

## タンパク質の吸着によるコロイド粒子のゼータ電位の変化 Behavior of zeta potential of colloid particles covered with proteins

○山口 敦史\*, 小林 幹佳\*\*

○Atsushi Yamaguchi\*, Motoyoshi Kobayashi\*\*

### 1. 研究の背景

濁水中や土壌中には腐植、多糖類、タンパク質などの有機物が存在する。これら有機物は粘土鉱物・酸化物などのコロイド粒子に吸着し、コロイド粒子の表面電位を変化させ、凝集・分散や移動現象に影響を与える。また、植物の種子由来のタンパク質が凝集剤として作用する例が知られている。したがって、タンパク質の吸着によるコロイド粒子の表面電位の変化を予測し、制御に活用することは重要である。しかし、タンパク質の吸着がコロイド粒子の表面電位に与える影響は定量的には十分に明らかになっていない。

そこで本研究では、モデルタンパク質とモデルコロイド粒子としてリゾチームとシリカ粒子を採用し、リゾチームの吸着量とシリカ粒子の表面近傍の電位であるゼータ電位を測定した。さらに、測定値について理論解析を行うことで、リゾチームの吸着量とシリカ粒子のゼータ電位の関係を明らかにすることを目的とした。

### 2. 試料と実験方法

#### 2.1 実験試料

リゾチームは大きさが  $3 \times 3 \times 4.5$  nm の長球状であり、立体安定性が高いタンパク質である。本研究で設定した実験条件である 10 mM KCl 溶液において、電気泳動移動度の測定と解析によって得られたゼータ電位は pH 5 のとき 31 mV、pH 7 のとき 16 mV であった。シリカ粒子は粒径が  $302 \pm 20$  nm のものを使用した。後述のコロイド振動電流法を用いて測定したゼータ電位は、10 mM KCl 中において pH 5 のとき -10 mV、pH 7 のとき -41 mV であった。

#### 2.2 実験方法

実験に使用した懸濁液は、シリカ粒子濃度を 50 mg/mL、KCl 濃度を 10 mM に固定し、リゾチーム濃度を 0~1.2 mg/mL まで系統的に変化させて調製された。さらに、HCl と KOH により懸濁液の pH を 5 と 7 に調整した。この懸濁液を室温 20 °C で 24 時間振とう攪拌した。

シリカ粒子へのリゾチームの吸着量の測定では、上記の懸濁液を遠心分離しシリカ粒子を沈降させた。得られた上澄みの吸光度(波長 280 nm) を測定し、検量線によって求められた上澄みのリゾチーム濃度と添加濃度との差から吸着量を算出した。

調製した懸濁液中のシリカ粒子のゼータ電位は、超音波方式粒度分布・ゼータ電位測定装置(日本ルフト)により測定された。

---

\* 筑波大学大学院 生命環境科学研究科, University of Tsukuba, キーワード: コロイド, 水環境

\*\*筑波大学 生命環境系, University of Tsukuba

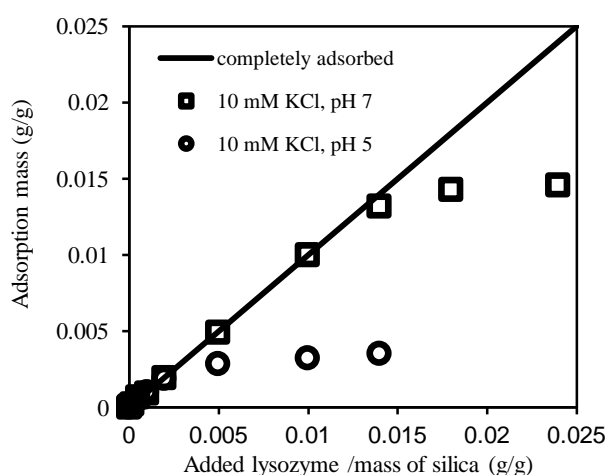
### 3. 解析手法

シリカ粒子へのリゾチームの吸着量とゼータ電位の関係について、3D モデルを用いて解析を行った。3D モデルは粒子が吸着した表面周囲の溶液の流れやイオン分布を解くことで、粒子が吸着した表面のゼータ電位を算出する理論モデルである。本研究ではシリカ粒子とリゾチームそれぞれのゼータ電位と吸着量から、リゾチームが吸着したシリカ粒子のゼータ電位を算出した。

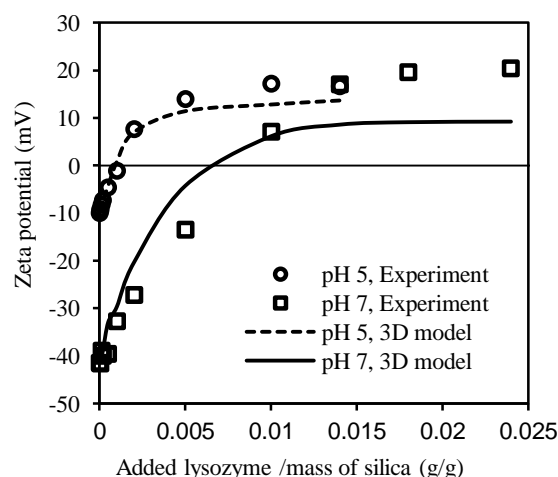
### 4. 結果と考察

Fig. 1 にシリカ粒子へのリゾチームの吸着量の測定値を記号 (○、□) として示す。また、図中の実線は添加したリゾチームがすべて吸着した場合の吸着量を示している。グラフよりリゾチームの吸着量が最大吸着量付近に達するまでは、添加したリゾチームがすべて吸着することがわかる。また pH 7 のときの方が pH 5 のときに比べ最大吸着量が大きい。これは、pH 7 ではリゾチームのゼータ電位の絶対値が小さくリゾチーム間の静電的な反発力が小さいこと、シリカ粒子のゼータ電位の絶対値が大きいくリゾチームとの静電的な引力が大きいことによると考えられる。

Fig. 2 にシリカ粒子のゼータ電位の測定値を記号 (○、□) として示す。グラフからいずれの pH においても、はじめ負であったシリカ粒子のゼータ電位がリゾチームの吸着によって 0 mV に近付き、さらに吸着量が増加することでゼータ電位が正になり荷電反転が起こることが確認できる。図中の破線と実線は 3D モデルによって算出したゼータ電位の解析値である。リゾチームの吸着量が小さいときには 3D モデルは測定値を良く再現している。特に、両方の pH において等電点を予測することができている。しかし、吸着量が最大吸着量に近付くと 3D モデルによる理論値は測定値よりも小さくなった。これはリゾチームの吸着によって、リゾチームとシリカ粒子それぞれのゼータ電位が変化したためだと考えられる。



**Fig.1** 10 mM KCl 中におけるリゾチームの添加量と吸着量の関係. Adsorption mass of lysozymes on silica particles at 10 mM KCl. Symbols are experimental values (○: pH 5, □: pH 7). The solid line represents the adsorption mass if all the added lysozymes are completely adsorbed on silica particles.



**Fig.2** 10 mM KCl 中におけるリゾチームの添加量とゼータ電位の関係. Zeta potentials of silica particles covered with lysozymes at 10 mM KCl. Symbols are experimental values (○: pH 5, □: pH 7). Lines represent the calculated values with 3D model from adsorption mass and zeta potentials of lysozymes and silica particles.