

ウシ血清アルブミンとポリアルブチンとの相互作用における分子量の影響について

(岩手大・理工) ○近江翔汰、塚本匡、大石好行、芝崎祐二

【緒言】血清および乳汁中の球状タンパク質である BSA はカテキンやクエルセチンなどのポリフェノールとある特定部位で結合することが知られている。これらポリフェノールは抗酸化作用があることから、タンパク質が抗酸化雰囲気下で保護される。我々はフェノール類の酸化カップリング重合の研究を行ってきたが、その一環として、 β -アルブチンに着目し、その水溶液中での重合を検討した。その結果、選択的な C-C カップリング重合により水溶性ポリ (β -アルブチン) (PArb) が生成することを見出した。本研究では、この合成ポリフェノールが天然ポリフェノール同様、たんぱく質の保護剤として機能するかどうか解明するため、アルブチンモノマー (Arb)、カテキン、クエルセチン、PArb を BSA と混合し、その吸着特性を調査することを目的とした。

【実験ならびに結果と考察】各種ポリフェノール、Arb と BSA の吸着実験は既報に従い緩衝溶液中におけるトリプトファン残基の蛍光強度の測定により行った。一方、PArb では、その骨格がポリフェニレンであり、トリプトファンの蛍光を検出することが困難であったことから、ポリマーと BSA を透析フィルム中に静置し、その後、透析操作を行うことで、溶出したポリマーの濃度から結合定数を求めた。PArb は分子量 2980, 6060, 10530 のものを用いた。まず、濃度 3.0 mg/ml の BSA 溶液をリン酸緩衝液中で調整し、次に分子量の異なる PArb をそれぞれ $1.65 \times 10^{-3} \text{ M}$ になるように溶液を調整した。1 ml のポリアルブチン溶液を 6 ml の BSA 溶液に添加してサンプル瓶内で軽く攪拌し、1 時間放置した。これを透析パックに移し、200 ml のリン酸緩衝液中で pH = 7.4 の条件下で透析を行った。透析フィルムのカットオフ分子量は 15000 であるため、BSA は透析されることなく、BSA に結合しなかった PArb のみが透析され、フィルム外に溶出したポリマーの濃度を定量下。これを各分子量 4 つのビーカーでそれぞれ行い、15 min, 30 min, 1 h, 3 h の各時点での吸光度を測定した。測定した吸光度を検量線を用いて濃度を算出し、結合特性について評価した。なお、参照化合物としてアルブチンモノマーも使用している。Figure 1 に、溶出した Arb もしくは PArb の経時変化を示した。溶出濃度は、Arb、分子量 2980、6060、10530 の PArb の順に低くなった。透析パック内で BSA と相互作用による複合体が形成されたためと考えられ、溶出した濃度が少なくなるほど、BSA との結合がより強いと言える。すなわち、モノマーよりも、ポリフェノールである PArb の方が、複合体を形成しやすく、ポリマーの中でも分子量が高いほど、結合性が増す結果となった。

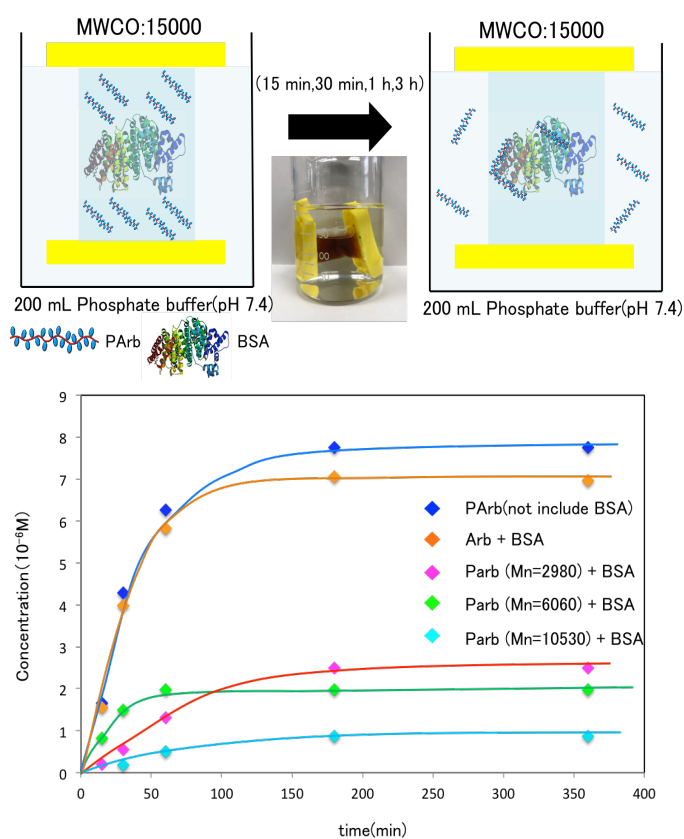


Figure 1. Change in concentration of external liquid