

正に帯電した白金微粒子のタンパク質結晶への集積化
 ((株) コンポン研究所*、東大院・総合**) ○武田佳宏*、真船文隆**
 Self-assembly of Positively Charged Platinum Nanoparticles in
 Lysozyme Crystal
 (Genesis Research Institute, Inc.* , The University of Tokyo**)
 ○Yoshihiro Takeda* , Fumitaka Mafuné**

【序】 金属微粒子の集積化の方法は、気液界面法など様々あり、触媒や医療など多くの分野で応用されている。それらの中で、生体分子を足場として集積化する方法は、生体分子の自己組織化を利用するため投入エネルギーも少ない有望な方法である。我々はこれまで結晶中のタンパク質を足場として金属微粒子を集積化する方法を開発した [1]。具体的には、金微粒子(AuNP)をリゾチーム結晶中に集積化した。さらに集積化の際、溶液中で負に帯電した AuNP と正に帯電したリゾチーム分子の静電的相互作用で AuNP がリゾチーム結晶に取り込まれることを明らかにした。本研究の目的は、この静電的相互作用が他の金属微粒子の集積化の場合にもあてはまる一般的なメカニズムかどうかを明らかにすることである。そのためにゼータ電位が正と負の 2 種類の白金微粒子(PtNP) を作製し、結晶への集積化を試み、そのメカニズムについて考察した。

【実験】 純水 5 mL に 55 mg の PVP を溶解し、この溶液の底部に白金プレートを設置した。これに波長 1064 nm、パルス幅 10 ns のパルスレーザーを照射し、レーザーアブレーション法で溶液中に分散した PtNP を作製した。さらにこの PtNP を水溶液中で 3 ヶ月間インキュベーションした。この微粒子を以後、「Pt'NP」と記す。PtNP および Pt'NP の TEM 観察を行った結果、それぞれ直径が 9.4 ± 5.4 nm と 7.5 ± 2.6 nm であった。またこれら微粒子のゼータ電位を計測した (図 1)。次に 4% NaCl を沈殿剤とした結晶化条件に整えた溶液に PtNP および Pt'NP を共存させ、293 K で数日間静置し、PtNP および Pt'NP を集積化したリゾチーム結晶を作製した。

【結果と考察】 異なるゼータ電位を持つ PtNP 安定化剤の PVP 高分子は両親媒性の非イオン性物質であり、微粒子の表面のゼータ電位に影響を与えない。従って、PtNP および Pt'NP のゼータ電位は微粒子表面の電荷状態を反映している。

PtNP および Pt'NP のゼータ電位の pH 依存性は、微粒子表面の一部の酸化された白金原子に結合したヒドロキシル基の平衡 ($\text{Pt}-\text{OH} \rightleftharpoons \text{Pt}-\text{O}^-$) の pH 依存性とみなすことができる。pH が表面のヒドロキシル基の pKa より低い場合は、Pt-OH が優勢であり、pH が pKa より大きい時は Pt-O⁻ が優勢である。pH が 8.0 よりも高い時は、微粒子のゼータ電位は、pH の増加とともに急激に減少したことから、表面のヒドロキシル基の pKa は ~8 と推定される。pH が 8 以下の場合、PtNP および Pt'NP のゼータ電位は pH の低下とともに増加し、それぞれの pH 3 で 1 mV と -5 mV に近づいた。酸性溶液中の PtNP の正電荷は、表面上の Pt 原子の部分的な電荷移動による Pt^{δ+} またはプロトンが Pt 原子に付着し Pt-H⁺ による。そのため、PtNP のゼータ電位は溶液の pH が pKa ~8 以下の時に正になる。一方、Pt'NP の表面上の Pt 原子は、水溶液中での 3 ヶ月のインキュベーションにより PtNP より酸化されたため、Pt'NP のゼータ電位は pH が pKa 以下の時でもマイナスと考えられる。すなわち PtNP および Pt'NP

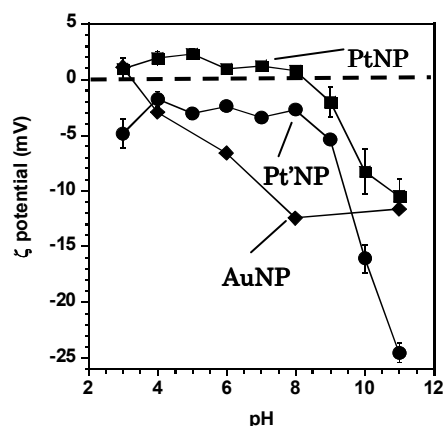


図 1 ゼータポテンシャルの pH 依存性

の表面上の酸化された Pt 原子の数の差が、pH が 8 以下でのゼータ電位の符号が異なる原因と考えられる。

PtNP の集積化のメカニズム リゾチームの過飽和溶液に PVP 安定化した PtNP および Pt'NP を加えた時の結晶の析出状態を実体顕微鏡で観察した結果を図 2 に示す。PtNP はリゾチームの結晶に取り込まれ、Pt'NP はあまり取り込まれていないことが、結晶が白金黒色にな

っているかどうかで判別できる。さらに PtNP のリゾチーム結晶への分配係数の pH 依存性を測定した結果を図 3 に示す。pH が 3~7 では PtNP の分配係数は 1 より大きく、結晶に集積しやすく、一方、Pt'NP の場合は 1 より小さく、結晶に集積しにくいことがわかった。PtNP の集積化は PtNP、

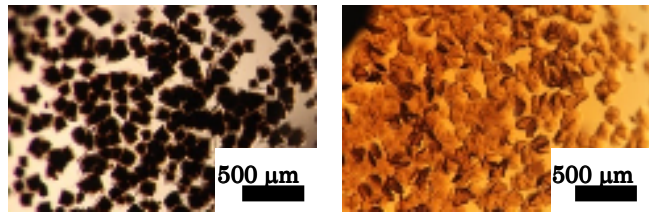


図 2 PtNP (左) および Pt'NP (右) を集積化したリゾチーム結晶

リゾチーム、NaCl の 3 因子の相互作用で説明できる。酸性溶液中でリゾチーム分子のゼータ電位は約 12mV である。したがって、NaCl の Cl⁻ が正帯電したリゾチーム分子に吸着する。その結果、PtNP 周囲の Cl⁻ の濃度は減少し、pH 8 以下において、Cl⁻ による PtNP のゼータ電位の遮蔽効果は減少する。さらに正帯電している PtNP

は数にして 10⁵ 倍存在する正帯電しているリゾチーム分子に囲まれている。したがって、PtNP はリゾチーム分子との反発力で溶液中に分散している。この結果、PtNP は良く分散した状態で結晶表面と相互作用できる。一方、Pt'NP は pH 8 以下においては負に帯電しており、したがって、NaCl の Na⁺ によって効率よく遮蔽される。その結果、Pt'NP は結晶表面と相互作用する前に凝集する傾向を持つ。さらに pH が 8 に近づくと PtNP のゼータ電位もリゾチーム分子の正電荷も減少する。よって、リゾチーム吸着していた Cl⁻ が自由になるため、Cl⁻ による PtNP の正電荷を遮蔽する効果は大きくなる。したがって、PtNP 同士の反発力は低下し、PtNP の分散性は低下する。その結果、pH が 8 に近づくと PtNP は凝集しやすくなり、PtNP の分配係数は低下する。さらに pH が 8 になると、PtNP の分配係数は急速に減少する。これは PtNP のゼータ

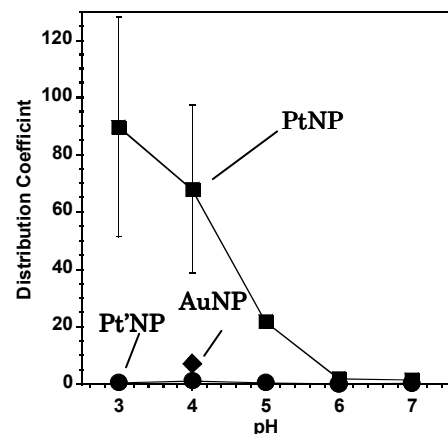


図 3 分配係数の pH 依存性

電位が 0 になり、PtNP が激しく凝集するためである。pH が 8 から 11 の間では、PtNP のゼータ電位は負であり、PtNP の電荷は Na⁺ によって遮蔽され、さらに PtNP は正に帯電したリゾチーム分子と強く結合し共沈する。そのためにリゾチーム結晶も生成せず、PtNP の分配係数は計測できなかった。金微粒子の場合は、pH 4 において、ゼータ電位は Pt'NP よりも小さい。よってナトリウムイオンの遮蔽効果があっても安定に溶液中に分散する。よって、pH 4 において AuNP の分配係数は Pt'NP よりも大きい。

以上をまとめると、以前、我々は負に帯電した AuNP と正に帯電したリゾチーム分子の静電的相互作用によって AuNP は集積化すると結論した[1]。このことと本研究を考え合わせると、微粒子が結晶表面と相互作用する前の微粒子の分散性が良いことが第一の関門で、微粒子と結晶表面のリゾチームの静電的相互作用は第二の関門と考えられる。PtNP と Pt'NP については第一の関門の分散性の違いが集積化効率の違いの原因になっていると考えられる[2]。

[1] Y. Takeda, T. Kondow, F. Mafuné *Chem. Phys. Lett.* 504, p175 (2011)

[2] Y. Takeda, F. Mafuné *Chem. Phys. Lett.* 604, p110 (2014)