer 式: $\frac{\ln \eta_r}{c} = [\eta] - \kappa_K [\eta]^2 c$ κ_K : Kraemer 定数

■ m-VROC の特徴

従来のキャピラリー粘度計は操作が面倒で測定に多くの時間を要するのに比べ、m-VROC は少量で迅速に再現性よく粘度を測定できる。また、一般的に広く普及されている粘度計は再現性が悪いために極限粘度測定には適さない。

■ 測定

- サンプル: ポリスチレン 3種(PS48k, PS16k, PS8.4k)(溶媒:トルエン)、BSA(溶媒:PBA)
- センサーチップ: m-VROC2.5-A05、シリンジ : 1 ml、測定温度: 25 °C、流速: 600 μ l/min



■ 結果

各濃度における PS48k の粘度測定結果を表 1 に示した。低粘度も再現性よく測定できた。この結果より還元粘度を求め、表 2 にまとめた。また、還元粘度と濃度の関係を図 1 にプロットした。Huggins と Kraemer の定数はそれぞれ $k_H = 0.38$, $k_K = 0.14$ であった。

図 2 には全サンプルの還元粘度と濃度の関係を表した。文献によると 25°C でのトルエン中のポリスチレンの K と a の値はそれぞれ $K = 0.000037$ ml/mg, $a = 0.62$ であり、Mark Houwink-Sakurada の式により得られた極限粘度から平均分子量と流体力学半径を求めた(表 3)。また、流体力学半径は次の Einstein-Shimha 式を使って計算した。

$$r_h = \left(\frac{3M[\eta]}{4\pi \cdot 2.5Na} \right)^{1/3} \quad \text{Na: アボガドロ定数}$$

PBA 中の BSA の流体力学的半径は 3.7nm と知られている。 m -VROC の測定値はほぼ同じ結果となった。また、ポリスチレンの分子量について、メーカー公表値とよく一致していた(図 3)。

■ 測定データ

C, mg/ml	Viscosity, mPa-s				
	#1	#2	#3	#4	Ave.
Toluene	0.558	0.560	0.558	0.560	0.559
3.855	0.626	0.628	0.629	0.625	0.627
8.610	0.716	0.716	0.716	0.715	0.716
13.455	0.815	0.816	0.817	0.817	0.816
21.944	1.019	1.017	1.019	1.024	1.020
30.98	1.260	1.262	1.258	1.266	1.262

表 1: PS48k の各濃度における粘度測定結果

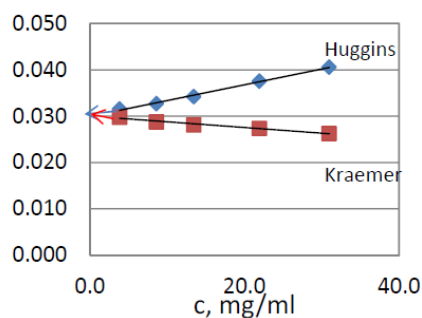


図 1: PS48k の Huggins 式と Kraemer 式

C, mg/ml	Huggins	Kraemer
	η_{sp}/c	$\ln(\eta_r)/c$
3.855	0.0316	0.02978
8.610	0.0327	0.02880
13.455	0.0342	0.02814
21.944	0.0376	0.02739
30.98	0.0406	0.02627

表 2: PS48k の還元粘度

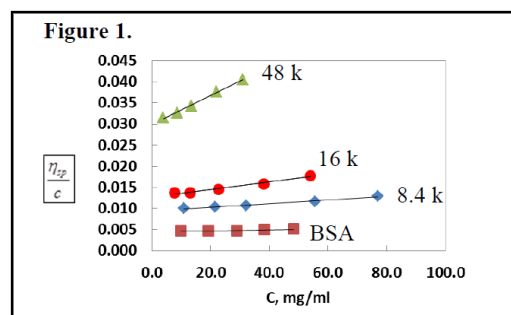


図 2: Huggins 式

	Molecular weight		$[\eta]$, ml/g	r_h , nm
	Reference	Measured		
PS48k	48,100	48,997	29.9	6.15
PS16K	16,600	12,800	12.9	2.98
PS8k	8,400	7638	9.5	2.26
BSA*	66,463	-	4.5	3.63

表 3: 極限粘度、平均分子量と分子サイズ

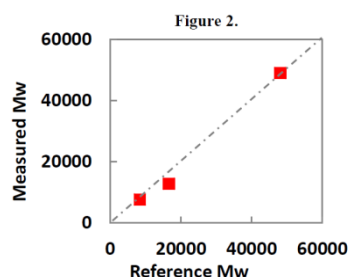


図 3: PS のメーカー公表値の平均分子量と極限粘度測定により得られた平均分子量

■ 結論

m -VROC は迅速かつ精度良く極限粘度が測定可能である。



米国 RheoSense 社日本販売代理店
日本ルフト株式会社

東京都台東区東上野 5-1-8 上野富士ビル
〒110-0015
TEL:03-3847-6880 FAX:03-3847-6890
http://www.nihon-rufuto.com