



Title	有害化学物質吸着のための二重らせん構造を保持したDNA/ポリウレタンフォーム複合材料の開発
Author(s)	曾根, 弘昭; Sone, Hiroaki; 古月, 文志 他
Citation	分析化学, 58(1), 7-13 <a href="https://doi.org/10.2116/bunsekikagaku.58.7">https://doi.org/10.2116/bunsekikagaku.58.7</a>
Issue Date	2009-01-05
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/43841">https://hdl.handle.net/2115/43841</a>
Type	journal article
File Information	ugetsu_bunseki.pdf



## 技術論文

# 有害化学物質吸着のための二重らせん構造を保持した DNA/ポリウレタンフォーム複合材料の開発

曾根 弘昭<sup>®1</sup>, 古月 文志<sup>1</sup>, 田中 俊逸<sup>1</sup>

特異的な構造を有する二重らせん DNA は、主にインターカレーションと呼ばれる作用によって平面構造を有する有害化学物質を捕捉することが知られている。しかし、機械的強度の脆弱性や高い水溶性等の問題点があり、吸着材としての利用は長らく限定されていた。本研究において、DNA/ポリウレタン複合発泡材料 (DNA/PUCF) を作製することによって、二重らせん DNA をポリウレタンフォームに封入し、それらの問題点を解決した。作製した DNA/PUCF の吸着性能評価は、代表的な平面構造を有する有害化学物質 (臭化エチジウム、アクリジンオレンジ及びエオシン B) を用いて行われた。その結果、DNA/PUCF は陽イオン性である臭化エチジウム及びアクリジンオレンジに対して高い吸着能を示したが、陰イオン性であるエオシン B に対しては吸着能を示さなかった。この実験結果より、DNA 塩基対へのインターカレーションには、有害物質の持つ電荷が大きく寄与することが示された。更に、金属イオンの吸着実験を行ったところ、DNA/PUCF への吸着は、銀イオンは他金属イオンよりも親和性が高い結果を得た。DNA/PUCF を作製することによって、伸縮性があり、機械的強度が強く、耐久性及び利便性の高い、平面構造を有する陽イオン性有害化学物質除去材が得られた。

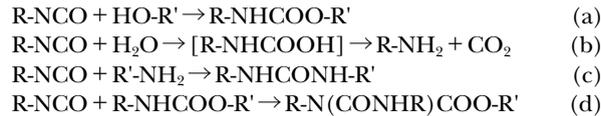
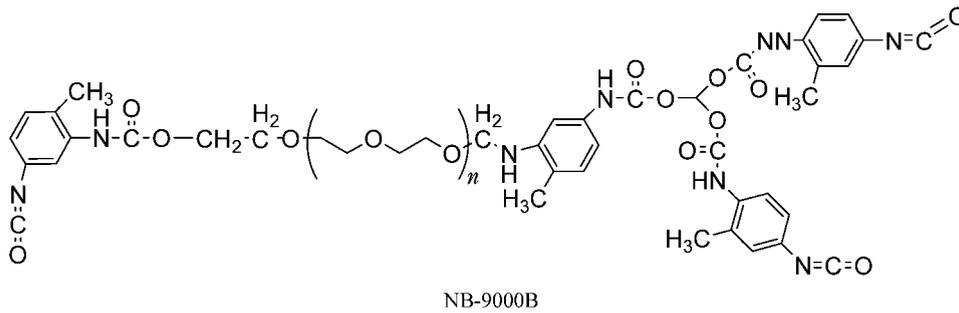
## 1 緒言

DNA はほとんどの生物にとって、最も重要な遺伝物質である。DNA の二重らせん構造が提唱されて以来<sup>1)</sup>、二重らせん構造の有する豊富な  $\pi$  電子や等間隔に連なった層状の塩基対など、その構造特性から得られる様々な機能が関心を集め続けている。分析化学の分野においては、その特異的な機能を利用して、様々な有害物質の除去及び検出方法に用いられている。近年のバイオテクノロジーの進歩によって、DNA を用いた迅速な分析手法が開発されるようになり、分析時間の短縮、大幅な感度の上昇などによって、特異的な検出手法となっている。例えば、DNA 電極はバイオセンサーの検出法のひとつとして、平面構造を有する化合物やウイルスの検出等に用いられている<sup>2)~4)</sup>。一方、環境浄化材料としても DNA の利用が注目され、金属イオン<sup>5)6)</sup> や平面構造を有する化合物<sup>7)~10)</sup> を DNA を用いて除去する技術についても研究が行われている。しかしながら、高い水溶性や生化学的な不安定さといった機能的な性質が、DNA を用いた環境浄化材料としての実用化に対する問題点となっている。これらの問題点を解決しつつ DNA の長所を利用するために、DNA をフィルム、ゲル、ビーズ、ファイバー及びカラムなどに組み込んだ複合材料が開発されてきた<sup>5)~14)</sup>。

本研究における目的は、DNA の二重らせん構造を保持したまま、ポリウレタンフォームに組み込むことによって、DNA の優れた特性を生かしつつ、機械的強度を飛躍的に上昇させることである。DNA の特異的な機能が保持されていることを確認するために、DNA と特異的に結合する有機及び無機物質を用いてモデル環境汚染水を調整し、吸着実験を行った。DNA は二重らせん構造に由来して、インターカレーション、らせんの溝への相互作用 (groove binding)、そして静電的な相互作用によって、対象物質を吸着することがよく知られている。インターカレーションは、平面型を有する有機化合物の DNA に及ぼす主な相互作用のひとつである<sup>14)15)</sup>。そこで、臭化エチジウム (ethidium bromide, EtBr) を DNA と相互作用する有機汚染物質のモデル化合物として用いた。EtBr は陽イオン性の平面型有機化合物であり、DNA の二重らせん構造にインターカレーションして安定な複合体を形成することが知られている。この EtBr と比較するために、同様に平面型有機化合物であり、同様にインターカレーターとして用いられるアクリジンオレンジ (acridine orange, AO) 及び静電的な性質が異なる化合物として、陰イオン性のエオシン B (eosin B, EB) の吸着実験も同様に行った。

また、DNA を用いた金属イオン (カドミウム、銅、マンガン及び銀) の吸着実験も行った。ほとんどの陽イオンは、DNA の持つリン酸部位に吸着することが知られているが<sup>16)</sup>、銀イオンはリン酸部位に対する相互作用のみな

<sup>1</sup> 北海道大学大学院環境科学院環境物質科学専攻: 060-0810 北海道札幌市北区北 10 条西 5 丁目



**Scheme 1** The structure of NB-9000B and PUF used for the forming reactions ; (a) chain extension reaction, (b) foam formation reaction, (c) chain extension reaction and (d) cross-link reaction

らず、プリンやピリミジン塩基対とも錯形成することが知られている<sup>17)~19)</sup>。

本研究では、DNA/ポリウレタンフォーム複合材料 (DNA/polyurethane composite foam, DNA/PUCF) を作製するとともに、有機物及び金属イオンのDNAに対する特異的な相互作用を利用して化学物質類のDNAへの吸着挙動を試験することによって、DNA/PUCFの性能評価を行った。

## 2 実験方法

### 2.1 試薬

二重らせんDNA (鮭白子由来Na型, 分子量100万以上) はバイオケム (神奈川) から、インターカレーション試薬として用いたEtBrはAcros Organic (New Jersey, USA) から、AO, EB, 硝酸銀, 硝酸カドミウム, 硫酸銅五水和物, 塩化マグネシウム四水和物及びアルギン酸ナトリウム (300~400 cp) は、和光純薬から購入した。インターカレーション試薬, 金属塩類及びアルギン酸ナトリウムは、すべて脱イオン水で濃度調製を行った。ポリウレタンフォーム (PUF) 及びDNA/PUCFの作製に用いたプレポリマーNB-9000Bはイノアックコーポレーション (名古屋) から提供された。

### 2.2 DNA/PUCFの作製

NB-9000Bの単量体は、非常に求核反応性の強いイソシアネート基を3つ有し、電気陰性度の大きいNやOに結合した水素 (活性水素) と反応する。本研究におけるPUFの作製は、NB-9000Bに水を混合させることによって、そのイソシアネート基と水に含まれる活性水素による反応が開始され、鎖延長反応 (ウレタン結合, 尿素結合生成), 発泡反応 (炭酸ガス放出による発泡), 架橋反応 (アロファネート結合生成) を通して進行する (Scheme 1)。DNA/

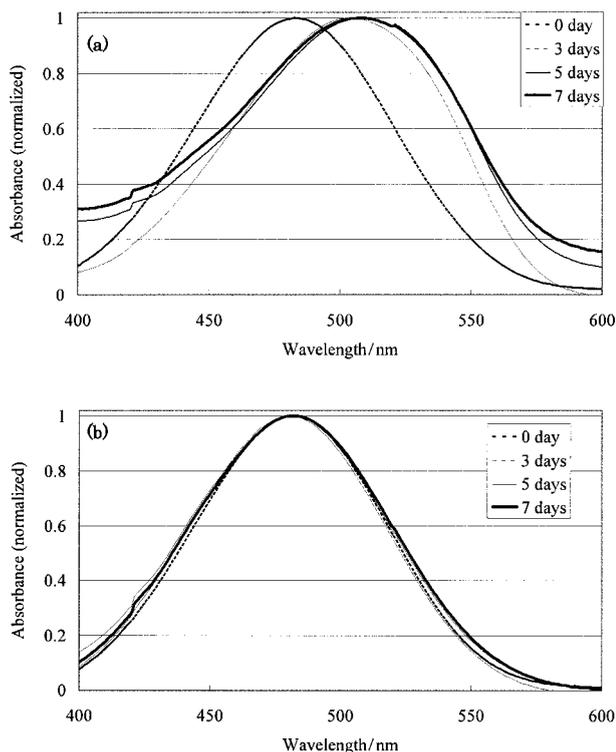
PUCFは、100 gのNB-9000Bと等重量の1.0% (w/v) DNA水溶液を混合し、ミキサーで約20秒間攪拌することによって反応が開始され、1晩室温にて放置して完全に反応を進行させることによって、簡便に得られた。作製したDNA/PUCFは、脱イオン水で洗浄後に凍結乾燥を行い、実験に使用した。DNA/PUCFとの比較対照として使用したPUFは、同様の操作をDNA水溶液の代わりに水を用いて作製した。

### 2.3 DNA/PUCFの構造分析

DNA/PUCFに含まれるDNA量は、原料であるDNAに含まれるリン量と比較することによって得られた。リンの定量は、DNA/PUCFとDNAをそれぞれ、硝酸/過塩素酸で分解後、ICPS-7000誘導結合プラズマ原子発光分析法 (ICP-AES, 島津製) を用いて行った。DNA, DNA/PUCF及びPUFの構造はFT/IR-460 Plusフーリエ変換赤外分光光度計 (FT-IR, JASCO製) を用いて分析を行った。

### 2.4 カルシウムで架橋されたアルギン酸ビーズの調製

本研究において作製されたDNA/PUCFとDNAの保持力を比較するために、IER-20カプセル作製装置 (スイス, イノテック製) を用いて、従来用いられてきたDNA内包アルギン酸ビーズを作製した。この装置を用いて、アルギン酸ナトリウムとDNAの混合水溶液をシリンジポンプを用いて押し込むことによって振動チャンバーへ導入する。このアルギン酸/DNA混合水溶液は、正確に直径200 μmに穴を開けられたサファイヤノズルを通過し、ノズル出口と同サイズの液滴に分離された。これらの液滴は更に、ノズルとO-リング電極に挟まれた静電場を通過することによって液滴表面が帯電された。液滴を硬化液 (架橋剤) である100 mmol/Lの塩化カルシウム水溶液へ滴下させるとき、静電的な反発力によって液滴が分散された。作製さ



**Fig. 1** UV-VIS spectra of EtBr solution spiked (a) ALG/DNA-beads and (b) DNA/PUCF

The concentration of ALG/DNA-beads constituent as aqueous alginate solutions before synthesis was 1.5 wt%. Then their concentrations of aqueous DNA solutions before synthesize for ALG/DNA-beads and DNA/PUCF were 0.5 and 1.0 wt%, respectively.

れたアルギン酸/DNA ビーズは脱イオン水によって洗浄し、100 μm のふるいを用いて分別・捕集した。このとき、作製されたビーズの平均粒径は 300 μm であった。

### 2.5 汚染モデル水溶液からの吸着実験

EtBr, AO, EB, 銅, カドミウム, マンガン及び銀イオンの吸着実験は、それぞれの塩を脱イオン水に溶解した7種の水溶液を調製することによって、汚染モデル水溶液を得た。吸着実験はいずれも、一片 0.10 g (約 1.5 × 1.0 × 0.5 cm の直方体) の DNA/PUCF を 50 mL 遠沈管 (ポリプロピレン製) に入れた 50 mL 汚染モデル水に浸漬させ、200 rpm で攪拌することによって、汚染モデル物質を吸着させた。このとき、100 μmol/L に調製した EtBr, AO, EB, 銀及び銅イオンは経時変化ごとに 1.5 mL ずつサンプリングを行い、測定に供した。また、初濃度を 25, 50, 75, 100, 125 及び 150 μmol/L に変化させた各個金属イオン吸着実験は、すべて完全に吸着平衡に達した後 (24 時間後) の濃度を測定した。

EtBr, AO 及び EB の吸着量は、V-570 紫外可視分光光度計 (JASCO 製) を用いて水溶液中の残存濃度を定量す

ることによって得られた。そのときの測定波長はそれぞれ 480, 490 及び 525 nm を用いて行った。金属イオンの吸着量は、水溶液中の残存濃度を ICP-AES を用いて定量することによって得られた。

## 3 結果と考察

### 3.1 アルギン酸/DNA ビーズと DNA/PUCF からの DNA 溶出試験

従来、DNA の水溶液中における吸着場への利用は、アルギン酸ゲルに DNA を内包させる手法が用いられてきた。しかし、機械的強度の脆弱性が指摘されており、DNA の持つ優れた性能を完全に利用することは困難であった。本報での DNA/PUCF からの DNA の溶出と比較するために、最初にアルギン酸ゲルに内包された DNA の溶出挙動を調べた。アルギン酸/DNA ビーズは、本研究においては 1.5 wt% アルギン酸/0.5 wt% DNA 水溶液を用いて作製し、脱イオン水で完全に洗浄した。EtBr は DNA にインターカレーションすると、紫外可視吸光スペクトル測定における吸収極大波長が 480 nm から長波長にシフトすることが知られているため、DNA 溶出試験は、1.0 g のアルギン酸/DNA ビーズ及び DNA/PUCF をそれぞれ 100 mL の脱イオン水に入れて攪拌した溶液を 2.0 mL 分取し、10 μmol/L の EtBr 水溶液 10 μL を添加した後に、これらの溶液のスペクトルを測定することによって評価した。これらの溶出試験結果を Fig. 1 に示す。Fig. 1 (a) より、アルギン酸/DNA ビーズからは、3 日以降からはスペクトルの吸収極大のシフトが現れたため、DNA がアルギン酸ビーズから溶出されたことが分かる。しかし、DNA/PUCF は 1 週間以上攪拌を続けたとしても、EtBr の吸収スペクトルにシフトは見られず、DNA の溶出はなかったものと思われる [Fig. 1 (b)]。本研究においては、DNA の二重らせんの直径は 20 Å であるのに対し、アルギン酸の網目サイズは 30 Å である<sup>20)</sup>。それゆえ、絡み合っていた DNA であっても、その先端が網目に進入することが可能であり、長時間攪拌をすることによって、徐々に溶出されたと考えられる。一方、ポリウレタンフォームは、以下のプロセスによって形成される (Fig. 2)<sup>21)</sup>。① 直径 2 Å 以下の高分子鎖 (polyol chain), ② polyol chain が直径及び結合長さ 30 ~ 50 Å の束を形成し、それらが幅 65 ~ 125 Å で凝集 (hard domains), ③ hard domains が 3000 Å 以下の凝集体 (urea ball) 形成, ④ urea ball が直径 2000 ~ 5000 Å 以下の共重合体粒 (copolymer particle) 形成, ⑤ copolymer particle が 1 つのセル (single cell) を形成する。本研究におけるポリウレタンフォームへの DNA の内包は、DNA の一部が ② における束に組み込まれることによって強固に固定されたため、溶出されなかったと考えられる。

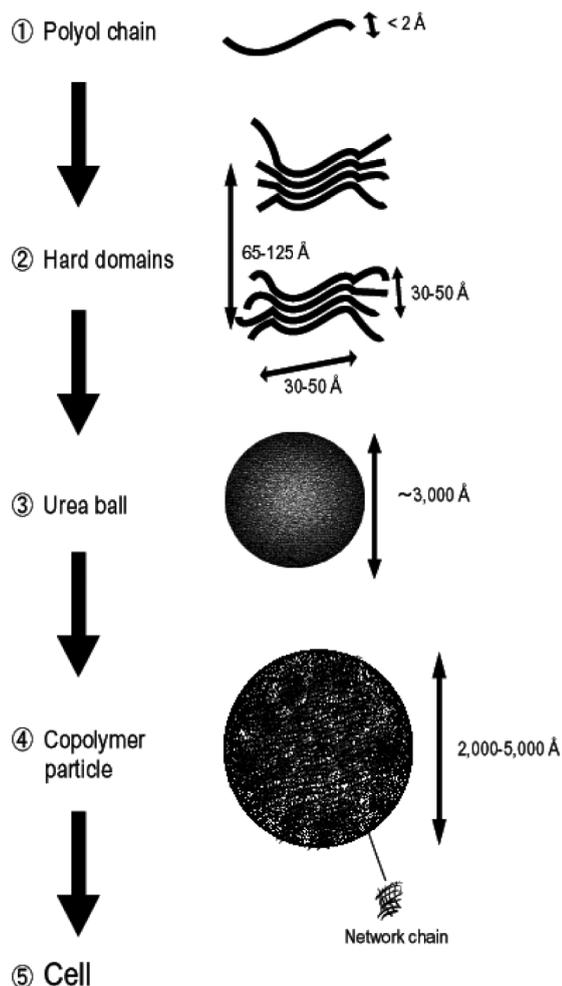


Fig. 2 Morphology formation of polyurethane foam

### 3.2 DNA/PUCFのDNA含有量

DNA, PUF及びDNA/PUCFをフーリエ変換赤外吸収法 (FT-IR) にて分析を行った。その結果を Fig. 3 に示す。PUF 作製の原料である NB-9000B には、イソシアネート基 ( $-\text{N}=\text{C}=\text{O}$ ) が含まれている。しかし、PUF 及び DNA/PUCF からは、イソシアネート基に対応する約  $2230 \text{ cm}^{-1}$  の特異的な吸収帯が観測されなかったことによって、イソシアネート基が完全に反応したことが示唆された。加えて、PUF 及び DNA/PUCF はいずれも  $3295 \text{ cm}^{-1}$  (NH),  $1724 \text{ cm}^{-1}$  (遊離-C=O),  $1530$  及び  $1221 \text{ cm}^{-1}$  (NH と CN) が観測され、ウレタン-尿素結合の構造を持つことが示された。そして、DNA 及び DNA/PUCF からは、DNA に含まれる C=N 伸縮振動由来の吸収が  $1644 \text{ cm}^{-1}$  に観測されたが、PUF からは観測されなかった。また、その他の DNA 特有の吸収は、PUF に由来する吸収と重なっているため、化学的もしくは物理的に組み込まれたかの判断は、FT-IR のみではできなかった。

実際に DNA/PUCF 取り込まれた DNA 量は、DNA 及び DNA/PUCF をそれぞれ硝酸/過塩素酸で完全に分解し、

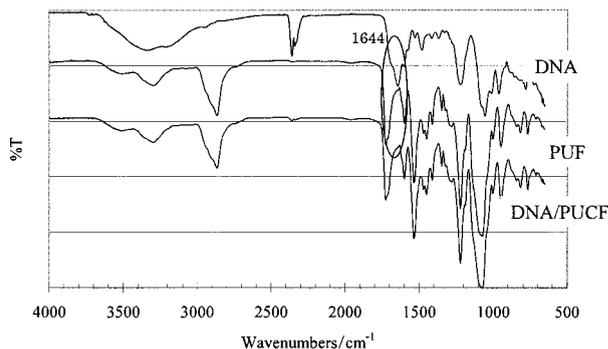


Fig. 3 FT-IR spectra of DNA (Upper line), PUF (middle line) and DNA/PUCF (lower line)

The absorption of  $1644 \text{ cm}^{-1}$  is essentially due to C=N stretching vibrations in the DNA bases which was found on DNA and DNA/PUCF.

分解溶液中のリン濃度を ICP-AES を用いて定量することによって求められた。その結果、原料に用いた DNA は  $4.47 \text{ mmol/g}$  のリン酸基を含有していた。そして、本研究において作製した DNA/PUCF からは  $26.47 \text{ } \mu\text{mol/g}$  のリン酸基が得られたことから、 $13.24 \text{ } \mu\text{mol/g}$  の塩基対を含有していることが分かった。なお、PUF 及び DNA/PUCF を作製するとき、未反応のプレポリマーは反応容器中に残され、水は 1 晩反応を熟成させたとき及び凍結乾燥時に除かれるため、収率を求めることはできなかった。しかし、先述の溶出試験と FT-IR の結果から、DNA/PUCF は DNA を内包していることが示され、リン酸基量より約  $0.6 \text{ wt}\%$  の DNA を含むことが示された。

### 3.3 PUF 及び DNA/PUCF に対する平面構造有機化合物の吸着挙動

Fig. 4 (a) に  $100 \text{ } \mu\text{mol/L}$  の EtBr 水溶液  $50 \text{ mL}$  に対する  $0.10 \text{ g}$  PUF 及び DNA/PUCF を用いた吸着実験の経時変化を示す。このときの EtBr の定量分析は、バッチサンプリング後に、可視紫外吸光度分光法を用いて分析した。DNA を含まない PUF のみを用いた場合、疎水性相互作用によって少量の EtBr を吸着した。しかし、DNA/PUCF を用いて同様の操作を行った場合、大幅に EtBr は吸着され、 $8.9 \text{ } \mu\text{mol/g}$  で吸着平衡に達した。同様にインターカレーション試薬である AO を用いた吸着実験を行ったところ、 $9.5 \text{ } \mu\text{mol/g}$  で吸着平衡に達した [Fig. 4 (b)]。これらの実験結果から、DNA/PUCF に内包された DNA は、EtBr 及び AO をインターカレーションによって吸着しており、DNA は PUCF 中でも二重らせん構造が維持されていると考えられる。

次に、陰イオン性 EB を用いて吸着実験を行うことによって、DNA の持つ静電的作用の評価を試みた [Fig. 4 (c)]。EB を用いた吸着実験は、DNA/PUCF に対する吸着

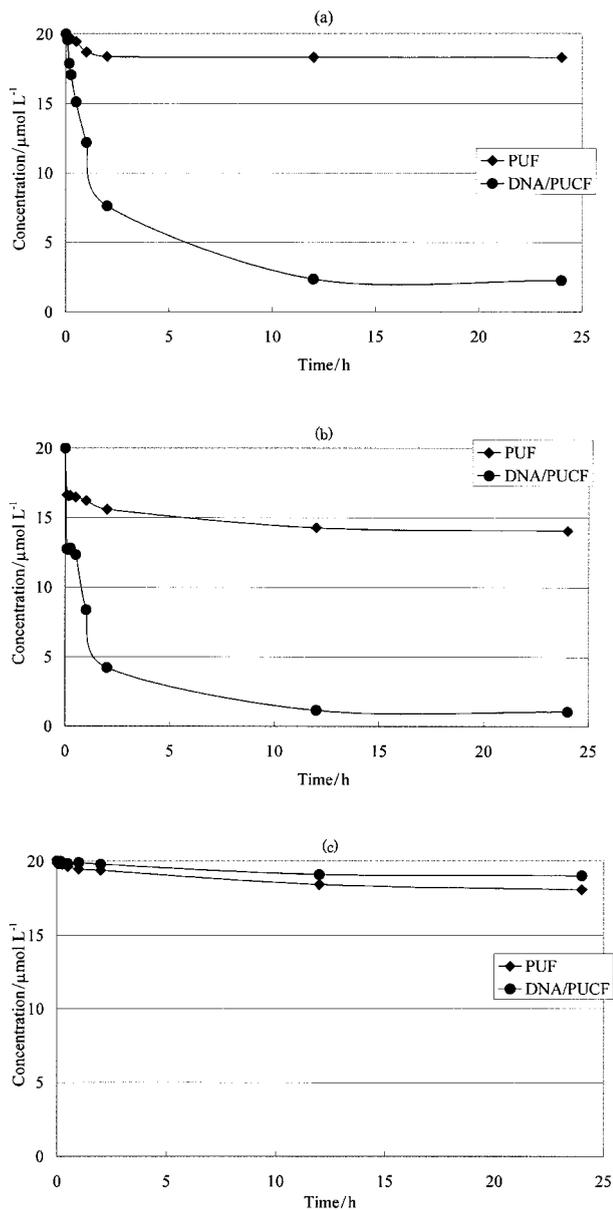


Fig. 4 The adsorption behavior of (a) EtBr, (b) acridine orange and (c) eosin B using PUF and DNA/PUCF

Initial concentrations of each ions were  $100 \mu\text{mol/L}$ .

量が PUF に対する吸着量よりも小さく ( $0.5 \mu\text{mol/g}$ ) だった。これは、すなわちリン酸基の持つ負電荷によって陰イオン性の EB は静電的に反発されたためであると考えられ、DNA のリン酸基が保持されていることが示された。

### 3・4 DNA/PUCF を用いた陽イオンの吸着

Fig. 5 に、 $100 \mu\text{mol/L}$  銀及び銅イオン水溶液それぞれ  $50 \text{ mL}$  に対して  $0.10 \text{ g}$  の PUF と DNA/PUCF を用いた吸着実験結果を示す。その結果、PUF のみでは銀及び銅イオンをほぼ吸着しなかったが、DNA/PUCF を用いると 24 時間で吸着平衡に達し、吸着量はそれぞれ  $27.9$  及び  $11.1$

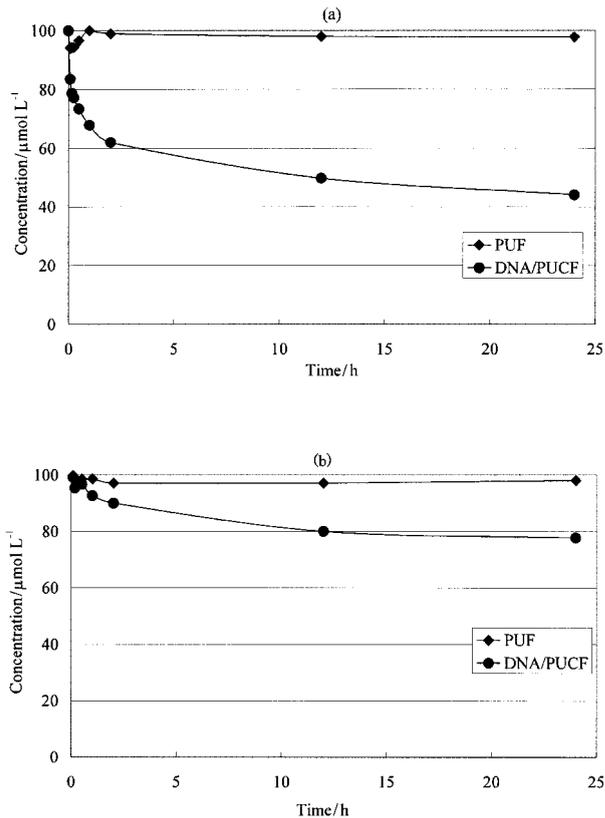


Fig. 5 Concentrations of (a) silver and (b) copper ions after adsorption using PUF or DNA/PUCF

Initial concentrations were  $100 \mu\text{mol/L}$ ; weight of PUF or DNA/PUCF were  $0.10 \text{ g}$ .

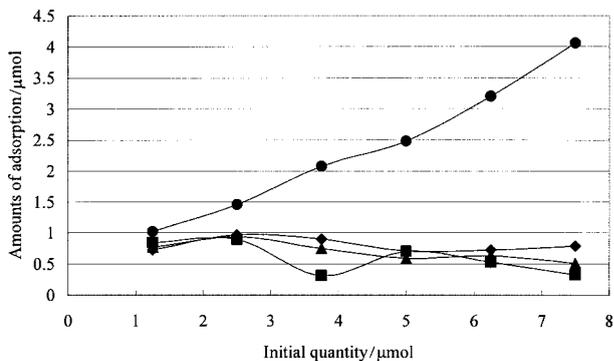


Fig. 6 Amounts of adsorptions for  $\text{Cu}^{2+}$  ( $\blacklozenge$ ),  $\text{Cd}^{2+}$  ( $\blacksquare$ ),  $\text{Mn}^{2+}$  ( $\blacktriangle$ ) and  $\text{Ag}^+$  ( $\bullet$ ) using DNA/PUCF

Their initial quantities of each ions were  $1.25$ ,  $2.50$ ,  $3.75$ ,  $5.00$ ,  $6.25$  and  $7.5 \mu\text{mol}$ .

$\mu\text{mol/g}$  であった。これらの吸着実験結果より、銀イオンの DNA/PUCF への吸着量は、銅への吸着量の 2 倍以上に達し、親和性が高い結果が得られた。そこで、銀イオンとその他の吸着挙動を比較するために、DNA/PUCF を用いた 4 種陽イオン (カドミウム、銅、マンガン及び銀) の各個吸着実験結果を行った (Fig. 6)。このとき、DNA/

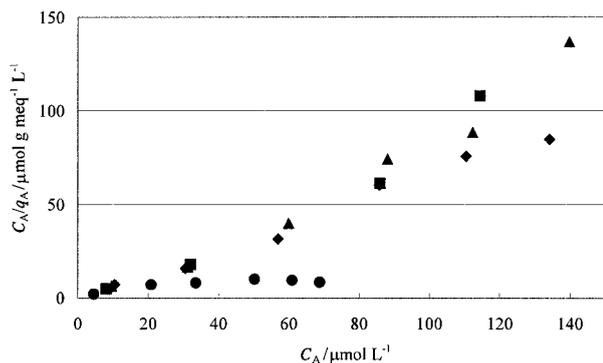


Fig. 7 Langmuir plots for adsorption of  $\text{Cu}^{2+}$  (◆),  $\text{Cd}^{2+}$  (■),  $\text{Mn}^{2+}$  (▲) and  $\text{Ag}^+$  (●) by DNA/PUCF

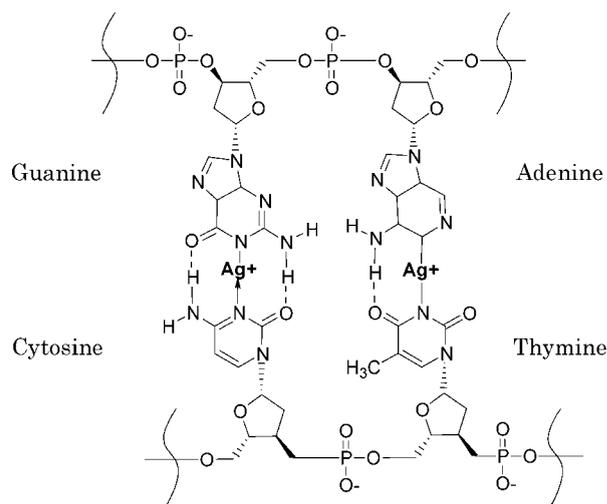
PUDFは0.10 g, 吸着対象イオンはそれぞれ6種類の初期濃度(25, 50, 75, 100, 125及び150  $\mu\text{mol/L}$ )に調整した50 mLの水溶液を用いた。それぞれの吸着量は, 200 rpmで24時間攪拌して吸着させた後の残存金属イオン溶液濃度を誘導結合プラズマ原子発光分析法(ICP-AES)を用いて測定することによって得られた。その結果, カドミウム, 銅及びマンガンイオンの平均吸着量は, それぞれ0.60, 0.80及び0.70  $\mu\text{mol}$ となり, 初期濃度を増加させても有意な吸着量の増加が見られなかった。しかし, 銀イオンのみが初期濃度が増すごとに吸着量が増加し, 初期濃度が150  $\mu\text{mol/L}$ のときには, 吸着量が2価陽イオンの約5倍以上(4.06  $\mu\text{mol}$ )に達した。そこで, 各金属イオンのDNA/PUCFに対する吸着実験結果をラングミュアの吸着等温線を用いて評価を行った(Fig. 7)。ラングミュアの吸着等温線は, ラングミュアの式(1)を変形し, 高濃度範囲に適応するラングミュアの直線式(2)を用いて作成した。

$$q_A = \frac{QK_A C_A}{1 + K_A C_A} \quad (1)$$

$$\frac{C_A}{q_A} = \frac{C_A}{Q} + \frac{1}{QK_A} \quad (2)$$

このときの $q_A$ は, DNA/PUCFに対して最終的に吸着平衡へ達したときの捕捉された金属イオンの吸着量( $\mu\text{mol/g}$ )を示す。 $K_A$ はラングミュア定数で, 結合サイトの親和力に関係し, 吸着エネルギーの基準と見なされる。 $C_A$ は吸着平衡における溶液濃度( $\mu\text{mol/L}$ )で,  $Q$ は単分子層に対する最大吸着容量( $\mu\text{mol/g}$ )を示す。

ラングミュアプロットにおける近似直線の相関係数は,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ 及び $\text{Ag}^+$ はそれぞれ, 0.9622, 0.9844, 0.9704及び0.6768が得られ,  $\text{Ag}^+$ 以外はすべて高い直線性を持つラングミュア型の吸着等温線を得た。これは, すなわち2価陽イオンはすべて単分子層へのガス吸着同様に, 1種類の有限の吸着場に対して吸着されており, 金属



Scheme 2 The complexes of  $\text{Ag}^+$  and DNA are accompanied by proton release and appears to occur with both AT and GC base pairs

More silver ions will be bind together with phosphate residues.

イオンとリン酸基が1:2で結合するためであると考えられる。一方, 直線性を示さなかった $\text{Ag}^+$ は, リン酸基以外にも吸着場があることを示唆している。そこで,  $\text{Ag}^+$ と塩基対のみの相互作用を考えると, セシウムイオンでイオン強度を上げた場合,  $\text{Ag}^+$ はDNAの塩基対とより強く相互作用するため, リン酸基への相互作用は無視できることが報告されている<sup>16)17)</sup>。0.2 <  $r$  < 0.5 ( $r$  = 結合 $\text{Ag}^+$ /DNA phosphate)のとき, この錯体はGC(G:グアニン, C:シトシン)及びAT(A:アデニン, T:チミン)塩基対のプロトン放出に伴って形成される。すなわち,  $\text{Ag}^+$ は $d^{10}$ 電子を持つため, DNAの塩基へ相互作用し, 直線型の錯形成をする<sup>17)</sup>ことによって(Scheme 2), 塩基対の $\text{NH}\cdots\text{N}$ の水素結合を切断し, その代わりにN-Ag-Nタイプの強い結合が形成される<sup>17)~19)</sup>。本研究におけるDNA/PUCFを用いた吸着実験結果によると, 銀イオンの吸着量は0.10 gのDNA/PUCFに含まれるリン酸基量である2.65  $\mu\text{mol}$ よりも大きい結果になった。それは, すなわち2価陽イオンはリン酸基へイオン交換によって吸着されたが, 銀イオンはリン酸基のみならず, 塩基対に対して銀イオンが新たな結合を形成したことによって吸着されているためであると考えられる。

#### 4 結 論

本研究で作製したDNA/PUCFは, 平面型化合物をインターカレーションによって捕捉し,  $\text{Ag}^+$ を塩基対間及びリン酸基に捕捉した。すなわち, DNAは, その特異的な性質である二重らせん構造とリン酸基を保持したまま, DNA/PUCFに組み込まれた。言い換えると, DNAをポリ

ウレタンフォームに内包させることによって, 特性を生かしつつ, 最大の弱点である機械的強度問題を解決することができた. 更に, DNA/PUCF は, 非常に簡単な手法によって作製され, 水中での溶出試験の結果, DNA の溶出は見られなかった. 溶出試験と吸着実験によって機械的強度と溶解性に最大の問題があった DNA は, ポリウレタンとの共存により, 安定性と二重らせん構造を保持したまま組み込まれていることが予想され, 従来の問題点を解決した新規吸着素材の開発に成功した.

#### 文 献

- 1) J. D. Watson, F. H. C. Crick : *Nature*, **171**, 737 (1953).
- 2) Y. Li, H. Qi, F. Fang, C. Zhang : *Talanta*, **72**, 1704 (2007).
- 3) X. Li, H-Q. Ju, L-P. Du, S-S. Zhang : *J. Inorg. Biochem.*, **101**, 1165 (2007).
- 4) S. Flicyngerova, R. Ovdekoval, I. Novotny, V. Tvarozek, J. Labuda, V. Breternitz, C. Knedlik : *Vacuum*, **82**, 303 (2008).
- 5) M. Yamada, M. Yokota, M. Kaya, S. Satoh, B. Jonganurakkun, M. Nomizu, N. Nishi : *Polymer*, **46**, 10102 (2005).
- 6) S. S. Babkina, N. A. Ulakhovich : *Bioelectrochem.*, **63**, 261 (2004).
- 7) D. Ueno, T. Kano, M. Maeda : *Anal. Chim. Acta*, **365**, 101 (1998).
- 8) X. D. Liu, Y. Murayama, M. Yamada, M. Nomizu, M. Matsunaga, N. Nishi : *Int. J. Biol. Macromol.*, **32**, 121 (2003).
- 9) X. D. Liu, Y. Murayama, M. Matsunaga, M. Nomizu, N. Nishi : *Int. J. Biol. Macromol.*, **35**, 193 (2005).
- 10) S. Satoh, B. Fugetsu, M. Nomizu, N. Nishi : *Polymer J.*, **37**, 1 (2005).
- 11) S. Satoh, M. Yamada, M. Nomizu, N. Nishi : *Polymer J.*, **35**, 872 (2003).
- 12) Y. Okahata, T. Kobayashi, H. Nakayama, K. Tanaka : *Supramolec. Sci.*, **5**, 317 (1998).
- 13) K. Tanaka, Y. Okahata : *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 10679 (1996).
- 14) J. C. Wang : *J. Mol. Biol.*, **89**, 783 (1974).
- 15) A. H. J. Wang, J. Nathans, G. van der Marel, J. H. van Boom, A. Rich : *Nature*, **276**, 471 (1978).
- 16) A. Hartwig : *Toxicology Lett.*, **102-103**, 235 (1998).
- 17) R. H. Jensen, N. Davidson : *Biopolymers*, **4**, 17 (1966).
- 18) T. Yamane, N. Davidson : *Biochem. Biophys. Acta*, **55**, 609 (1962).
- 19) K. F. S. Luk, A. H. Maki, R. J. Hoover : *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 1241 (1975).
- 20) Y. Yuguchi, H. Urakawa, K. Kajiwara, K. I. Draget, B. T. Stokke : *J. Mol. Struct.*, **554**, 21 (2000).
- 21) シーエムシー編集部 : “ポリウレタン応用技術”, 普及版, p. 48 (1999), (シーエムシー).

## Development of DNA/Polyurethane Composite Foam for Adsorption of Chemical Hazards

Hiroaki SONE<sup>1</sup>, Bunshi FUGETSU<sup>1</sup> and Shunitz TANAKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Graduate School of Environmental Science, Hokkaido University, Nishi-5, Kita-10, Kita-ku, Sapporo-shi, Hokkaido 060-0810

(Received 4 July 2008, Accepted 24 October 2008)

Double-helix DNA, because of its unique morphology, is capable for capturing chemical hazards of planer structures, mainly due to the so-called intercalation interactions. Its intrinsic properties, such as mechanical weakness and high water solubility, however, have long been drawbacks restricting practical applications. These intrinsic difficulties of DNA were overcome in this study by encapsulation of the double-helix DNA using polyurethane by the formation of DNA/polyurethane composite foams (DNA/PUCF). The adsorptive capability of the resulting DNA/PUCF was evaluated using ethidium bromide, acridine orange and eosin B, as typically hazardous chemicals having planer structures. DNA/PUCF has shown high ability for absorbing ethidium bromide and acridine orange, both carrying positively charged moieties; but no ability was found for eosin B, which is a negatively charged species, indicating that the charges on the hazardous molecules play an important role in determining their distribution into the base-pairs of DNA where the intercalation takes a place. The investigation of DNA by using silver ions ( $\text{Ag}^+$ ) as reactive ions gave experimental evidence to confirm a fact that DNA involved in the DNA/PUCF kept their double-helix structures. DNA/PUCF is robust, mechanically strong, durable, and highly useful for eliminating positively charged, water-soluble type of hazardous chemicals of planer structures.

**Keywords** : double-helix DNA ; polyurethane foam ; encapsulation ; composite ; intercalation.