

# 微量塩素ドープ非晶質シリカ粒子の水和状態とタンパク質吸着形態の解明

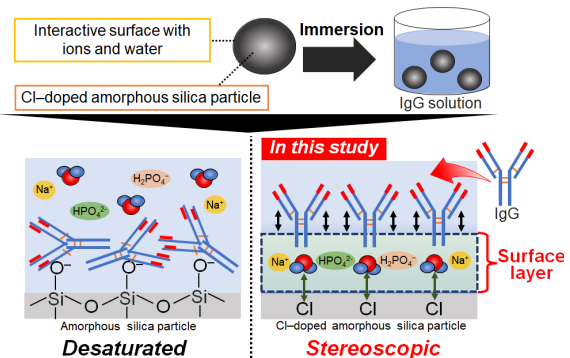
(長岡技科大院工) ○木村 玲雄, (榑オハラ・クオーツ) 犬井 正彦, 茶谷 直,  
(九工大学院工) 本塚 智, (長岡技科大院工) 劉 自振, 多賀谷 基博\*

**Elucidation of hydration state and protein adsorption behavior on trace chlorine-doped amorphous silica particles** / (Nagaoka Univ. Tech.) R. Kimura, (Ohara Quartz Co., Ltd.) M. Inui, S. Chatani, (Kyushu Inst. Technol.) S. Motozuka, (Nagaoka Univ. Tech.) Z. Liu, M. Tagaya\* / The physicochemical properties of trace chlorine-doped amorphous silica particles (Cl-Asp) containing the specific hydration states were investigated for the steric adsorption of immunoglobulin (IgG). The surfaces of Cl-Asp effectively suppressed the generation of silanol groups to decrease the surface negative charge. The surface polarization of Cl-Asp was efficiently interacted with the ions in biological solution to form the bonding water molecules, leading to the stereoscopic adsorption state of IgG. / E-mail: tagaya@mst.nagaokaut.ac.jp

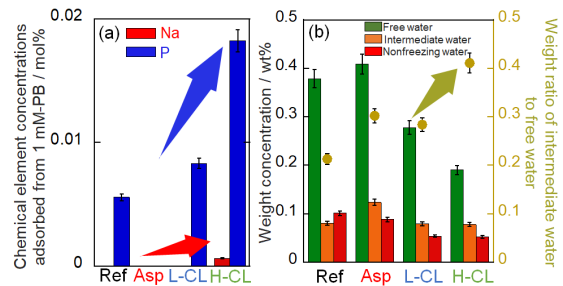
**緒言** 非晶質シリカ粒子は生体毒性が低く食品応用などがなされているが、タンパク質の吸着状態が未解明である。タンパク質の吸着状態を解明・制御すれば幅広いバイオ・医療応用が期待できるものの、従来の非晶質シリカはシラノール基密度が高いために不凍水を多く形成して、タンパク質を変性して吸着する問題があった。そこで、本研究では、シラノール基密度の低い非晶質シリカ粒子に微量の塩素をドープして、シラノール基を失活させ、さらに生体液中のリン酸イオンの吸着による特異的な表面層を形成して、水和状態とタンパク質の立体吸着の制御を狙いとした。本発表では、塩素ドープ非晶質シリカ粒子表面における水和状態と抗体タンパク質 (IgG) 吸着形態を評価し、高次構造を維持した立体吸着のための水和状態を評価・考察した (Scheme 1)。

**実験** 本研究では、VAD (Vapor Phase Axial Deposition) 法で合成した非晶質シリカ粒子を用いた。塩素ドープ量 (0, 0.05, 0.40 (mol%)) の順に Asp、L-CL、H-CL と命名した。参照資料として日本アエロジル社のヒュームドシリカ (Ref) を用いた。水和状態を評価するために、各粒子を 1 mM のリン酸緩衝液 (1 mM-PB) に 37 °C・6 h 浸漬し、遠心分離によって粒子を回収した。次に、1 mM-PB を溶媒とした IgG 溶液を調製し、37 °C・6 h 浸漬によって IgG を吸着させた。評価は、XRF と FT-IR スペクトルにより行った。水和状態について、FT-IR スペクトルの OH 基の吸収ピークを疑似フォークト関数によって 3 成分 (不凍水, 中間水, 自由水) に分離し、その成分割合と TG-DTA による水と水の重量濃度の積によって各成分の重量濃度を算出した。IgG の 2 次構造は、FT-IR スペクトルのアミド I バンドの吸収ピーク分離して、立体吸着性を  $(\alpha\text{-helix} + \beta\text{-sheet})/(\text{Random} + \text{Turn})$  を評価した。

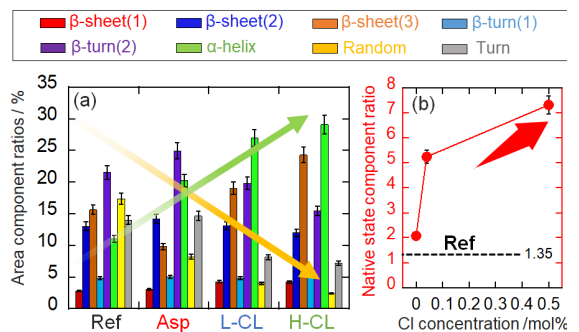
**結果・考察** XRF によるイオンの吸着濃度 (Fig. 1(a)) から、塩素ドープ量の増加に伴ってリン酸イオンの吸着濃度が増加した。さらに、塩素ドープによりシラノール基が失活するために水和層の重量濃度減少が見られたが、自由水に対する中間水の割合が増加した (Fig. 1(b))。これは塩素ドープによって、粒子表面層内部に Si-Cl が形成して表面の電子密度が高くなり、粒子と水・イオンの相互作用が強くなり、各種イオンが多く吸着し、表面層が形成したためと考えた。さらに、IgG を吸着させた結果、塩素ドープ量が増加するに伴って Random の割合が減少し  $\alpha\text{-helix}$  の割合が増加した (Fig. 2(a))。そして、塩素ドープ量が増加するに伴って IgG の立体吸着性の割合が増加した (Fig. 2(b))。以上により、非晶質シリカへの微量塩素ドープによって、イオン吸着濃度と中間水割合が増加して表面層が形成されるために、IgG の 2 次構造が維持されて吸着したと考えられた。



**Scheme 1.** Illustration of the strategy of this study for inducing the stereoscopic adsorption state of IgG.



**Fig. 1.** (a) Chemical element (Na and phosphorous) concentrations adsorbed on the particles from 1 mM-PB with the immersion. (b) FT-IR spectral deconvolution results of weight concentration of hydration layers of three types on the particles, and the weight ratio of intermediate water to free water.



**Fig. 2.** (a) FT-IR spectral deconvolution results (i.e., secondary structures) of the amide I bands of the adsorbed IgG on the particles, and (b) the stereoscopic adsorption (i.e., native) state component ratio with the Cl concentration.