

タンパク質と PEDOT の複合化による PEDOT/Protein ナノ粒子の蛍光性酸化還元プローブへの応用

(名工大院工) ○市来 健太郎・水野 稔久*

・近藤 雅晴・出羽 毅久・田中 俊樹

[緒言] 共役性高分子である PEDOT (Poly 3,4-Ethylenedioxythiophene) は、重合度に応じて異なる酸化還元電位をもち、可逆的な酸化還元挙動を示すため、酸化還元プローブ作製に於ける電位認識部位としての応用が考えられる。しかしその溶解性の悪さから、*in vivo* での利用を考えた場合には生体高分子と複合化し利用することが合理的と考えられる。これまでに当研究室では、両親媒性のヘリックスバンドル蛋白質 COMP-H6 と PEDOT のモノマーである EDOT を水中で共存下酸化重合を行うことにより、PEDOT オリゴマーと蛋白質が複合化しナノ粒子が生成されることを報告している。本研究では、さまざまな天然蛋白質に対しても同様に PEDOT と複合しナノ粒子化が可能か、さらに得られる PEDOT/protein ナノ粒子の電気化学的性質、蛍光色素修飾による酸化還元プローブへの応用について検討を行った。

[実験方法と結果] 天然蛋白質には Ribonuclease A (RNase A)、 γ -globulin、 α -chymotrypsin、Lysozyme、BSA を用いた。それぞれの蛋白質共存下、水溶液中にて EDOT を超音波分散させた後、43°Cにて酸化重合を行い PEDOT との複合化を行ったところ、Gdm-HCl 非存在下においてはいずれの蛋白質でも複合化ができなかったが、Gdm-HCl により部分的に変性させることで、BSA を除く全ての蛋白質で、複合化及びナノ粒子化が可能であった。ゲル濾過により生成したナノ粒子を単離後、透過型電子顕微鏡 (TEM)、動的光散乱 (DLS) 測定により評価を行ったところ、いずれも ~ 50 nm 程度の粒子径を持つことが分かった。可視吸収スペクトルにより、PEDOT 部位の重合度の違いを比較したところ、用いる蛋白質により吸収最大波長に違いが見られたことから、PEDOT 部位の重合度に差があることが示唆された。また SAM により表面をカチオン修飾した金基板上に各 PEDOT/Protein ナノ粒子をキャストし、サイクリックボルタンメトリー測定による検討を行ったところ、応答する酸化還元電位に違いが見られた。

次に、PEDOT/Protein ナノ粒子表面への蛍光色素修飾を行うことで、酸化還元蛍光プローブとして機能するか検討を行った。FITC を PEDOT/Protein ナノ粒子表面に表在するアミノ基に対して修飾を行い (FITC-PEDOT/RNaseA)、PEDOT の酸化状態と還元状態でフルオレセインの蛍光強度の変化を評価した。その結果、フルオレセインの蛍光最大波長である 512nm の蛍光強度に 3 倍以上の変化が見られたことから、PEDOT/Protein ナノ粒子を用いた様々な電位に応答した蛍光プローブの開発が可能と示唆されている。

Application of the PEDOT/Protein nanoparticle to fluorogenic redox probe

K. ICHIKI, T. MIZUNO*, M. KONDO, T. DEWA, T. TANAKA (Graduate School of Engineering, Nagoya Institute of Technology, cju15009@stn.nitech.ac.jp)

To date, we reported the successful preparation of the PEDOT/Protein nano-particles, consisting of PEDOT and amphiphilic α -helical bundle proteins, COMP-H6, by an oxidative polymerization of EDOT in the presence of protein in an aqueous media. Herein, we examined to prepare the other PEDOT/Protein nano-particles, consisting of PEDOT and various natural proteins and applied these for a fluorogenic redox probe by the surface modification of FITC.