

VII-16

病原ウイルス吸着モデルを用いた病原ウイルス吸着現象の特性評価

東北大学 学生員 ○佐野 大輔
アジア工科大学院 正会員 福士 謙介
東北大学 正会員 大村 達夫

1. はじめに

都市域における水資源の逼迫により水利用の効率化が望まれている現在、都市域内における高度水循環システムの構築が望まれている。高度水循環システムの構築は、水資源枯渇問題を抜本的に解決するものとして注目されている。

しかしながら、下水にはヒトのふん便に由来する病原微生物が含まれており、それが下水処理過程においても不活化、除去されずに下水処理水へ混入する可能性がある。特に病原ウイルスに関してはその動態がほとんど理解されていない。下水処理過程において、ほとんどの病原ウイルスは下水汚泥に吸着するものの、下水処理水からも検出されることが報告されている¹⁾。人間に対する病原性が明らかである腸管系ウイルスについては、下水処理水中における動態を明らかにする必要がある。

下水処理水中における病原ウイルスの動態を把握するために最も重要であるのはウイルスの吸着現象の理解であるが、そのためにはウイルス表面特性を把握する必要がある。なかでも表面電位では吸着現象を議論する上で重要であるが、これまで環境中での挙動を解明する目的でウイルスの表面電位を評価する試みはほとんど行われてこなかった。そこで、本研究ではギブスの吸着等温式を拡張した病原ウイルス吸着モデルの構築を行い、そのモデルを用いてウイルス粒子の表面電位評価を行うことを目的とした。

2. ウイルス吸着モデル

2.1 基礎モデル式

吸着子を一樣に負荷電した巨視的な球形粒子、吸着対象物質（以下吸着材）を一樣に負荷電した巨視的な平面と仮定する。吸着子と吸着材との間に正吸着が生じているとき、表面過剰量 Γ は次のギブスの吸着等温式として表される。

$$\Gamma = -\frac{C_s}{RT} \frac{\partial \sigma}{\partial C_s} \quad (1)$$

ここで C_s は吸着材表面近傍の吸着子濃度、 R は気体定数、 T は絶対温度、 σ は溶媒の表面張力である。

Roth らは表面過剰量 Γ を次式で表現した²⁾。

$$\Gamma = \iiint (C - C_b) dV \quad (2)$$

ここで C は任意の場所の溶質濃度、 C_b はバルク相の溶質濃度である。吸着材は任意の法線方向に一樣と考えることにより、式(3)は次のように書ける。

$$C_s = \int_0^\infty (C - C_b) dz \quad (3)$$

ここで、ボルツマン分布を導入することにより式(3)は次のように書ける。

$$C_s = C_b \int_0^\infty (e^{-\Delta G_{ads}/kT} - 1) dz \quad (4)$$

ここで ΔG_{ads} は吸着自由エネルギー、 k はボルツマン定数である。したがって、吸着平衡定数 K は次のように記述される。

$$K = \frac{C_s}{C_b} = \int_0^\infty (e^{-\Delta G_{ads}/kT} - 1) dz \quad (5)$$

2.2 吸着自由エネルギー

Oberholzer らは吸着自由エネルギー ΔG_{ads} が次のように記述できるとした³⁾。

$$\Delta G_{ads} = \Delta G_{ps}(el) + \Delta G_{ps}(vdw) + \Delta G_{dp} \quad (6)$$

ここで $\Delta G_{ps}(el)$ は吸着子-吸着材間静電的斥力ポテンシャルエネルギー、 $\Delta G_{ps}(vdw)$ は吸着子-吸着材間 van der Waals ポテンシャルエネルギー、 ΔG_{dp} は吸着状態の吸着子間静電的斥力ポテンシャルエネルギーである。

3. 実験方法

3.1 吸着実験

ガラス粒子を硫酸酸性過酸化水素水中で3時間浸し、精製水で繰り返し洗浄した。その後、ガラス粒子3gを50mlガラス瓶に入れ、バッファーで3回洗浄した後、バッファー30mlをガラス瓶に流し込んだ。次に、試料（バッファー中に分散させたポリオウイルス粒子）をガラス瓶に添加し、30分間振とうした。振とう後、上清をサンプリングし、上清中の試料濃度を測定した。ウイルスの定量に

は BGM 細胞を用いたブラック法を用いた。上清のサンプリングは振とう開始後 5 分ごとに 3 回行った。バッファーのイオン強度は NaCl により 1, 10, 100mM に調整し, pH は HCl と NaOH によって 3, 5, 7, 9, 11 に調整した。

これらの実験により, 各バッファー条件における吸着平衡定数 K の実験値が得られる。

3. 2 表面荷電評価

吸着平衡定数 K の実験値を用いることにより, 式 (5) からガラス-ウイルス間の相互作用プロファイルが推定される。理論上, ガラス粒子とウイルス粒子間の吸着における van der Waals 力の寄与はバッファー条件によらず一定なので, 推定された相互作用プロファイルから静電的相互作用プロファイルが得られる。洗浄後のガラス粒子表面は解離可能なヒドロキシル基を有する巨視的な一様表面と考えることができるので, 推定された静電的相互作用プロファイルから, 各バッファー条件におけるウイルス粒子の荷電状態を評価する。

4. 結果および考察

吸着子の濃度が十分に低い場合を想定すると, 式 (6) において吸着子間の静電的斥力ポテンシャルエネルギーは無視することができる。残りの吸着子-吸着材間ポテンシャルエネルギーの項を D.L.V.O.理論⁴⁾により算出し, 式 (5) から吸着平衡定数 K の理論値を得た。ただし, 吸着材表面において剛体球斥力ポテンシャル⁴⁾を仮定した。表 1 に D.L.V.O.相互作用ポテンシャルの算出に用いたパラメータを示した。

図 1 に, 吸着子と吸着材の表面電位が変化した場合の吸着平衡定数 K の変化を示した。バッファーのイオン強度が一定の時, バッファーの pH によって表面荷電が変化すると, 吸着平衡係数が大きく変化することがわかる。特に, ガラス表面とウイルス粒子表面が反対の荷電を有している場合と, 共に陽, もしくは負荷電を有している場合の平衡定数に大きな違いが出る。洗浄後のガラス表面は約 pH=3 の等電点を持つことが予想できるので, ウイルス粒子の等電点の前後で吸着平衡定数の実験値が大きく変化することになる。

ここに示した手法を用いることにより, ウイルスと夾雑物との吸着状態における表面荷電も評価することができる。今後, ウイルスと夾雑物の関係を視野に入れた実験を行っていく予定である。

表1 D.L.V.O相互作用の計算に用いた

パラメータの値		
パラメータ		パラメータ値
ガラス粒子	Stern電位 ψ_1 (mV)	-130~13
	Stern電位 ψ_2 (mV)	-65~65
ウイルス	半径 R (nm)	14
溶媒 (NaCl水溶液)	濃度 (mM)	150
	$1/\kappa$ (nm)	0.8
Hamaker定数	A (J)	1.0×10^{-20}
剛体球直径	σ (nm)	0.5

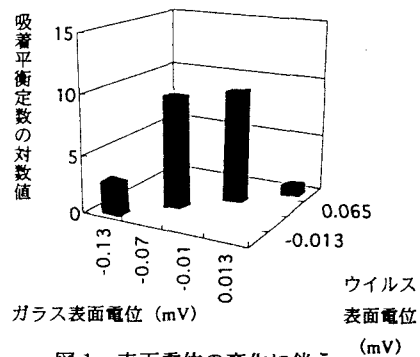


図 1. 表面電位の変化に伴う吸着平衡定数の変化

5. まとめ

本研究の結論を以下に示す。

- ・ポリオウイルス粒子の表面電位を評価する手法を提案した。
- ・提案した表面電位評価手法は環境水中の条件における病原ウイルス粒子の荷電状態を評価できるので, 病原ウイルスの環境中における動態を議論する上で重要な情報を与えるものである。

参考文献

- 1) 矢野ら, 1996. 首都圏で採取した環境水からのウイルス分離状況 (1985-1995 年). 東京都立衛生研究所研究年報 47 別冊, 47; 265-269.
- 2) Roth *et al.*, 1993. Electrostatic and van der Waals contributions to protein adsorption: computation of equilibrium constants, *Langmuir*, 9, 962-972.
- 3) Oberholzer *et al.*, 1999. Protein adsorption isotherms through colloidal energetics, *Langmuir*, 15, 3905-3914.
- 4) J. N. イスラエルアチヴィリ著, 近藤 保, 大島 広行訳, 分子間力と表面力, 第 2 版, 朝倉書店.