

変性タンパク質を認識する刺激応答性ポリマーの創製と応答挙動

(関西大化学生命工¹, 関西大 ORDIST²) ○村嶋優徳¹, 河村暁文^{1,2}, 宮田隆志^{1,2}
 Design of Stimuli-Responsive Polymers That Recognize Denatured Proteins and Their Responsive Behavior (¹*Faculty of Chemistry, Materials and Bioengineering, Kansai University,* ²*ORDIST, Kansai University*) ○Yuto Murashima,¹ Akifumi Kawamura,^{1,2} Takashi Miyata^{1,2}

Proteins exhibit various unique functions owing to their ordered three-dimensional structure with specific conformations. When proteins undergo conformational changes by heat or pH change, they are denatured to lose their original function and their aggregates sometimes cause diseases. Therefore, the development of materials for detecting protein denaturation is necessary for diagnosis and treatment of these diseases. In this study, we synthesized temperature-responsive polymers with cyclodextrins (CDs) as protein binding sites, which have a lower critical solution temperature (LCST), by the copolymerization of acryloyl-CD, *N*-isopropylacrylamide and oligo(ethyleneglycol) methacrylate. The transmittance of the aqueous polymer solution remained constant at approximately 100% over the entire temperature range, but the polymer exhibited a cloud point in the presence of protein. Furthermore, when a protein denatured by annealing at 90 °C was added to the polymer solution, the cloud point shifted to a low temperature with increasing annealing time for preparing denatured proteins. The CD-containing polymers have potentials in sensing and separating denatured proteins.

Keywords : *Temperature-responsive Polymer; Molecular Recognition; Lower Critical Solution Temperature; Cyclodextrin; Denatured protein*

タンパク質は特定の構造を形成することにより固有の機能を発現する。しかし、熱や pH 変化によりタンパク質のコンフォメーションが変化すると、本来の機能を失った変性状態となり、その凝集体は疾病を引き起こす原因となる。そのため、この疾病の診断や治療にはタンパク質の変性を認識できる材料の開発が必要である。本研究では、変性したタンパク質を識別するリガンドとしてβ-シクロデキストリン (CD) を有するモノマーとポリマー状態で下限臨界溶液温度 (LCST) を示すモノマーとの共重合により、CD 含有温度応答性ポリマーを合成した。このポリマー水溶液の透過率は全ての測定温度範囲において約 100% で一定であったが、タンパク質存在下でポリマーが不溶となる曇点を示した。さらに、加熱により変性させたタンパク質をポリマー溶液に加えると、加熱時間が長い変性タンパク質ほど曇点が低温側にシフトした。これは、ポリマーの CD がネイティブタンパク質と変性タンパク質を認識し、その疎水性の差異に基づいてポリマー鎖の親水性が低下するためと考えられる。したがって、このポリマーを利用すると簡易的に変性タンパク質を検出できることが明らかとなった。

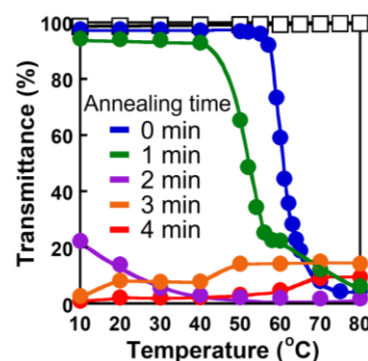


Fig. 1. Effect of temperature on the transmittance (650 nm) of P(CD-co-NIPAAm-co-OEGMA) (CD content: 10.4 mol%) in a phosphate buffer solution (pH 7.4, 50 mM) without (square) and with native and denatured lysozymes (color circle) prepared by annealing at 90 °C for various periods (protein concentration.: 5.0 mg/mL).