

DLS による BSA 溶液の感熱レオロジー挙動の測定



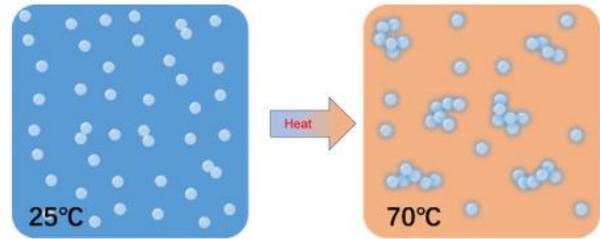
1. 概要

BeNano シリーズは、動的光散乱 (DLS)、電気泳動光散乱 (ELS)、および静的光散乱 (SLS) がシステムに統合され、1 台で正確な粒子径、ゼータ電位および分子量を測定することができます。BeNano シリーズは、化学工学、食品および飲料、インクおよび顔料など、さまざまな分野の学術および製造プロセスに広く利用されており、特に製薬・バイオ関連分野で活用されている事例が多いです。

DLS マイクロレオロジーという技術では、DLS を利用して、溶液環境中で添加した不活性トレーサー粒子の平均二乗変位 (MSD) を測定し、溶液のレオロジー情報を得ることができます。この技術は、トレーサー粒子がかなりの距離を拡散する可能性のある、弱い構造のポリマーおよびタンパク質溶液やゲルシステムの特性評価に使用できます。DLS マイクロレオロジーは、機械的なレオロジー技術と比較して、測定とデータ処理が簡単かつ迅速に行え、1 回の測定で高周波数の情報を得ることができます。手順は以下の通りです。

- トレーサー粒子を、タンパク質溶液や希薄ポリマー溶液などの研究対象系に添加します。
- 溶液系に懸濁された粒子は、熱エネルギー交換 kBT を通じてランダムに移動します。
- トレーサー粒子の運動は、周囲の環境のレオロジー特性によって決まります。
- トレーサー粒子の動きを検出することで、レオロジー情報が得られます。

BSA 溶液は低温条件下では比較的安定ですが、加熱すると熱変性し、タンパク質の凝集体が形成されるため、溶液特性が大きく変化します。異なる温度における BSA 溶液の粘弾性情報は、DLS マイクロレオロジーによって特徴付けることができます。



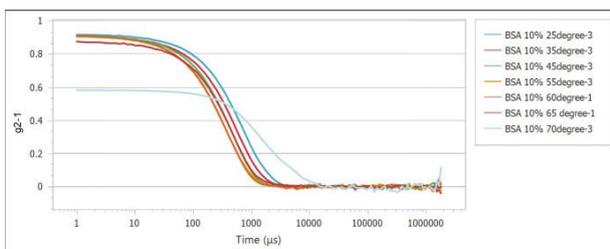
↑ 図 1: 加熱による BSA の変性模式図

2. 測定

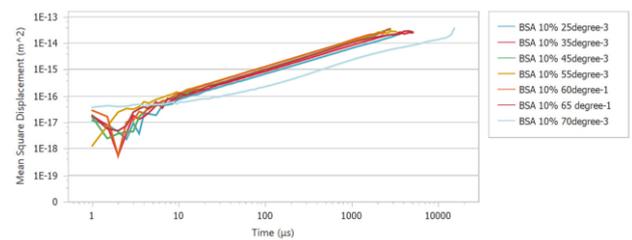
測定温度は装置によって 25°C から 70°C の間で制御され、少なくとも 300 秒の温度平衡時間を設定しました。トレーサー粒子として、負に帯電した 400nm のポリスチレン粒子 10 μ L を、10mg/mL の BSA 溶液へ添加しました。

3. 結果

まず、同じ環境下で BSA 溶液とトレーサー粒子のゼータ電位を測定しました。BSA 溶液のゼータ電位は -14.35mV、400nm のトレーサー粒子は -51mV で、どちらも負に帯電しており、正負の帯電による凝集が起こらない状態でした。

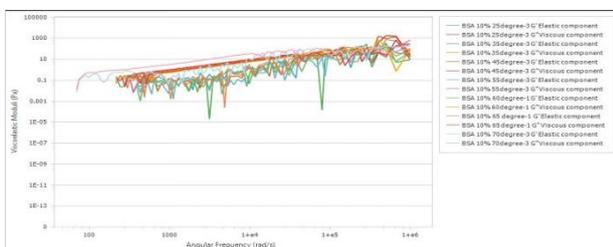


↑ 図 2: 各温度における BSA 溶液の自己相関関数

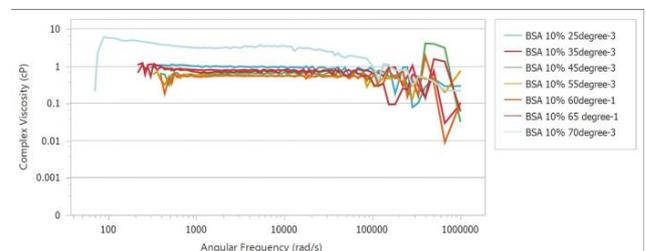


↑ 図 3: 各温度における BSA 溶液の MSD 曲線

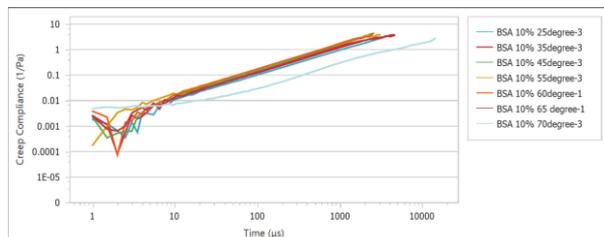
動的光散乱法では、元の散乱光信号を解析することにより、試料の自己相関関数が得られます。自己相関関数は、粒子の揺らぎを変換したもので、ここから拡散計数を得ることで、粒子径を求めることができます。図 2 は、25°C から 60°C の間で温度が上昇するにつれて相関関数の減衰が速くなることを示しています。これは、溶液の粘弾性係数がこの温度範囲を通して減少する一方で、溶液粘度の減少によりトレーサー粒子の運動速度が温度とともに増加することを示唆しています。さらに、MSD 曲線は、この温度範囲では、温度が高いほど MSD 値が高くなり、トレーサー粒子の速度が速くなることを示しています。



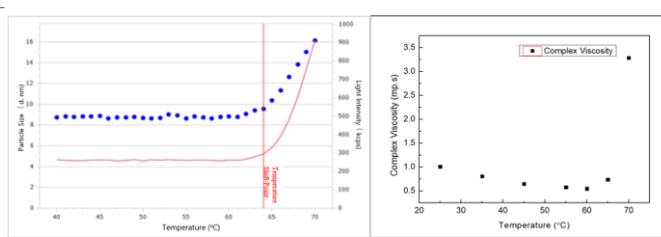
↑ 図 4: 各温度における BSA 溶液の粘弾性率曲線



↑ 図 5: 各温度における BSA 溶液の複素粘度曲線



↑図 6:各温度における BSA 溶液の
クリープコンプライアンス曲線



↑図 7:BSA の粒子径と粒子強度対温度曲線（左）
複素粘度対温度曲線@2096rad/s（右）。

しかし、60℃から 70℃の範囲では、温度の上昇に伴い相関関数の減衰が緩やかになっていました。これは、トレーサー粒子の運動が温度の上昇とともに減少することを示しています。この温度範囲では、BSA の熱変性により凝集体が形成され、溶液の粘弾性が劇的に増大していることがわかりました。

図 7 に示すように、DLS マイクロレオロジー技術で得られた複素粘度は 65℃付近で急激に上昇し、粒子径と複素粘度の温度依存性がクロス検証されました。

【結論】

測定結果は、BeNano シリーズの、タンパク質サンプルに対するマイクロレオロジーの検出能力を示しています。熱に敏感なマイクロレオロジーの情報は、タンパク質 溶液の温度による変性過程を敏感かつ正確に反映します。マイクロレオロジー測定により、平均二乗変位、複素粘度、等弾性率、クリープコンプライアンスなどの試料のレオロジーパラメータを高周波数領域で迅速に得ることができるため、液体のレオロジー特性を特性評価するための強力なツールとなります。



粒子径・ゼータ電位・分子量測定装置 BeNano シリーズ

BeNano シリーズは光散乱法により、粒子径、ゼータ電位、分子量、マイクロレオロジーを評価することが可能です。後方光散乱光検出技術や光散乱位相解析技術などの技術により、高精度な測定を可能としております。

ご要望に応じて、粒子径測定のみ、ゼータ電位測定のみなどのモデルもご用意がございます。

<お問い合わせ>

[ホームページ](#)よりお問い合わせください。