

シリカナノ粒子とコラーゲンの複合体形成 Complex Formation of Silica Nanoparticles and Collagen

寺尾 憲^{1*}, 大坪 真理¹, 阿部 晟大¹

大阪大学大学院理学研究科高分子科学専攻、〒560-0043 豊中市待兼山町 1-1

Ken Terao*, Mari Otsubo, and Masahiro Abe

Department of Macromolecular Science, Graduate School of Science, Osaka University,
Toyonaka, 560-0043, Japan

1 はじめに

比表面積が非常に大きいこと、そして量子サイズ効果を示すものがあることから、様々なナノ粒子が合成されている。新たな薬物送達法やバイオセンサーの開発を目的として、これらナノ粒子とタンパク分子との複合体形成挙動は、これまで多く研究されている。なかでもシリカナノ粒子と球状タンパクの集合体形成挙動については多くの研究例があり、静電引力が重要であることが報告されている。

一方で哺乳類が最も多く産生するタンパクであるコラーゲンを鋳型としたシリカとのハイブリッド材料の報告が多いのに対し、コラーゲンとシリカナノ粒子の複合体形成挙動を詳しく調べた例は少ない。

研究の準備段階で、我々は弱酸性水溶液中で負のゼータ電位を持つシリカナノ粒子とアテロコラーゲンの混合溶液が白濁すること、そして、アテロコラーゲンの三重らせん構造が融解する高温ではその濁りが強くなることを見出した(図1)。さらに低温に戻しても濁りはそのままであった。変性したコラーゲンの三重らせん構造は、温度を下げて容易には再形成されないことを考慮すると、この濁りの温度変化はコラーゲンのコンホメーションの変化と相関があるように推察された。そこで本報では、コラーゲンのコンホメーション変化に伴うシリカナノ粒子の凝集構造変化について調べるため、温度を変えて SAXS 測定を行った結果[1]についてまとめる。

2 実験

I型コラーゲン分子両末端の、テロペプチド部位を酵素反応により取り除いたアテロコラーゲン、そして市販の水分散シリカナノ粒子である Ludox LS と Ludox CL を本研究に用いた。Ludox CL は表面がアルミナで被覆されたものである。pH が 3 および 4 の緩衝水溶液を溶媒として、シリカナノ粒子の質量濃度 $c_{NP} = 1 \text{ mg/mL}$ の溶液とアテロコラーゲンの質量濃度 $c_{AC} = 1 \text{ mg/mL}$ の溶液を等量混合した試料溶液について、SAXS 測定を異なる温度で行い、過剰散乱強度 ΔI を散乱ベクトルの絶対値 q の関数として得ることにより、シリカナノ粒子の凝集状態を観測した。

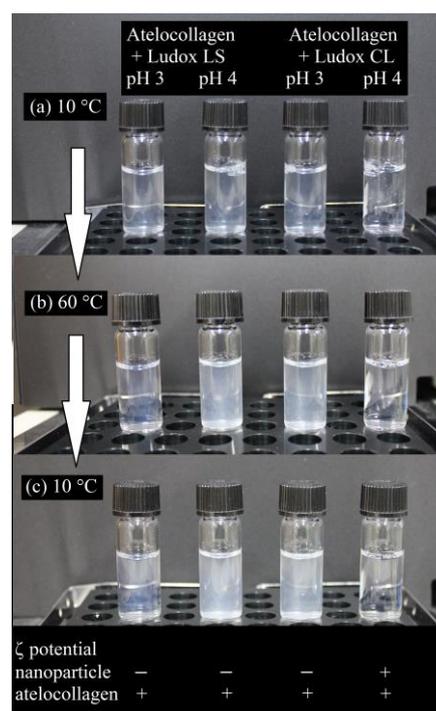


図 1. シリカナノ粒子とアテロコラーゲン混合溶液の目視観察結果。Reprinted with permission from ref 1. Copyright 2020 American Chemical Society.

3 結果および考察

図2に、pH4でのLudox LSとアテロコラーゲン混合水溶液の過剰散乱強度 ΔI を q に対して両対数プロットしたものを示す。図中の黒丸はアテロコラーゲンを含まないLudox LS溶液のデータであり、その体積が対数正規分布を持つ球の散乱関数(赤線)でよく表される。これに対し、低温(0 °C)で混合し、15 °Cで測定した場合、 $q < 0.15 \text{ nm}^{-1}$ の小角領域にのみ強い散乱がみられる。溶液の目視観察からは濁りがみられていたが、シリカナノ粒子の凝集状態はあまり密ではないことが分かる。

これに対し、すべての三重らせんが融解する50 °Cに昇温すると、 $q = 0.25 \text{ nm}^{-1}$ 付近の ΔI が1桁程度小さくなることが分かる。このことは、ほとんどすべてのシリカナノ粒子が1本鎖のコラーゲン分子と

複合体を形成し、比較的密度の高い凝集体を形成しているためと考えられる (図 3)。

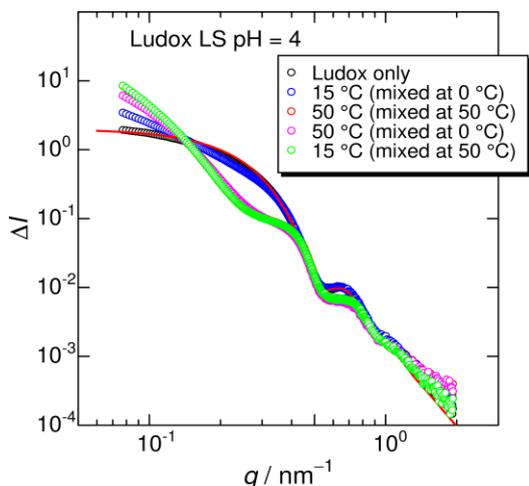


図 2. Ludox LS-アテロコラーゲン混合水溶液 (pH 4) の過剰散乱強度 ΔI 対 q の両対数プロット [1]。図中の赤線は多分散球に対する理論値。Reprinted with permission from ref 1. Copyright 2020 American Chemical Society.

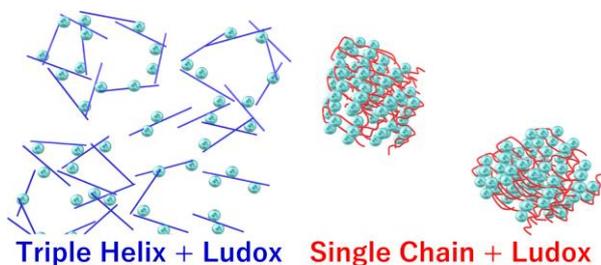


図 3. シリカナノ粒子とコラーゲンの複合体形成の模式図。Reprinted with permission from ref 1. Copyright 2020 American Chemical Society.

$q < 1 \text{ nm}^{-1}$ の領域ではアテロコラーゲンからの散乱が Ludox からの散乱と比較して無視できるほど小さい。そこで Ludox LS の ΔI を基準として決定した、混合水溶液中のシリカナノ粒子の構造因子 $S(q)$ を図 4 に示す。コラーゲンが一本鎖 (パネル a) と三重らせん (パネル b) を取る状態で、 $S(q)$ が大きく異なることが分かる。これらのデータを粘着性剛体球理論を使って解析すると、コラーゲンが一本鎖となる条件で、コラーゲン分子を介したシリカナノ粒子間の引力的相互作用が顕著に強くなることが示された。

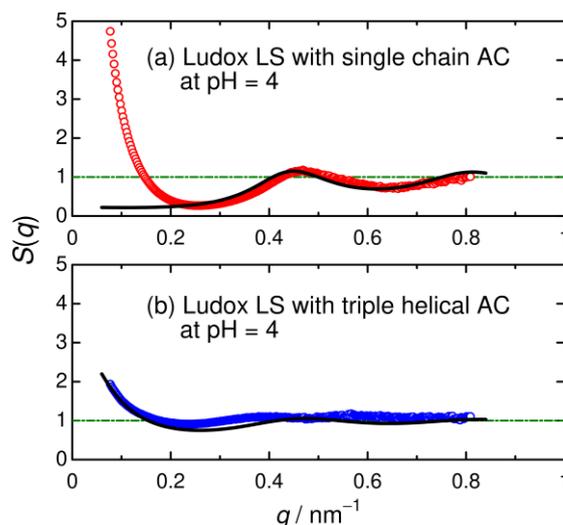


図 4. Ludox LS-アテロコラーゲン混合水溶液 (pH 4) の $S(q)$ 対 q のプロット [1]。実線は粘着性剛体球に対する理論値。

1 本鎖コラーゲンが三重らせんコラーゲンよりもシリカナノ粒子と強く相互作用する理由として、1 本鎖コラーゲンとシリカ粒子間の水素結合も重要であることが挙げられる。すなわち、シリカナノ粒子とコラーゲンが複合体を形成する際に最も重要なのは静電的引力であるのに対し、形成される複合体の構造にはコラーゲンのコンホメーションも重要な役割を果たすことが示された。

参考文献

[1] K. Terao, M. Otsubo, M. Abe, Langmuir, **36**, 14425 (2020).

* kterao@chem.sci.osaka-u.ac.jp