

VII-32

活性汚泥細菌から分離されたウイルス吸着タンパク質 (Virus-Binding Protein: VBP) とポリオウイルス粒子間の相互作用評価

東北大学大学院 学生員○佐野大輔
東北大学大学院 正会員 大村達夫

1. はじめに

水中病原ウイルスによる感染症は、衛生状態が改善されている本邦においても毎年のように報告が相次いでいる。また、従来から水系感染症発生件数に占める原因不明の胃腸炎発生件数の割合は大きい。この原因不明胃腸炎の大部分が水中病原ウイルスによるものである可能性があると言われている。今後、ウイルス検出技術の発達が進むにつれ、ウイルス被害は従来の認識を上回る規模で顕在化する可能性がある。

そのような背景のもと、本研究では活性汚泥細菌から分離されたウイルス吸着タンパク質 (Virus-Binding Protein: VBP) を用いた水中ウイルス除去技術の開発を目指している。この技術は、カラム中に充填された球形担体表面に固定化された VBP が水中ウイルスを捕捉し、ウイルスフリーの水資源が得られるというものである (図 1)。このような固定化タンパク質を、ある特定の水中物質の吸着除去に用いる手法はこれまでに前例が無く、実用化にあたっての検討事項は多岐にわたる。今回はその第一歩として、VBP に捕捉されたウイルス粒子をモデル化し、吸着除去に関するモデル化を行ったのでその内容を紹介する。

2. 水中ウイルスが受ける力

2. 1 仮定

①ウイルスの状態

代表的な水中ウイルスであるポリオウイルスやエンテロウイルスの外形は正二十面体であり、それを球形と見なしたときの直径は約 30nm である。この外形はポリオウイルスやエンテロウイルスが属するピコリナウイルス科に共通である。それに対して VBP の大きさは直径約 5nm 程度であると考えられたので、VBP に捕捉されたウイルスは図 2 (a) のように模式化できる。今回は図 2 (b) のように、直径 30nm の球が壁から 5nm の距離に一本のひもで留められていると仮定した。

②ウイルス除去カラム

ウイルス除去カラムの直径および高さを 1m と仮定する。また、VBP 固定化ガラス粒子の粒径を 1cm とする。

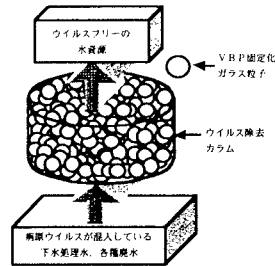


図 1. 固定化 VBP を用いた水中ウイルス除去技術の模式図

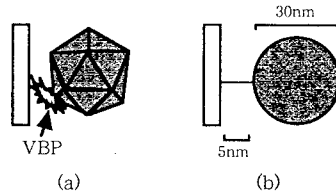


図 2. VBP に捕捉されたウイルスの模式図

③処理水

処理水は最終沈殿池からの越流水とする。処理水の温度は季節によって変動があるが、今回は 20℃ と仮定する。

カラム内ガラス粒子の後方にカルマン渦が生じる程度に処理水流量が増加すると、ガラス粒子やカラムの振動が生じてウイルス除去装置の破損につながるおそれがあるので、ガラス粒子の直径を代表的長さとしたときのレイノルズ数を 40 以下に設定する。20℃において水の動粘性係数は $1.0 \times 10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$ なので、レイノルズ数が 40 以下となるためにはカラム内の流速は $4.0 \times 10^{-3} \text{ m/s}$ 以下に設定する必要がある。このとき、ウイルス除去カラム運転時の処理水流量は、カラム一本あたり $3.4 \times 10^{-3} \text{ m}^3/\text{s}$ ($12 \text{ m}^3/\text{h}$) 以下である。

2. 2 水の流れから受ける力

処理水のカラム内流速が $4.0 \times 10^{-3} \text{ m/s}$ であるとき、ウイルスの直径を代表的長さとしたレイノルズ数は $Re = 1.2 \times 10^{-3}$ であるから、ウイルスに対してカラム内の水流はストークス流れである。ウイルスがガラス粒子上の VBP に捕捉されているとき、ウイルス粒子は

ガラス粒子表面から 50nm 以内の領域に存在するが、ガラス粒子表面に生じている層流境界層の厚さは数 μm 以上である。したがって、ウイルスの存在する領域においては直線的な流速分布を持つと仮定できる。

このような状況において、VBP に捕捉されているウイルス粒子がカラム内の水流から受ける力は、水流によって生じる抗力と揚力である。以下に、境界層の外側の流速が $4.0 \times 10^{-3} \text{ m/s}$ である流れにおいて VBP に捕捉されているウイルス粒子に作用する抗力と揚力の大きさをそれぞれ求める。

①抗力

流速分布を考慮した場合の抗力を表す式は Stamatakis らによって求められており、その式は

$$F_1 = 1.276 \pi \rho d^2 f U^2 \quad (1)$$

(ここで ρ は水の密度、 d は球の直径、 f は摩擦損失係数、 U は流速) である¹⁾。パラメータ値 (表 1) を代入すると、ウイルスが受ける抗力は $1.2 \times 10^{-11} \text{ N}$ となる。

②揚力

今回は以下の Vasseur らの式²⁾によって揚力を求めた。

$$F_2 = 0.01 \pi \mu f^2 U^4 d^4 / \nu^3 \quad (2)$$

ここで ν は動粘性係数である。数値 (表 1) を代入すると、ウイルスの受ける揚力は、 $2.7 \times 10^{-16} \text{ N}$ となる。

3. 3 静電的相互作用

ここではポリオウイルス-ガラス粒子間の静電的相互作用について考える。ガラス粒子 (硫酸酸性過酸化水素水で洗浄後) の表面電位については、ゼータ電位計を用いて測定し、pH7.0 において約 -80mV であることを確認した。それに対し、ポリオウイルスの表面電位は、外殻タンパク質のアミノ酸配列から pH7 において -31mV という推算値を得た。

次に、ウイルス粒子とガラス粒子の表面電位から、それらが 5nm 離れた位置にある場合の静電的相互作用力を求めた。静電ポテンシャル式³⁾を微分し、 $x = 5\text{nm}$ を代入すると、 $3.6 \times 10^{-12} \text{ N}$ を得た。

2. 4 特異的相互作用

一般にタンパク質間の特異的相互作用力を算出することは容易ではないが、今回は VBP とウイルス粒子が同じ大きさの平面を持ち、平面同士が接触したときの van der Waals 力の総和が特異的相互作用として考えた。

表1. 抗力および揚力の計算に用いたパラメータ値

パラメータ	記号	単位	値
水の密度	ρ	kg/m^3	1.0×10^3
水の動粘性係数	ν	m^2/s	1.0×10^{-6}
水の粘性係数	μ	$\text{kg/m} \cdot \text{s}$	1.0×10^{-3}
摩擦損失係数	f		$24/\text{Re} = 2.0 \times 10^5$

VBP とウイルス粒子が持つと仮定する平面の面積は、二つの球が接触したときの有効相互作用面積 (表面間で水分子が排除される面積) とした。VBP とウイルス粒子をそれぞれ半径 2.5nm, 15nm の球形と仮定すると、有効相互作用面積は、 1.35nm^2 となる。この有効接触面積で VBP とウイルスが接触していると、VBP とウイルス間に働く van der Waals 力は $4.5 \times 10^{-10} \text{ N}$ となった。

2. 5 力の相対的強さ

2.2~2.4 で示した力の種類と大きさを模式的に図 3 に示した。今回の計算結果から、ウイルス除去カラム中では水流から受ける力よりも静電的な相互作用が重要であるが、VBP-ウイルス間の特異的相互作用は静電的な斥力を上回る引力を発揮するという結論が得られた。

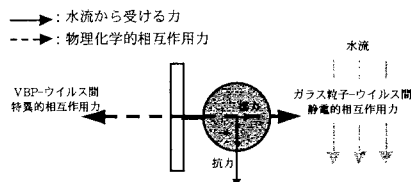


図3. VBPに捕捉されたウイルスが受ける力の釣り合い

3. おわりに

VBP がウイルスに対する特異的な結合能力を発揮すれば、ウイルス除去カラムによる水中ウイルス除去を安定して行うことが可能となると予想された。実際にカラムを作成して実験を行い、知見を得ていきたい。

参考文献

- 1) Stamatakis, K. and C. Tien. 1993. A simple model of cross-flow filtration based on particle adhesion. AICHE J., 39(8):1292-1302.
- 2) Vasseur, P. and R. G. Cox. 1976. The lateral migration of a spherical particle in two-dimensional shear flows. J. Fluid Mech., 78(2):385-413.
- 3) Israelachvili, J. N. 1991. Intermolecular and surface forces. Academic press. London.