

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2008-1763  
(P2008-1763A)

(43) 公開日 平成20年1月10日(2008.1.10)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
CO8L 101/00 (2006.01)	CO8L 101/00	4F070
BO1J 20/24 (2006.01)	BO1J 20/24 C	4G066
CO8L 89/00 (2006.01)	CO8L 89/00	4J002
CO8J 3/28 (2006.01)	CO8J 3/28 CER	
	CO8J 3/28 CEZ	

審査請求 未請求 請求項の数 10 O L (全 12 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2006-171015 (P2006-171015)	(71) 出願人	504145364 国立大学法人群馬大学 群馬県前橋市荒牧町四丁目2番地
(22) 出願日	平成18年6月21日 (2006.6.21)	(71) 出願人	505374783 独立行政法人 日本原子力研究開発機構 茨城県那珂郡東海村村松4番地49
		(74) 代理人	100085372 弁理士 須田 正義
		(72) 発明者	土橋 敏明 栃木県足利市堀込町1002-28
		(72) 発明者	古澤 和也 群馬県前橋市広瀬町2丁目32-HE537

最終頁に続く

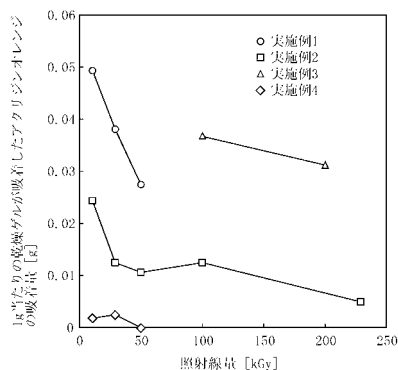
(54) 【発明の名称】 デオキシリボ核酸を安定に含むゲル組成物の製造方法及び該方法により得られたゲル組成物

(57) 【要約】

【課題】紫外線よりもより強度な放射線を用いることによって、DNAを安定に固定化した環境汚染物質の吸着担体を大量に生産することができる。

【解決手段】放射線照射によって架橋する性質を有する架橋型高分子をDNAと同時に又は別個に水又は緩衝液に添加混合して溶解することにより、架橋型高分子及びDNAの双方を含む混合高分子溶解液を調製する。この混合高分子溶解液に対して放射線を照射することにより、架橋型高分子からなる支持体にDNAが固定化されたゲル組成物を得る。

【選択図】 図3



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

放射線照射によって架橋する性質を有する架橋型高分子とデオキシリボ核酸の双方を水又は緩衝液に添加混合して溶解することにより、架橋型高分子及びデオキシリボ核酸の双方を含む混合高分子溶解液を調製する工程と、

前記混合高分子溶解液に対して放射線を照射することにより、デオキシリボ核酸を安定に含むゲル組成物を得る工程と

を含むことを特徴とするゲル組成物の製造方法。

## 【請求項 2】

放射線照射によって架橋する性質を有する架橋型高分子が、水溶性生体高分子及び水溶性生体高分子の誘導体からなる群より選ばれた 1 種の高分子又は 2 種以上の高分子の混合物であり、前記水溶性生体高分子及び水溶性生体高分子の誘導体が、タンパク質、変性タンパク質、ポリアミノ酸、多糖類及びそれらの誘導体からなる群より選ばれた 1 種の高分子又は 2 種以上の高分子の混合物である請求項 1 記載のゲル組成物の製造方法。

10

## 【請求項 3】

タンパク質及びその誘導体が、アルブミン、ゼラチン、リゾチーム、ミオシン、可溶性コラーゲン、ヘモグロビン、フィブログエン、フィブリン、カゼイン、フィブロネクチン、エラスチン、ケラチン、ラミニン又は大豆タンパク質であり、

ポリアミノ酸及びその誘導体が、ポリグルタミン酸、ポリアスパラギン酸又はポリ-

20

リジンであり、多糖類及びその誘導体がセルロース、デンプン、キチン・キトサン、アルギン酸、カラギーナン、寒天及びそれらの誘導体であり、

セルロース誘導体が、カルボキシメチルセルロース、カルボキシエチルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース又はヒドロキシプロピルメチルセルロースであり、

デンプン誘導体が、カルボキシメチルデンプン、カルボキシエチルデンプン、メチルデンプン、エチルデンプン、ヒドロキシプロピルデンプン又はヒドロキシプロピルメチルデンプンである請求項 2 記載のゲル組成物の製造方法。

## 【請求項 4】

混合高分子溶解液に照射する放射線が電子線、ガンマ線、ベータ線又はイオンビームである請求項 1 記載のゲル組成物の製造方法。

30

## 【請求項 5】

混合高分子溶解液に含まれるデオキシリボ核酸の濃度が 0.0001 重量% 以上かつ飽和濃度以下である請求項 1 記載のゲル組成物の製造方法。

## 【請求項 6】

混合高分子溶解液に含まれる水溶性生体高分子、水溶性生体高分子の誘導体又は水溶性生体高分子及び水溶性生体高分子の誘導体の混合物の濃度が 0.0025 重量% 以上かつ飽和濃度以下である請求項 2 又は 3 記載のゲル組成物の製造方法。

## 【請求項 7】

ゲル組成物を得る工程が、

調製した混合高分子溶解液を 2 枚のフィルムで挟む工程と、

前記混合高分子溶解液を挟んだフィルムを袋状に真空成型して袋状物内部に混合高分子溶解液を封入する工程と、

前記内部に混合高分子溶解液を封入した袋状物に対して放射線を照射することにより、袋状物内部にフィルム状ゲル組成物を形成する工程と

から構成される請求項 1 記載のゲル組成物の製造方法。

40

## 【請求項 8】

ゲル組成物を得る工程が、

調製した混合高分子溶解液を円筒状容器に充填する工程と、

前記混合高分子溶解液を充填した円筒状容器に対して放射線を照射することにより、前

50

記円筒状容器内部に円筒状ゲル組成物を形成する工程とから構成される請求項 1 記載のゲル組成物の製造方法。

【請求項 9】

請求項 1 ないし 8 いずれか 1 項に記載の方法により得られるゲル組成物。

【請求項 10】

組成物の形状がフィルム状、円筒状又は粒子状である請求項 9 記載のゲル組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、放射線の照射によって、デオキシリボ核酸を安定に含むゲル組成物を製造する方法と、この方法によって得られたゲル組成物に関するものである。 10

【背景技術】

【0002】

デオキシリボ核酸 (Deoxyribonucleic Acid; 以下、DNA という。) は二重らせん構造を持ち、このらせん構造には大きな溝 (major groove) と小さな溝 (minor groove) があり、内側には相補的な塩基対が積層されている。DNA の大きな溝及び積み重なった塩基対の間には、平面構造を有する化合物が選択的に吸着されることが知られている。このような吸着の機構のことをインターカレーション (intercalation) という。環境中や工業廃水などに存在する発がん物質や環境ホルモンなどの環境汚染物質の多くは、平面構造を持っている。従って、このインターカレーションという吸着機構を利用することによって環境中に存在する環境汚染物質を吸着除去することが可能である。 20

【0003】

このような応用を行うためには、DNA を水に対して不溶化しなければならない。従来技術では、濃厚な DNA の水溶液、乾燥薄膜、DNA の染み込んだ支持体への紫外線照射によって、DNA を固定化する方法によって DNA を不溶化していた (例えば、特許文献 1 参照。)。また、DNA の水溶液を金属イオン含有水溶液中に透析することによってゲル化させ、固定化する方法が既に考えられている (例えば、特許文献 2 参照。)。これらの DNA の不溶化技術を用いた環境汚染物質の吸着担体への応用が現在進められている。

【特許文献 1】特開 2001-81098 号公報 (特許請求の範囲、[0019]、[0022]) 30

【特許文献 2】国際公開第 2006/025244 号パンフレット

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

しかしながら、上記特許文献 1 に示されるような紫外線照射を用いる場合、反応に時間がかかるため大量生産には不向きであり、また紫外線は透過能が低いため、成形性が悪いという不都合があった。一方金属イオンによるゲル化では、水中で金属イオンが溶出することによるゲルの品質低下が問題となっている。

【0005】

本発明の第一の目的は、紫外線よりもより強度な放射線を用いることによって、DNA を安定に固定化した環境汚染物質の吸着担体を大量に生産し得る、DNA を安定に含むゲル組成物の製造方法及び該方法により得られたゲル組成物を提供することにある。 40

本発明の第二の目的は、従来技術で問題となっていた環境浄化材料の環境中における安定性の問題を解決することができる、DNA を安定に含むゲル組成物の製造方法及び該方法により得られたゲル組成物を提供することにある。

本発明の第三の目的は、環境浄化材料を製造する過程において、放射線照射によって引き起こされる DNA の劣化を出来るだけ低減することができる DNA を安定に含むゲル組成物の製造方法及び該方法により得られたゲル組成物を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0006】

DNAは放射線照射によって分解してしまう高分子である。そのためDNAのみからなる吸着担体を放射線照射によって調製することは難しい。しかしながらDNAは数多くの生体高分子と複合体を形成することが知られており、このような生体高分子とDNAとの複合体を調製し、この複合体に対して放射線照射することにより、生体高分子を支持体としてDNAが固定化されたゲル組成物を製造できることを見出した。このように製造したゲル組成物は、DNAの劣化が低く、安定に固定化され、しかも架橋剤を使用していないため、極めて毒性がない。従って、環境浄化材料への応用が期待される。

【発明の効果】

【0007】

本発明によるゲル組成物の製造方法では、放射線によって架橋する性質を有する架橋型高分子とDNAの双方を水又は緩衝液に添加混合して溶解することにより、架橋型高分子及びDNAの双方を含む混合高分子溶解液を調製し、この混合高分子溶解液に対して放射線を照射することにより、DNAを安定に含むゲル組成物が得られる。このように、紫外線よりもより強度な放射線を用いることによって、DNAを安定に固定化した環境汚染物質の吸着担体を大量に生産することができる。また、放射線照射を、高分子とDNAとの複合体に対して行うため、DNAのみからなる吸着担体を放射線照射してゲル組成物を製造する場合に比べて、DNAの劣化を大幅に低減することができる。このようにして得られたゲル組成物は、水に対して不溶性となり、更に、架橋ゲル支持体にDNAが固定化されていることから、環境中に存在する発がん物質や環境ホルモンを吸着除去するのに適した材料である。

10

20

【0008】

架橋型高分子としては、水溶性生体高分子及び水溶性生体高分子の誘導体からなる群より選ばれた1種の高分子又は2種以上の高分子の混合物が好適であり、このゲル組成物の製造方法において、混合高分子溶解液に含まれる水溶性生体高分子等の濃度を調製することによって、形成されるゲルの弾性率や膨潤特性、生分解性などの物性を制御することが可能である。また混合高分子溶解液に含まれるDNAの濃度を調製することによって、吸着担体1g当たりの環境汚染物質の吸着量を制御することが可能である。

【発明を実施するための最良の形態】

【0009】

以下、本発明の最良の形態について説明する。

30

【0010】

本発明の製造方法によって提供されるゲル組成物の主原料は、放射線照射によって架橋する性質を有する架橋型高分子とDNAとから成る。この架橋型高分子とDNAの双方を水又は緩衝液に添加混合して溶解することにより、混合高分子溶解液を調製する。緩衝液としては、リン酸緩衝液、TE(tris-HCl-EDTA)緩衝液、HEPES緩衝液等が挙げられる。緩衝液を使用することでDNAの二重らせん構造を安定化するなどの効果が得られる。放射線照射によって架橋する性質を有する架橋型高分子としては、水溶性生体高分子及び水溶性生体高分子の誘導体からなる群より選ばれた1種の高分子又は2種以上の高分子の混合物が好適である。具体的には、水溶性生体高分子及び水溶性生体高分子の誘導体としては、タンパク質、変性タンパク質、ポリアミノ酸、多糖類及びそれらの誘導体などが挙げられる。タンパク質としてはアルブミン、ゼラチン、リゾチーム、ミオシン、セリシン、可溶性コラーゲン、ヘモグロビン、フィブロゲン、フィブリン、カゼイン、フィブロネクチン、エラスチン、ケラチン、ラミニン、大豆タンパク質、卵白タンパク質、乳清タンパク質等やそれらの誘導体が挙げられる。変性タンパク質としては、熱変性コラーゲンが挙げられる。多糖類及びその誘導体としては、セルロース、デンプン、キチン・キトサン、アルギン酸、カラギーナン、寒天及びそれらの誘導体等が挙げられる。セルロース誘導体としては、カルボキシメチルセルロース、カルボキシエチルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース等が挙げられ、カルボキシメチルセルロースが好ましい。デンプン誘導体としては、カルボキシメチルデンプン、カルボキシエチルデンプン、メチルデ

40

50

ンブ、エチルデンブ、ヒドロキシプロピルデンブ、ヒドロキシプロピルメチルデンブ等が挙げられる。またポリアミノ酸及びその誘導体としては、ポリグルタミン酸、ポリアスパラギン酸、ポリ- - リジン等が挙げられる。これらの水溶性生体高分子及びその誘導体は複数組み合わせてもよい。

#### 【0011】

混合高分子溶解液に含まれる水溶性生体高分子、水溶性生体高分子の誘導体又は水溶性生体高分子及び水溶性生体高分子の誘導体の混合物の濃度は0.0001重量%～飽和濃度の範囲内が好適である。このうち、0.0025重量%～40重量%の範囲内が好ましく、10重量%～20重量%の範囲内が特に好ましい。好適な濃度を上記範囲内としたのは、下限値未満では、放射線照射によってゲル化するが200メッシュより小さいサイズのものは分離できず、目視できなかつたため、ゲル化していないとされたり、ゲル化する場合においてもゲルが脆くなるなどの不都合が生じるためである。上限値を越えると、ゲル化が起こり難くなり、ゲル化が起こる場合においては、十分ゲル化するために高線量の放射線照射が必要になり、それに伴って、同時に混合されるDNAへの損傷が懸念されるなどの不都合が生じるためである。上限値を越えるような高濃度において、ゲル化が起こらない原因については、放射線照射による高分子のゲル化には、水の放射線照射による分解によって生じるヒドロキシラジカルの生成が重要であり、水分の量が減るとこのヒドロキシラジカルの生成量が少なくなり、ゲル化が起こりにくくなるためである。またマイクロサイズ～ナノサイズの粒子状ゲル組成物を作製する場合は、10重量%以下の濃度が好ましく、0.0001重量%～0.001重量%がより好ましい。混合高分子溶解液に含まれる水溶性生体高分子等の濃度を調整することにより、形成されるゲル組成物の弾性率や膨潤特性、生分解性などの諸物性を制御することが可能となる。

10

20

#### 【0012】

DNAとしては、水に可溶性水溶性DNAが好適である。水溶性DNAとしては、一本鎖のDNA又は二本鎖DNA、例えば魚類の精巢又は動物の胸腺から得られるDNAが挙げられる。具体的にはサケやニシン、タラの白子(精巢)などから得られるものが好ましい。また、哺乳動物や鳥類、例えばウシ、ブタ、ニワトリ等の胸腺から得られるものが好ましい。またその他、合成DNA、特に(dA)-(dT)の塩基対を持つDNA配列、特に例えばpoly(dA)-poly(dT)型の配列を持つDNAであってもよい。

#### 【0013】

混合高分子溶解液に含まれるDNAの濃度は、0.000025重量%～飽和濃度までの範囲内が好適である。このうち、0.0001～0.5重量%濃度が特に好ましい。基本的に、DNA濃度が高いほど高い吸着効率が望める。DNAの濃度を調整することにより、吸着担体1g当たりの環境汚染物質の吸着量を制御することが可能となる。

30

#### 【0014】

調製した混合高分子溶解液に対して放射線を照射することにより、DNAを安定に含むゲル組成物が得られる。本発明で放射線を使用したのは、紫外線よりも高エネルギーで透過能が高いため、短時間でなおかつ安定にゲル組成物を得ることが可能なためである。混合高分子溶解液に照射する放射線の種類としては、重イオン線、アルファ線、ベータ線即ち電子線、ガンマ線、X線などの電離性放射線を利用する。重イオン線などの大きな粒子を照射する場合、成形体の構造にむらが出るなどして物性に対する不都合が生じる点から適さず、好ましくは、工業的に良く用いられる電子線やガンマ線などがこの方法に適している。

40

#### 【0015】

製造過程において照射される放射線の線量は組み合わせる水溶性生体高分子及びその誘導体の種類によって若干異なるが、目的物を成形するためには5kGy～250kGyの範囲内で選ばれ、好ましくは10kGy～200kGyである。照射線量を5kGy～250kGyの範囲内に限定したのは、この範囲内より低線量では、ゲル化が起こらなかつたり、また起こる場合でもゲル化が不十分であるなどして、機械的物性や生分解性などの安定性が低下するなどし、この範囲内より高線量では、一度出来たゲルの網目が更なる放

50

射線照射によって分解され、機械的物性や生分解性に欠陥が生じたり、同時に混合されるDNAへの損傷がより深刻なものになり、目的の吸着効率が得られなくなるなどの不都合が生じるためである。

#### 【0016】

混合高分子溶解液に放射線照射することで得られるゲル組成物は、架橋型高分子が架橋して、DNAを安定に固定化するための支持体となり、また水に対して不溶性となる。本発明で得られるゲル組成物は、DNAが支持体に固定化されていることから、環境中に存在する発がん物質や、環境ホルモンを吸着除去するのに適した材料として好適である。また全ての原料が生体適合性に優れていることから、経口投与等によって生体内中の発がん物質を選択的に吸着除去することが可能なゼリー状の機能性食品への応用も期待できる。

10

#### 【0017】

本発明によって提供されるゲル組成物の形態は三次元的構造を有し、かつ放射線照射時の製法を工夫することにより、チューブ状やビーズ、フィルムといった様々な形状をとることが可能である。そのうち、特に有用な形状は、フィルム状、円筒状、粒子状である。以下に、本発明のゲル組成物について、上記形状を有するゲル組成物の製造方法を示すが、本発明の製造方法により得られるゲル組成物はこれらの形状のみに限定されるものではない。

#### 【0018】

##### (a) 形状がフィルム状のゲル組成物の製造方法

放射線照射によって架橋する性質を有する架橋型高分子として水溶性生体高分子であるゼラチンを用い、これをDNAとともに超純水に溶かしたものに対してガンマ線照射を行う例について説明する。

20

まずゼラチンを超純水に溶解する。このとき調製するゼラチン水溶液の濃度は5重量%～30重量%の範囲内において選択され、好ましくは10重量%～30重量%である。ゼラチンの濃度が範囲内より下回ると、ゲルが形成され難くなったり、ゲル化したとしても機械的物性が脆くなるなどし、範囲内を上回ると、溶液の粘度が上昇するためにDNA水溶液との混合が不均一になったりするなどの不都合が生じる。この調製したゼラチン水溶液を第1水溶液とする。一方で、DNAを超純水に溶解する。調製するDNA水溶液の濃度は0.25重量%～飽和濃度の濃度範囲内である。DNAの濃度がこの範囲内より下回ると、目的とする環境汚染物質の吸着効率が得られなかったり、放射線の照射によって全

30

て分解されてしまったりするなどの不都合が生じる。この調製したDNA水溶液を第2水溶液とする。

#### 【0019】

次に第1水溶液及び第2水溶液をそれぞれ40℃に加熱して完全にゾル化した後、このゾル化した第1水溶液と第2水溶液とを所望の割合で混合する。第1水溶液と第2水溶液を混合した際に、DNAとゼラチンの複合体が形成されて、白い沈殿を生じるが、この沈殿が溶液に溶解して均一になるまで攪拌し続けることにより、混合高分子溶解液が得られる。このようにして調製したDNA及びゼラチンの双方を含む混合高分子溶解液を、ゾル状態のまま、PET (polyethylene terephthalate) 製の2枚のフィルムに挟み、さらにプレス成形機を用いて、混合高分子溶解液を挟んだフィルムを0.1mm～10mmの厚

40

さの袋状に真空成型して袋状物内部に混合高分子溶解液を封入する。内部に混合高分子溶解液を封入した袋状物に対してガンマ線を10kGy～250kGyの範囲内の照射線量で照射することにより、袋状物内部に放射線によって架橋した高分子ゲルを支持体としてDNAが固定化されたフィルム状のゲル組成物を形成することができる。ガンマ線の照射線量が下限照射線量を下回ると、ゲルが形成され難く、上限照射線量を上回ると、一度形成されたゲルの構造に、さらにガンマ線が照射されることによってゲル構造の破壊が起

#### 【0020】

##### (b) 形状が円筒状のゲル組成物の製造方法

放射線照射によって架橋する性質を有する架橋型高分子として水溶性生体高分子である

50

ゼラチンを用い、これをDNAとともに超純水に溶かしたものに対してガンマ線照射を行う例について説明する。

まず上記(a)の製造方法と同様の方法により調製したゼラチン水溶液とDNA水溶液をそれぞれ第1水溶液及び第2水溶液として用意し、上記(a)の製造方法と同様の手法により第1水溶液と第2水溶液を所望の割合で混合し、均一になるまで攪拌し続けることにより、混合高分子溶解液を得る。このように調製したDNA及びゼラチンの双方を含む混合高分子溶解液を、ゾル状態のまま、円筒状容器に充填する。円筒状容器の材質としては、放射線照射でも劣化せず、かつ放射線を透過させる材質が使用される。具体的には、ポリプロピレン製の円筒状容器が好ましい。このDNA及びゼラチンの双方を含む混合高分子溶解液を充填した円筒状容器に対して、ガンマ線を10kGy~250kGyの範囲内の照射線量で照射することにより、円筒状容器内部に放射線によって架橋した高分子ゲルを支持体としてDNAが固定化された円柱状のゲル組成物を形成することができる。ガンマ線の照射線量が下限照射線量を下回ると、ゲルが形成され難く、上限照射線量を上回ると、一度形成されたゲルの構造に、さらにガンマ線が照射されることによってゲル構造の破壊が起こって物性が低下するなどの不都合が生じる。

10

#### 【0021】

(c) 形状がナノサイズ粒子状のゲル組成物の製造方法

放射線照射によって架橋する性質を有する架橋型高分子として水溶性生体高分子であるゼラチンを用い、これをDNAとともに超純水に溶かしたものに対してガンマ線照射を行う例について説明する。

20

まずゼラチンの水溶液を超純水に溶解する。このとき調製するゼラチン水溶液の濃度は0.0005重量%~1.0重量%の範囲内において選択され、好ましくは0.0025重量%~0.01重量%である。この調製したゼラチン水溶液を第1水溶液とする。一方で、DNAを超純水に溶解する。調製するDNA水溶液の濃度は0.00025重量%~0.05重量%の濃度の範囲内である。この調製したDNA水溶液を第2水溶液とする。

#### 【0022】

次に第1水溶液及び第2水溶液をそれぞれ40℃に加熱して完全にゾル化した後、このゾル化した第1水溶液と第2水溶液とを所望の割合で混合する。第1水溶液と第2水溶液を混合した際に、DNAとゼラチンの複合体が形成されて、白い沈殿を生じるが、この沈殿が溶液に溶解して均一になるまで攪拌し続けることにより、混合高分子溶解液が得られる。このようにして調製したDNA及びゼラチンの双方を含む混合高分子溶解液に対して、ガンマ線を10kGy~250kGyの範囲内の照射線量で照射することにより、溶解液中に放射線によって架橋した高分子ゲルを支持体としてDNAが固定化されたナノサイズ状のゲル組成物を形成することができる。

30

#### 【実施例】

#### 【0023】

次に本発明の実施例を比較例とともに説明するが、本発明はこれらの実施例のみに限定されるものではない。

#### 【0024】

<実施例1>

40

放射線照射によって架橋する性質を有する架橋型高分子として、多糖類誘導体であるカルボキシメチルセルロース(CMC)を、DNAとして平均塩基対数10kbpのサケ白子由来のDNAをそれぞれ用意した。また、直径1cm、高さ5cmのポリプロピレン製円筒状容器を用意した。この2種の高分子を超純水にCMCの濃度が10重量%、DNAが0.25重量%になるようにそれぞれ添加混合し、ハイブリッドミキサー(株式会社キーエンス社製;HM-500)を用いて、均一なペースト状混合高分子溶解液を調製した。調製したペースト状混合高分子溶解液を複数の円筒状容器に充填し、この混合高分子溶解液を充填した円筒状容器に対して5kGy、10kGy、15kGy、30kGy及び50kGyの照射線量のガンマ線を照射した。

#### 【0025】

50

## &lt; 実施例 2 &gt;

架橋型高分子として、変性タンパク質であるブタの表皮由来のゼラチンと平均塩基対数 10 k b p のサケ白子由来 DNA をそれぞれ用意した。ブタの表皮由来のゼラチンを超純水に対して 20 重量% の濃度となるように溶解してゼラチン溶解液を調製した。一方で、サケ白子由来 DNA を超純水に対して 0.5 重量% の濃度となるように溶解して DNA 溶解液を調製した。この 2 種の高分子溶解液を 40 ℃ に加熱した後、等量比となるように混合した。これによってゼラチンが 10 重量% 濃度、DNA が 0.25 重量% 濃度の混合高分子溶解液を調製した。調製した混合高分子溶解液を実施例 1 で使用した複数の円筒状容器に充填し、この混合高分子溶解液を充填した円筒状容器に対して 10 k G y、30 k G y、50 k G y、100 k G y 及び 230 k G y の照射線量のガンマ線を照射した。

10

【0026】

## &lt; 実施例 3 &gt;

ブタの表皮由来のゼラチンの代わりに牛血清アルブミン ( B S A ) を用いた以外は実施例 2 と同様にして混合高分子溶解液を調製した。調製した混合高分子溶解液を実施例 1 で使用した複数の円筒状容器に充填し、この混合高分子溶解液を充填した円筒状容器に対して 100 k G y 及び 200 k G y の照射線量のガンマ線を照射した。

【0027】

## &lt; 実施例 4 &gt;

ブタの表皮由来のゼラチンの代わりに塩化 0-[2-ヒドロキシ-3-(トリメチルアンモニオ)プロピル]ヒドロキシエチルセルロース ( カチナール ) を用いた以外は実施例 2 と同様にして混合高分子溶解液を調製した。調製した混合高分子溶解液を実施例 1 で使用した複数の円筒状容器に充填し、この混合高分子溶解液を充填した円筒状容器に対して、5 k G y、10 k G y、30 k G y、50 k G y、100 k G y 及び 200 k G y の照射線量のガンマ線を照射した。

20

【0028】

## &lt; 比較例 1 &gt;

実施例 1 で使用したものと同様のサケ白子由来の DNA を超純水中に 0.25 重量% 濃度になるように添加混合し、DNA 溶解液を調製した。即ち、この溶解液には架橋型高分子は含まれていない。続いて、この調製した DNA 溶解液を実施例 1 で使用した複数の円筒状容器に充填し、この DNA 溶解液を充填した円筒状容器に対して、5 k G y、10 k G y、30 k G y、50 k G y、100 k G y 及び 200 k G y の照射線量のガンマ線を照射した。

30

【0029】

## &lt; 比較試験 1 及び評価 &gt;

実施例 1 ~ 4 及び比較例 1 によって得られたゲル組成物を 50 ℃ の超純水中に 2 日間浸漬し、水に不要であるものがあるかどうかを調べた。実施例 1 ~ 4 及び比較例 1 においては 2 日間 50 ℃ の超純水中に浸けた結果、水に不要でなおかつ指で触れた際に弾性を持つ成分が確認された。このことから、実施例 1 ~ 4 においては、放射線照射によって熱に対して安定な放射線架橋ゲルが得られたことがわかった。一方比較例 1 についてはこのような成分は確認されなかった。このことから、目的とする放射線架橋ゲルを得るためには、適切な照射線量が必要なこと、また適した架橋型水溶性生体高分子およびこの誘導体を選ぶ必要があることがわかる。これらのことを以下の表 1 にまとめた。

40

【0030】



【表 1】

	放射線架橋ゲル形成の有無
実施例 1	有
実施例 2	有
実施例 3	有
実施例 4	有
比較例 1	無

10

## 【0031】

< 比較試験 2 及び評価 >

比較試験 1 によって不溶化した成分が確認された実施例 1 ~ 4 で得られたゲル組成物について、ゲル分率及び膨潤特性の評価を行った。

## 【0032】

ゲル分率の測定は次のようにして行った。まず得られた各ゲル組成物を凍結乾燥し、その乾燥重量を測定した。この乾燥重量を初期乾燥重量  $W_i$  とした。次に、50 の超純水中に乾燥したゲル組成物を浸漬し、水に可溶性成分を完全に抽出した。水に可溶性成分を抽出した後のゲルを再度凍結乾燥し、再び乾燥重量を測定した。2 度目の測定の乾燥重量をゲルの乾燥重量  $W_n$  とした。この初期乾燥重量  $W_i$  及びゲルの乾燥重量  $W_n$  から次式で定義されるゲル分率を求めた。

20

## 【0033】

$$\text{ゲル分率}(\%) = (\text{ゲルの乾燥重量} / \text{初期乾燥重量}) \times 100 = (W_n / W_i) \times 100$$

このようにして測定した実施例 1 ~ 4 で得られたゲル組成物のゲル分率の照射線量依存性を図 1 に示す。図 1 から明らかなように、製造の際に照射する線量の増加とともに、ゲル分率は急激に増大する傾向が見られた。ブタ表皮由来のゼラチンを用いた実施例 2 のゲル組成物の場合、ゲル化に必要な線量より低線量（実施例においては 5 kGy 以上の線量）では、ゲル化が起こっていないことが確認された。また、実施例 3 のゲル組成物の場合、放射線架橋ゲルを得るためには、50 kGy 以上のガンマ線を照射しなければならない。さらに実施例 4 のゲル組成物の場合、照射線量が高すぎると逆にゲル分率が低下するなどの傾向が見られた。

30

## 【0034】

膨潤特性の評価は、1 g の乾燥したゲル組成物を水に浸漬して膨潤したときの水の重さで評価した。実施例 1 ~ 4 のゲル組成物における膨潤特性の評価の結果を図 2 に示す。図 2 を見ると明らかなように、どの実施例においても、照射線量の増加とともに、膨潤比が急激に低下していくことがわかった。

## 【0035】

< 比較試験 3 及び評価 >

40

実施例 1 ~ 4 で得られたゲル組成物について、発がん物質のひとつであるアクリジンオレンジの吸着性能を調べることで環境浄化材料としての性能を評価した。

## 【0036】

吸着性能の評価は、乾燥したゲル組成物 1 g が吸着したアクリジンオレンジの量で行った。具体的には、100  $\mu\text{g} / \text{ml}$  濃度のアクリジンオレンジ水溶液 10 ml に、実施例 1 ~ 4 の乾燥したゲル組成物を 0.01 ~ 0.02 g 添加し、室温にて 1 週間放置して、ゲル組成物にアクリジンオレンジを吸着させた。吸着されたアクリジンオレンジの量は、上澄み液の吸光度測定を行い、アクリジンオレンジの濃度標準曲線を用いて上澄み液中のアクリジンオレンジの濃度を測定することにより定量した。吸着性能の照射線量依存性を図 3 に示す。

50

## 【 0 0 3 7 】

図 3 から明らかなように、製造の際の照射線量の増加とともに、吸着性能は急激に低下する。特に C M C ではその傾向が強い。ゼラチンや牛血清アルブミンを使用した実施例 1 や実施例 3 においては、その傾向が弱いため、D N A をタンパク質が保護しながらゲル化していると推測される。実施例 1 ~ 4 で得られたゲル組成物について、照射線量依存性において最大のアクリジンオレンジの吸着性能を示す時の、D N A 一塩基対当たり吸着されたアクリジンオレンジを表 2 に示す。

## 【 0 0 3 8 】

## 【表 2】

	一塩基対当たり吸着される アクリジンオレンジの数
実施例 1	3.6
実施例 2	1.8
実施例 3	2.7
実施例 4	0.1

10

## 【 0 0 3 9 】

表 2 より明らかなように、実施例 1 ~ 4 のゲル組成物について、高い吸着性能が得られており、環境浄化材料としての応用が期待される。

## 【産業上の利用可能性】

## 【 0 0 4 0 】

本発明によって提供されるゲル組成物の製造方法によって、架橋型高分子からなる支持体中に D N A を安定に固定化することが可能になった。D N A は平面構造を有する環境汚染物質を選択的に吸着することが可能であるので、本発明によって提供される D N A が固定化されたゲル組成物は、環境浄化材料への応用が期待される。

## 【図面の簡単な説明】

## 【 0 0 4 1 】

【図 1】実施例 1 ~ 4 のサンプルのゲル分率の照射線量依存性。

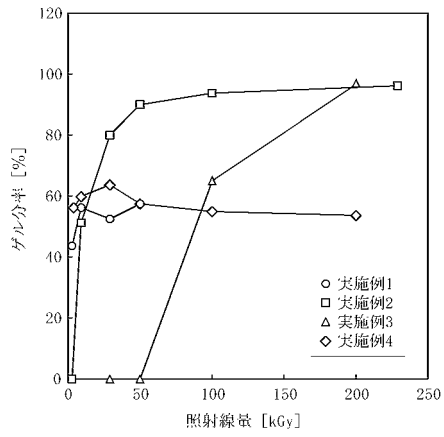
【図 2】実施例 1 ~ 4 のサンプルの膨潤比の照射線量依存性。

【図 3】実施例 1 ~ 4 のサンプル 1 g 当たり吸着されるアクリジンオレンジの照射線量依存性。

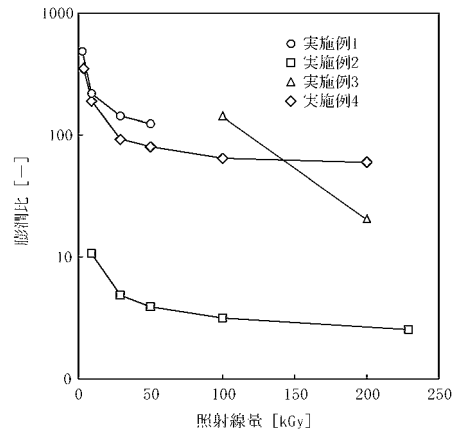
20

30

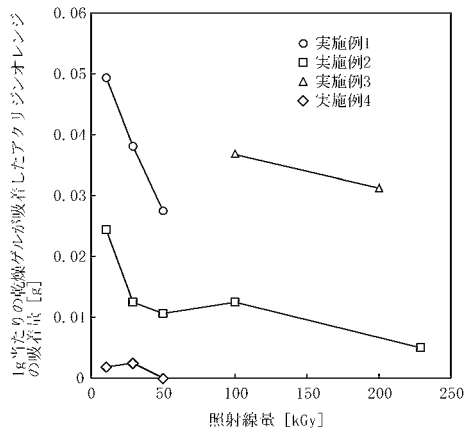
【 図 1 】



【 図 2 】



【 図 3 】



## フロントページの続き

(51) Int.Cl. F I テーマコード(参考)  
 C 0 8 J 3/28 C F J

(72)発明者 長澤 尚胤  
 群馬県高崎市綿貫町1 2 3 3 番地 独立行政法人日本原子力研究開発機構 高崎量子応用研究所内

(72)発明者 八木 敏明  
 群馬県高崎市綿貫町1 2 3 3 番地 独立行政法人日本原子力研究開発機構 高崎量子応用研究所内

(72)発明者 玉田 正男  
 群馬県高崎市綿貫町1 2 3 3 番地 独立行政法人日本原子力研究開発機構 高崎量子応用研究所内

F ターム(参考) 4F070 AA02 AA03 AA62 CB02 HA03 HA04 HB03 HB14  
 4G066 AB26A AB27A AC01A AC02A AC03A AC06A BA28 CA21 DA08 FA03  
 FA07 FA31  
 4J002 AB011 AB031 AB041 AB051 AD001 AD002 AD011 AD021 AD031 HA04