

シクロデキストリンを有する刺激応答性ポリマーの設計と変性タンパク質の検出挙動

(関西大化学生命工¹, 関西大 ORDIST²) ○宮田隆志^{1,2}, 村山果子¹, 河村暁文^{1,2}
 Design of Stimuli-responsive Polymers with Cyclodextrins and Detection of Denatured Proteins (¹Faculty of Chemistry, Materials and Bioengineering, ²ORDIST, Kansai University)
 ○Takashi Miyata^{1,2}, Kanoko Murayama¹, Akifumi Kawamura^{1,2}

Stimuli-responsive polymers for detecting conformational changes of proteins are required as their denaturation causes protein-folding diseases. In this study, stimuli-responsive polymers that detected denatured proteins were designed by introducing β -cyclodextrins (CDs) as protein recognition sites to temperature-responsive polymers with a lower critical solution temperature. The addition of mixtures of native proteins (ribonuclease A, lysozyme) resulted in no change in the transmittance of a buffer solution with the resulting polymers. However, the transmittance of a buffer solution with the polymer decreased dramatically by the addition of a mixture of native and denature proteins. The complex formation between CD and the denatured protein made the polymer chains more hydrophobic because the denatured protein is more hydrophobic than the native protein, followed by the formation of precipitation.

Keywords : Stimuli-Responsive Polymer; Cyclodextrin, Molecular Recognition; Lower Critical Solution Temperature; Denatured Protein

タンパク質は特定のコンフォメーションを形成することにより様々な機能を発現する。しかし、そのコンフォメーションが変化して変性状態になるとフォールディング病などの問題を引き起こす。そのため、タンパク質のコンフォメーション変化を検出できる材料システムの開発が望まれている。本研究では、下限臨界溶液温度(LCST)を有する温度応答性ポリマーにタンパク質認識部位として β -シクロデキストリン(CD)を導入した新規な三元共重合体(P(CD-co-NIPAAm-co-OEGMA))を合成した。Fig. 1 には、P(CD-co-NIPAAm-co-OEGMA)を溶解させたリン酸緩衝液に、ネイティブタンパク質(リボヌクレアーゼ A, リゾチーム)混合液およびそれに変性リゾチームを加えたネイティブ・変性タンパク質混合液を添加した際の濁度測定の結果を示した。図より、ネイティブタンパク質添加の有無に関わらず、ポリマー水溶液の透過率は約 100 %で一定であり、測定温度範囲で LCST を示さなかった。しかし、変性リゾチームを含むタンパク質混合液を添加すると明確な沈殿が生じた。これは、コンフォメーション変化により疎水性が増加した変性タンパク質が P(CD-co-NIPAAm-co-OEGMA)の CD と複合体を形成し、測定範囲の温度以下に LCST が低下してポリマーが不溶化するためと考えられる。したがって、P(CD-co-NIPAAm-co-OEGMA)はタンパク質混合液中の変性タンパク質にのみ応答することから、タンパク質コンフォメーション変化の検出への応用が期待できる。

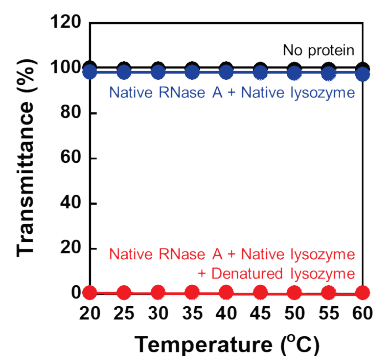


Fig. 1. Effect of temperature on transmittance (650 nm) of P(CD-co-NIPAAm-co-OEGMA) in a phosphate buffer solution (pH 7.4, 50 mM) without and with various native and denatured protein. Polymer and protein concentrations were 2.0 and 5.0 mg/mL.