

3D01 TEMPO 酸化セルロースナノファイバーを利用した構造・活性を 長期間保持可能なタンパク質吸着材の開発

(福井大院工)○山口淳、坂元博昭、末信一朗(福井大学) 本田琢
(第一工業製薬(株))橋本賀之、北村武大、北野結花、森田祐子

【緒言】

TEMPO 酸化セルロースナノファイバー(TOCN)は直径約 5 nm 程度の極細繊維であり、膨大な比表面積と表面にカルボキシ基を有することが知られている。TOCN の優れた特性をバイオ分野へ応用するために、これまでに本研究では TOCN へのタンパク質吸着挙動についての検討を行ってきた。その結果、TOCN 表面とタンパク質表面との間に生じる静電相互作用によって吸着していることを明らかにした。本発表では、TOCN に吸着したタンパク質の構造と活性の長期安定性の評価を行うことで TOCN がタンパク質吸着材として優れた材料であるか検討することを目的とする。

【実験方法】

1. TOCN 表面に吸着したタンパク質構造の長期安定性評価

TOCN 溶液と、タンパク質(Pyroloquinoline quinone-Glucose Dehydrogenase : PQQ-GDH pI 5.5)溶液を混合し、2 時間静置することで吸着を行った。TOCN 表面に吸着した PQQ-GDH の構造は吸着直後と 1 週間後に CD スペクトル(Circular Dichroism, 円偏光二色性)を用いて測定した。CD スペクトルの結果から算出した α -helix の割合を指標として構造比較を行った。

2. TOCN 表面に吸着した PQQ-GDH の活性の長期安定性の評価

TOCN 溶液と PQQ-GDH 溶液を混合し 2 時間静置して吸着を行った。TOCN に吸着した PQQ-GDH の活性は、呈色反応により評価した。活性は 1 日ごとに 6 日間測定した。

【結果と考察】

TOCN 表面に吸着した PQQ-GDH および未吸着の PQQ-GDH 構造を CD スペクトルによって測定した。PQQ-GDH が TOCN 上に吸着した時、その α -helix 割合の変化は 3 %未満であったことから、TOCN 吸着前後で構造が変化しないことが確認された。これは TOCN の極細形状によりタンパク質との吸着面積が極めて小さくなったためだと考えられる。また、その構造は 1 週間経過しても変化しなかったことから、TOCN に吸着すると構造変化が起らず安定化することが示唆された。

吸着後の活性に目を向けると、TOCN 表面に吸着した PQQ-GDH が未吸着の状態より 1.6 倍高い活性を示した。これは、TOCN へ吸着することで PQQ-GDH と基質との接触が増えることが考えられる。さらに、TOCN に吸着した PQQ-GDH は高い活性を長期間保持することが確認された(Fig. 1)。以上の結果から、TOCN へ吸着したタンパク質はその構造および活性が長期間保持されるため、TOCN はタンパク質吸着材として優れた材料だと期待される。

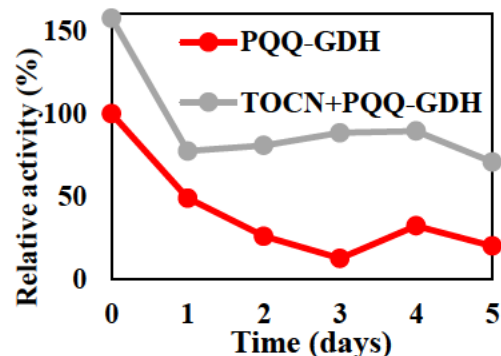


Fig. 1 PQQ-GDH 活性の経時変化