# タンパク質分子の水面への吸着過程におけるバッファー分子の影響

# Effect of buffer molecules on the adsorption process of protein molecules onto water surface

日工大 環境共生システム学専攻 ○(M1)工藤 優希、藤田 裕嗣、佐野 健一、池添 泰弘

○Yuki Kudo, Yuji Fujita, Ken-ichi Sano, and Yasuhiro Ikezoe

(Dept. Env. Symb. Sys., Nippon Inst. Tech.)

E-mail: y.ikezoe@nit.ac.jp

フェリチンは、外径 12 nm、直径 7 nm の内部空孔を持ち、空孔内に金属ナノ粒子を格納することが可能な球殻状タンパク質で、金属内包フェリチンの 2 次元的な分子膜を Si 基板上に作製することで、それを半導体メモリとして応用できると期待されている。これまでに結晶のような秩序構造を持つ 2 次元的な分子膜形成についての研究は多数報告されているが、その自己組織化過程には、不明な点が多い。 例えば、同じフェリチンを用いた実験でも、バッファーを変えると、自己組織化過程が大きく変化する[1]ことが知られている。そこで、本研究では、準弾性レーザー散乱法を用い、水溶液中のフェリチン分子が水面に吸着する過程における表面張力と水面の粘度をリアルタイムで測定し、バッファーの違いによる物性変化の相違点を明らかにし、さらに、両者の振る舞いと STEM による観察結果とを比較し、自己組織化過程を解明する事を目的とした。

実験では、カーボンナノホーンに対する親和性の高いアミノ酸配列（DYFSSPYYEQLF）[2]を表面に持つフェリチン(N1-LF)を大腸菌内で発現させ、ゲル濾過クロマトグラフィーで精製し、タンパク質試料として用いた。表面張力と粘度の測定では、50 mM PIPES-NaOH (pH = 7)または 50 mM Tris-HCl (pH = 8 )中に、フェリチンの濃度が 1~5 μg/mL となるように溶解させ、37℃に保たれた恒温槽中で 30 分静置した後に、同温で保たれた石英セル中に溶液を移して準弾性レーザー散乱スペクトルを測定した。Fig. 1 は、5 μg/mL のフェリチン水溶液の表面張力の測定結果であるが、Tris, PIPES、どちらの系でも、最初のうちは張力にあまり変化は見られないが、その後、徐々に低下することが分かった。表面張力の低下速度と低下の度合いは、PIPES の系の方が Tris よりも大きいことから、PIPES の系の方が Tris の系よりもフェリチンが表面に吸着しやすいことを示唆している。この結果は、過去の水溶液表面での二次元分子結晶化実験において、Tris よりも PIPES の方が結晶を得られやすいことがわかっており、その実験結果を後押しする結果である。PIPES が何らかの形で、フェリチン分子の表面吸着能を増強するはたらきがあると考えられる。粘度は、測定直後から若干上昇傾向にあり表面張力が低下し始めた直後付近で極大値をとった後、徐々に減少に転じた。粘度の上昇速度は、Tris と PIPES であまり変わらないが、ピーク後の下降速度は、明らかに PIPES の方が Tris より速い。表面での分子のネットワーク形成が影響していると考え、表面から TEM Grid に転写したフェリチン分子の STEM 観察も進行中である。今後、表面張力、粘度、STEM 像の解析から、分子の吸着並びに集合体形成における、バッファー分子との相互作用など明らかにする予定である。

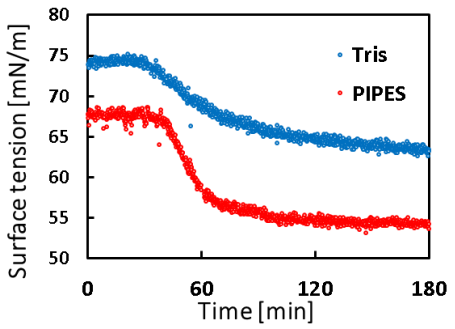


Fig 1. Time course of surface tension. The surface tension of PIPES buffer solution decreases faster than Tris buffer.

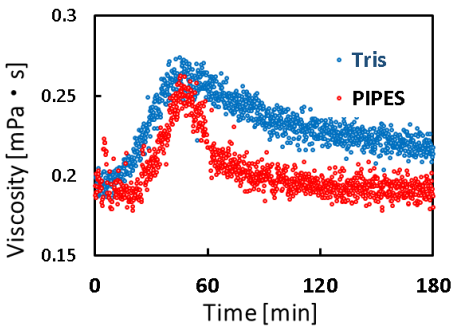


Fig. 2. Time course of surface viscosity. The Viscosity of both Tris and PIPES increases gradually and shows a peak soon after the surface tension starts to decrease.

1) Y. Ikezoe, *et al., Langmuir*, **24** (2008) 12836-12841
2) D. Kase, *et al., Langmuir*, **20** (2004) 8939-8941
3) 矢田慶治, 蛋白質核酸酵素, Vol 35 (No. 15) (1990)

© 2019年 応用物理学会