

4P022

ポリ(*N*-イソプロピルアクリルアミド)の相転移に対する
ホフマイスターイオンおよび巨大分子混み合いの複合効果
(九州大学) ○米山可凜, 迫田憲治, 関谷博

The combined effect of Hofmeister ions and macromolecular crowding
on the phase transition of poly(*N*-isopropylacrylamide)

(Kyushu univ.) ○Karin Yoneyama, Kenji Sakota, Hiroshi Sekiya

【緒言】 タンパク質水溶液に塩を添加するとタンパク質の凝集が促進あるいは抑制されることがある。水溶液中におけるタンパク質の凝集機構の解明は、基礎科学的な興味だけでなく、アルツハイマー病のようなタンパク質凝集に起因する病気の発症機構の理解やタンパク質を基盤とした薬剤の凝集を抑制する手法の開発にとっても重要であり、化学、生物学や医薬品開発など広い分野において基礎的な課題となっている。ポリ(*N*-イソプロピルアクリルアミド) (PNIPAM) はタンパク質の低温変性のモデルとしてよく扱われる温度応答性ポリマーである。PNIPAM は $\sim 31^{\circ}\text{C}$ でコイル-グロビュール転移を起こし、転移温度以下では広がったランダムコイル状態、転移温度以上ではコンパクトなグロビュール状態をとる。更にグロビュール状態のPNIPAMは可視光の波長スケール以上の大きさの凝集体を形成するため、光散乱により溶液が白濁する(図1)。

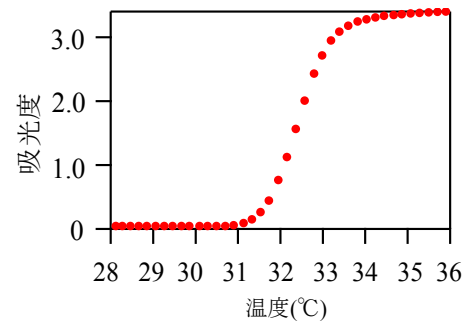


図1. PNIPAMの転移曲線

PNIPAMの相転移に対する塩の添加効果はホフマイスター系列に従うことが知られている。ホフマイスター系列は強く水和するイオン(コスモトロープ)と弱く水和する

イオン(カオトロープ)からなり、一般的にコスモトロープは塩析、カオトロープは塩溶効果を示す。ところで、実際の細胞中ではタンパク質などの生体高分子が混み合った環境にある。このような巨大分子の混み合い環境では、タンパク質の折り畳み・酵素反応といった生化学過程の速度や平衡が変化することが知られている。過去の研究から、本研究で用いたポリエチレングリコール

(PEG)は、PNIPAM水溶液中において混み合い分子として働き、その混み合い効果によりPEGの濃度上昇に伴ってPNIPAMの転移温度が低下することが知られている。本研究ではカオトロピック塩の1つであるヨウ化ナトリウム(NaI)に注目した。生体内により近い環境である塩と高分子の共存溶液中におけるPNIPAMの相転移温度を測定することで、NaIとPEGが相転移に及ぼす複合効果について調査した。

【実験手法】 分子量40000のPNIPAM 2.0 mg/mLと分子量20000のPEG 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300 mg/mLの溶液, PNIPAM 2.0 mg/mLとNaI 0~2.0 Mの溶液, NaI 0~2.0 Mの水溶液で調整したPEG 0, 50, 150, 250 mg/mLの溶液をPNIPAM 2.0 mg/mLと混合した溶液をそれぞれ調整し、532.0 nmにおける吸光度の温度変化を測定した。各溶液の吸光度が上昇し始めた温度を転移温度とすることで

PNIPAM の転移温度曲線を測定した。

[結果及び考察] まず、PEG のみを添加したときの PNIPAM の転移温度変化を測定した。各溶液における転移温度 T_1 と PNIPAM 水溶液における転移温度 T_0 (30.9°C) の差 $\Delta T_1 = T_1 - T_0$ を PEG の濃度に対してプロットすると図 2 のようになった。PEG の混み合い効果により、PEG の濃度が増加するほど転移温度が低下していることが確認できる。

つぎに、PEG の濃度を一定にして NaI の濃度を変化させたときの転移温度変化を測定した。各溶液における転移温度 T_2 と、図 2 より得られた PNIPAM+PEG 水溶液における転移温度 T_1 の差 $\Delta T_2 = T_2 - T_1$ を NaI の濃度に対してプロットすると図 3 のようになった。もし、PEG の混み合い効果と NaI の添加効果が単純な足し合わせになるとすると、PEG の添加量を変化させても図 3 のプロットは全て同一の

曲線になるはずであるが、実際はそうになっていない。このことから、PEG の混み合いと塩添加は PNIPAM の相転移に対して複合的に効果を及ぼしていることが分かった。また、図 3 から、PEG の添加量が増加するにしたがって、転移温度の非線形的な上昇部分が徐々に消失していき、塩濃度に対して転移温度が線形的に低下するようになっていくことが分かる。Cremer らによると、カオトロープは、低濃度ではアニオンが PNIPAM に吸着することによって非線形的に転移温度を上昇させるが、塩濃度が増加するにつれて、PNIPAM とその周辺の疎水性水和層の間の界面張力が増加するため、転移温度が線形的に低下するとしている[1]。このことをふまえると、図 3 で観測された PEG の濃度増加に伴う転移温度変化の変遷から、PNIPAM 水溶液中に PEG が増加するほど、NaI が PNIPAM に吸着しにくくなっていると考えられる。PNIPAM の相転移において、塩濃度が増加するにしたがって転移温度が線形的に減少する振る舞いは、一般にコスモトロピック塩によく見られる現象である。

以上の結果から、PEG の添加により PNIPAM 水溶液が混み合い環境になるにつれて、NaI のカオトロピックな性質が減少し、コスモトロピックな性質が現れるようになる、つまり、NaI がカオトロープからコスモトロープに変化することが示唆された。当日は NaI 以外のカオトロピックアニオンについても同様の実験を行った結果に基づいて、ホフマイスターアニオンの添加効果および PEG の混み合いの複合効果を系統的に調査した結果を報告する。

[参考文献] (1) Zhang, Y. J.; Furryk, S.; Bergbreiter, D. E.; Cremer, P. S., *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 14505.

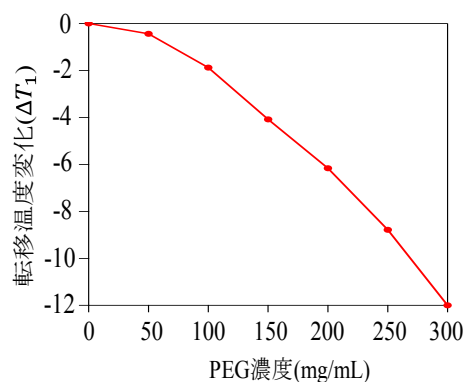


図2. PEGの濃度に対する転移温度変化

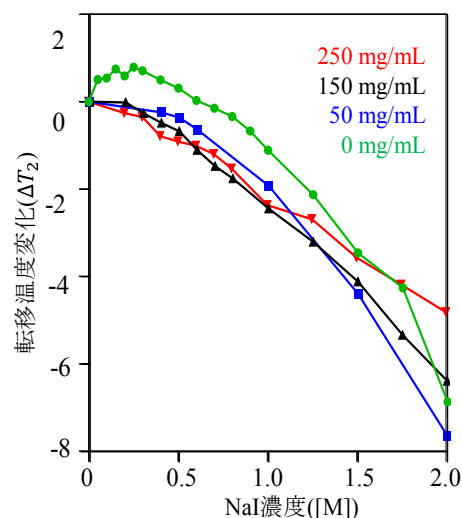


図3. PEGの濃度を変えた時のNaIの濃度に対する転移温度変化