

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月 7日現在

機関番号：17102

研究種目：新学術領域研究（ソフト界面）

研究期間：2008～2012

課題番号：20106003

研究課題名（和文）生体機能性樹状高分子を用いたソフトインターフェースの設計

研究課題名（英文） Design of Soft-Interface with Biofunctional Branched Polymers

研究代表者

三浦 佳子 (MIURA YOSHIKO)

九州大学・工学研究院・教授

研究者番号：00335069

研究成果の概要：

樹状高分子を基軸として、界面に規則正しく分子を配列、配向した界面の創製を行い、生体機能界面としての機能について検討を行った。

まず、クリックケミストリーを用いて、糖 dendrimer の合成と界面固定化を行い、糖タンパク質の相互作用を解析するための糖 dendrimer アレイの創製を行った。糖 dendrimer アレイでは dendrimer の世代の上昇とともに糖の集合構造が提示された。硫酸化糖による dendrimer アレイでは、アルツハイマー病アミロイド β に対する相互作用を示し、糖の価数によって相互作用、形態、毒性が変化することがわかった。

また、dendrimer を固定化した界面の濡れ性やタンパク質忌避活性を検討した。オリゴエチレングリコールで修飾した dendrimer 自己組織化膜では、高いタンパク質忌避活性を発揮した。オリゴエチレングリコールで修飾した dendrimer は末端がメチルエーテルである場合に大腸菌に対する親和性を示し、分子配向と粘弾性に対応することが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：

Dendrimer immobilized interfaces were prepared, and the material properties were investigated in terms of the regular and oriented molecular assemblies.

First, the glycodendrimer interfaces were prepared as sugar array, and the sugar-protein interactions were investigated. Since the glycodendrimer with higher generation displayed the dense saccharide structure, the glycodendrimer was a suitable tool to investigate the sugar-protein interaction. The multivalent dendrimer sugar arrays were also prepared with a sulfonated sugar. The glycodendrimer arrays with a sulfonated sugar showed the interaction with Alzheimer amyloid β peptide. Amyloid β formed fibril with low toxicity on the monovalent sugar interface, and formed spherical objects with high toxicity on the divalent and trivalent sugar interface.

The self-assembled monolayers (SAMs) of polyamidoamine (PAMAM) dendrimer with carboxylate terminal showed the strong wettability due to the densely packed hydrophilic group and the large surface area. In addition, the SAMs of PAMAM with higher generation showed the inert properties to protein adsorption because of molecular repulsion.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	4700,000	1410,000	6110,000
2009年度	10200,000	3060,000	13,260,000
2010年度	10200,000	3060,000	13,260,000
2011年度	8500,000	2550,000	11,050,000
2012年度	5900,000	1770,000	7670,000
総計	39,500,000	11,850,000	51,350,000

研究分野：高分子化学

科研費の分科・細目：複合化学

キーワード：界面、樹状高分子、生体高分子、分子認識、自己組織化

1. 研究開始当初の背景

細胞の界面では、糖鎖やペプチドなどが制御された空間分布を持って精密に配置しており、それによって生体間相互作用及び生体のシグナル伝達を制御していることが知られている。分子レベルで生理活性物質、官能基を制御する技術が創製されれば、生命現象を明らかにするのに有用であるばかりでなく、生命現象を制御するツールになると期待できた。

2. 研究の目的

本研究では、分子を自己組織化させるボトムアップの手法を用いることで、オームストロングからナノのオーダーで精密に制御された分子界面の作製を行った。また、それに伴い創製する精密な生体界面を利用して生体機能を発現させ、生命現象を制御することを目的とした。特に規則正しい分岐構造と定まった分子量を持つ dendrimer を構造構成要素として用いた。

3. 研究の方法

規則正しい樹状高分子である、dendrimer を構成要素として、制御された界面の構築を行った。

まず、生体シグナル分子として、生理活性糖を用い、dendrimer のコア部分または末端部分に結合させた dendrimer を合成した。dendrimer についてはベンジルエーテル構造を持ち、糖に保護基を使用せずにクリック反応によって行った。この分子を構成要素として自己組織化膜を形成させて、規則正しく生理活性糖が配置した界面空間の創製を行った。これによって糖認識タンパク質の相互作用、また、アルツハイマー病アミロイドβとの相互作用の解析を行った。

また、dendrimer の独特の構造を活かした界面について物理化学的な性質を調べた。ポリアミドアミン (PAMAM) dendrimer の自己組織化膜を形成させて、末端に親水性の官能基を配置した上で、濡れ性の改善について検討した。また、dendrimer の末端にオリゴエチレングリコールを配置した分子によって自己組織化膜を形成させ、タンパク質忌避活性の発現について検討した。

4. 研究成果

主に以下のような結果を得た。

① 糖 dendrimer 界面、糖アレイの開発
規則正しい分岐構造を持つ、糖 dendrimer を、クリック反応を利用して合成し、金基板に対して結合させた。この糖 dendrimer に対して、糖-タンパク質相互作用の解析を行った。糖-タンパク質の相互作用は dendrimer の世代上昇と共に、強くなり多価効果の発揮が観察された。また、硫酸化糖を dendrimer アレイとして固定化した。硫酸化糖 dendrimer アレイは、アルツハイマー病アミロイドβペプチドと相互作用し、多価効果によって、増強された。また、硫酸化糖の価数によって、アミロイドβの凝集形態及び、毒性に大きな差が生じた。硫酸化糖を単価で提示した場合には、毒性の少ない線維状凝集体を形成したが、糖を二価、三価で提示した場合には毒性の高い球状凝集体を形成し、アミロイドβの生体機能は界面に提示した糖との相互作用によって大きく変化することが示された。

② dendrimer 界面の生体機能の解析

dendrimer を固定化した界面では、その構造に基づいて、球状の凹凸構造と分子末端に官能基が密集した構造を取る。カルボン酸をポリアミドアミン (PAMAM) dendrimer の分子末端に結合させた dendrimer では、密にパッキングし、3 次元的に提示された親

水性官能基の効果によって、著しく親水性の増大が見られた。

また、PAMAM デンドリマーの自己組織化膜 (SAM) を形成させたところ、デンドリマーの世代が大きくなるほど、タンパク質が付着しない傾向が認められた。更に第4世代のデンドリマーSAM に対して、オリゴエチレングリコールした基材については非常に高いタンパク質忌避活性を示すことがわかった。一方で、オリゴエチレングリコールで修飾した PAMAM デンドリマーSAM については、タンパク質忌避活性は非常に高いにも関わらず、大腸菌付着性が高いという特異的な現象を示した。大腸菌付着性については、分子薄膜の粘弾性によって説明されることがわかった。

③ 糖鎖高分子界面の創製と分離デバイスへの応用

高分子の側鎖やデンドリマーの分子末端に対して、糖鎖を結合させた糖鎖高分子については、多価効果に基づく高い分子認識性を示すことが知られている。糖鎖高分子を多孔膜に対してグラフトした基材を調製し、糖鎖高分子の分子認識能に基づく、タンパク質分離デバイスの創製を行った。糖鎖高分子は糖の分子認識性と親水性に基づいて、タンパク質に特異的な分子認識能、吸着能を示し、生体親和性に基づくタンパク質分離デバイスとして機能することが示された

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 26 件)

- 1) K. Funato, N. Shirahata, Y. Miura, “The Monolayer of α -Man via Si-C Bond Formation and Protein Recognition” *Thin Solid Films*, 2009, 518, 699-702.
- 2) E. Matsumoto, T. Yamauchi, T. Fukuda, Y. Miura, “Sugar Microarray via Click Chemistry: Molecular Recognition with Lectins and Amyloid b(1-42)” *Sci Technol. Adv.* 2009, 10, 034605.
- 3) T. Fukuda, S. Onogi, Y. Miura, “Dendritic Sugar-Microarrays by Click Chemistry” *Thin Solid Films*, 2009, 518, 880-888.
- 4) M. Toyoshima, Y. Miura, “Preparation of Glycopolymer-Substituted Gold Nanoparticles and Their Molecular Recognition”. *J. Polym. Sci. Part A, Polym. Chem.* 2009, 47, 1412-1421.
- 5) Y. Miura, “Inhibition of Protein Amyloidosis by Glycomaterials” *Trends in Glycosci. Glycotech.* 2009, 21, 324.
- 6) K. Funato, T. Fukuda, Y. Miura, “Monolayer Formation of Hydrocarbons with Various Reactive Groups via Photochemical Reaction on Si(111)-H Surface” *Trans. Mat. Res. Soc. Jpn.* 2010, 35, 4, 797.
- 7) T. Fukuda, E. Matsumoto, N. Yui, Y. Miura, “Peculiar Wettability based on Orientational Change of Self-Assembled Hemispherical PAMAM Dendrimer Layer” *Chem. Lett.* 2010, 39, 923.
- 8) 三浦佳子、横山義之、柴田千絵里、“エラスチンモデルペプチドを用いた温度応答性界面の創製と生体機能解析”、*高分子論文集*、2010、10、584.
- 9) Y. Miura, H. Mizuno, “Interaction Analyses of Amyloid β Peptide(1-40) with Glycosaminoglycan Model Polymers” *Bull Chem. Soc. Jpn.* 2010, 83, 1004.
- 10) T. Fukuda, E. Matsumoto, S. Onogi, Y. Miura, “Aggregation of Alzheimer Amyloid β Peptide (1-42) on the Multivalent Sulfonated Sugar Interface”, *Bioconjugate Chem.* 2010, 21, 1079.
- 11) M. Toyoshima, T. Oura, T. Fukuda, E. Matsumoto, Y. Miura, “Biological Specific Recognition of Glycopolymer Modified Interfaces by RAFT Living Radical Polymerization” *Polymer. J.* 2010, 42, 172-178.
- 12) Y. Miura, “In vivo Imaging with Saccharide”, *Trends in Glycosci. Glycotech.* 2010, 22, 259.
- 13) E. Matsumoto, K. Nishizawa, T. Fukuda, M. Takai, Y. Miura, “Separation Capability of Proteins using Microfluidics System with Dendrimer Modified Surface” *Trans. Mat. Res. Soc. Jpn.* 2011, 36, 541.
- 14) J. Ishii, M. Chikae, M. Toyoshima, Y. Ukita, Y. Miura, Y. Takamura, “Electrochemical Assay for Saccharide-Protein Interaction using Glycopolymer-Modified Gold Nanoparticles” *Electrochem Commun*, 2011, 13, 830.
- 15) T. Fukuda, Y. Inoue, T. Koga, M. Matsuoka, Y. Miura, “Encapsulation of Polythiophene by Glycopolymer for Water Soluble Nano-wire” *Chem Lett.* 2011, 40, 864.
- 16) M. Wada, Y. Miyazawa, Y. Miura, “A Specific Inhibitory Effect on Multivalent Trehalose toward Amyloid β (1-40) Aggregation” *Polym. Chem.* 2011, 2, 1822.
- 17) J. Ishii, M. Toyoshima, M. Chikae, Y. Takamura, Y. Miura, “Preparation of Glycopolymer-Modified Gold Nanoparticles and a New Approach for a Lateral Flow Assay”, *Bull Chem Soc. Jpn.* 2010, 84, 466.
- 18) E. Matsumoto, T. Fukuda, Y. Miura, “Bioinert Surface Protein Adsorption with Higher Generation of Dendrimer SAMs”,

- Colloid Surf B, 2011, 84, 280.
- 19) Y. Miura, "Design and Synthesis of Well-Defined Glycopolymers for the Control of Biological Functionalities" *Polymer. J.* 2012, 44, 679.
 - 20) H. Seto, M. Takara, C. Yamashita, T. Murakami, T. Hasegawa, Y. Miura, "Surface Modification of Siliceous Materials using Maleimidation and Various Functional Polymer Synthesized by Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer Polymerization" *ACS Applied Mat Int.* 2012, 4, 5125.
 - 21) Y. Miura, S. Onogi, T. Fukuda, "Syntheses and Biological Ability of Sulfo-Glycodendrimer via Click Chemistry" *Molecules*, 2012, 17, 11877.
 - 22) T. Fukuda, M. Kawamura, H. Mizuno, Y. Miura, "Glycosaminoglycan Model Polymers with Poly(γ -glutamate) Backbone to Inhibit Aggregation of b-Amyloid Peptide" *Polym. J.* 2012, 45, 359.
 - 23) 三浦佳子、坂本祥吾、福田知博、由井伸彦、"硫酸化高分子によるグリコサミノグリカンモデルポリマーの合成とアミロイド阻抑制機能"、高分子論文集、2012, 69, 47.
 - 24) H. Seto, Y. Ogata, T. Murakami, Y. Hoshino, Y. Miura, "Selective Protein Separation using Siliceous Materials with a Trimethoxysilane-Containing Glycopolymer" *ACS Appl. Mater. Inter.* 2012, 4, 411.
 - 25) Y. Maeda, A. Matsumoto, Y. Miura, Y. Miyahara, "Preparation of α -Mannoside Hydrogel and Electrical Detection of Saccharide-Protein Interactions using the Smart Gel-Modified Gate Field Transistor", *Nanoscale Res Lett.* 2012, 7, 108.
 - 26) H. Seto, T. Morii, T. Yoneda, T. Murakami, Y. Hoshino, Y. Miura "Preparation of Palladium-loaded Polymer Nanoparticles with Catalytic Activity for Hydrogenation and Suzuki Coupling Reactions", *Chem. Lett.* 2013, 42, 301.
 - 4) K. Funato, N. Shirahata, Y. Miura, Self-Assembled Monolayer of Micropatterned Sugar on Silicon Using a Si-C bond, IUMRS, 2008 December, Nagoya.
 - 5) S. Sakamoto, Y. Saito, N. Yui, Y. Miura, Synthesis and Biological Properties of Glycosaminoglycan Mimic Polyrotaxane, IUMRS, 2008 December, Nagoya.
 - 6) T. Fukuda, S. Onogi, Y. Miura, Dendritic Sugar-Microarrays by Click Chemistry, ICNME 2008 December, Kobe.
 - 7) K. Funato, N. Shirahata, Y. Miura, The monolayer of α -Man via Si-C bond formation and protein recognition, ICNME 2008 December, Kobe.
 - 8) Yoshiko Miura, Tomohiro Fukuda, Yukiko Hayashi, Aggregation of Alzheimer Amyloid β peptide (1-42), NT2009, 2009 November, Kanazawa
 - 9) Masayuki Toyoshima, Tomoyuki Oura, Yoshiko Miura, Preparation and biological properties of glycopolymer modified gold nanoparticle, NT2009, 2009 November, Kanazawa
 - 10) Yoshiko Miura, Hikaru Mizuno, Interaction of glycosaminoglycan model polymers with amyloid beta peptide, 238th ACS National Meeting, 2009 August, Washington, DC, USA.
 - 11) Koji Funato, Yoshiko Miura, Monoalyler of saccharide formation via Si-C bond formation and protein recognition, 238th ACS National Meeting, 2009 August, Washington, DC, USA.
 - 12) Yoshiko Miura, Glyco-nanomaterials for Biosensing, WCG 2009, 2009 December, Fusan, China.
 - 13) 三浦佳子、福田知博、デンドリティック糖クラスターによる生体機能材料の開発、バイオ高分子シンポジウム、2010年7月、東京
 - 14) 三浦佳子・豊島 雅幸・松岡 真未、自己組織性糖鎖高分子による機能性材料の創製、第59回高分子討論会、2010年9月、札幌
 - 15) 三浦佳子、樹状高分子を利用した糖鎖の集積化と生体機能の制御、第4回バイオ関連化学シンポジウム、2010年9月、大阪
 - 16) Yoshiko Miura, Tomohiro Fukuda, Multivalent Sulfonated Sugar Interface to Control the Aggregation of Amyloid beta Peptide, 日本MRS, 2010年12月、横浜
 - 17) Yoshiko Miura, Dendritic sugar interface and biological functionality. Pacificchem 2010年12月, Hawaii, USA
 - 18) T. Fukuda; E. Matsumoto; S. Onogi; Y.

[学会発表] (計 95 件)

- 1) Y. Miura, Glyco-Nano Interface, IUMRS 2008 December Nagoya.
- 2) M. Toyoshima, T. Fukuda, Y. Miura, Preparation and Biological Properties of Glycopolymer Modified Gold Nanoparticles, IUMRS 2008 December Nagoya.
- 3) H. Akabane, K. Funato, Y. Miura, Synthesis of a Neamine Copolymer that Binds to the Ribosomal RNA, IUMRS 2008 December, Nagoya.

- Miura ,Control of amyloidosis on the multivalent sulfonated sugar,Pacificchem 2010年12月,Hawaii, USA
- 19) 三浦佳子,糖鎖高分子を利用した生体ナノ材料,高分子学会北陸支部福井地区講演会,2010年11月、福井
- 20) 三浦佳子,生理活性糖の不思議、そしてその応用,第47回化学工学コロキウム,2010年11月、岡山
- 21) 三浦佳子,糖鎖高分子を用いた生体機能材料の創製,九州地区高分子若手研究会・夏の講演会,2010年7月、北九州
- 22) 三浦佳子,糖鎖集積化によるバイオマテリアルの開発,紛体工学会 夏期シンポジウム,2010年8月、京都
- 23) Yoshiko Miura,Glycopolymer Substituted Biomaterials via RAFT Living Radical Polymerization ,The 3rd asian symposium on advanced materials,2011 September, Fukuoka
- 24) 三浦佳子・西村 優里・星野友,硫酸化糖クラスターによるタンパク質の機能制御,第60回高分子討論会,2011年9月、岡山
- 25) Yoshiko Miura,Glycosaminoglycan Model Polymers to Inhibit the Aggregation of Alzheimer Amyloid Beta Peptides,14th Asian Chemical Congress 2011 September, Thailand
- 26) 三浦佳子,ソフト界面を活かした先端化学,日本化学会第92回年会,2012年3月、神奈川
- 27) 三浦佳子,糖鎖ブラシ表面の調製とその生体材料としての評価,医用高分子研究会,2012年3月、東京
- 28) 三浦佳子,高分子を利用した生理活性糖鎖の再構築と機能材料への応用,日本化学会,2013年3月、滋賀
- 29) Hirokazu Seto, Masaki Takara, Yu Hoshino, Yoshiko Miura,Surface Modification of Siliceous Materials Using Maleimidation and Glycopolymer Synthesized by Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer Polymerization, 2012 MRS Fall Meeting,2012 November,Boston, USA
- 30) Yoshiko Miura, Tomohiro Fukuda,Morphology Control of Alzheimer Amyloid β Peptide (1-42) on the Multivalent Sulfonated Sugar Interface, 2012 MRS Fall Meeting, ,2012 November,Boston, USA
- 31) Masaki Takara, Yu Hoshino, Yoshiko Miura,Biosensing-application with Glycopolymer-substituted Gold Nanoparticles, 2012 MRS Fall Meeting, 2012年11月,Boston, USA
- 32) Mengchen Yue, Yu Hoshino, Yoshiko

- Miura,Development of Hish-Efficient CO2 adsorbent by using Phase Transition of Nanoparticles Containing Amine Groups,IUMRS-ICEMS 2012 September、Yokohama
- 33) Yoshiko Miura, Hirokazu Seto, Yutaro Ogata, Yu Hoshino,Protein Separation with Glycopolymer Modified Siliceous Materials,IUMRS-ICEMS 2012 September、Yokohama
- 34) 三浦佳子,糖を用いた分子認識性高分子の展開,第61回高分子討論会,2012年9月、名古屋
- 35) 三浦佳子・瀬戸 弘一・首藤 央樹・西村 優里・星野友,硫酸化糖鎖高分子によるタンパク質の機能制御の検討,第61回高分子学会,2012年5月、横浜
- 36) 三浦佳子・瀬戸 弘一・緒方 裕太郎・星野友,糖鎖高分子によるタンパク質分離材料の創製,バイオ高分子シンポジウム,2012年6月、東京
- 37) Yoshiko Miura,Glycosaminoglycan Model Polymer,The Second Asian Chemical Biology Conference,2012 July, Okinawa

他 58 件

〔図書〕(計 5 件)

- 1)、ソフトマター、pp95-104,特殊形状高分子、丸善、2009.
- 2)、複合糖質の化学と最新応用技術、pp285-292,糖鎖材料を用いたアルツハイマー病へのアプローチ、シーエムシー出版、2009.
- 3) Y. Miura, T. Fukuda, “Interaction and Aggregation of Amyloid b Peptide with Multivalent Sulfonated Sugar” in Amyloidosis-Mechanism and Prospects for Therapy Chapter 5 pp85-110, InTech 2011.
- 4) Y. Miura, H. Seto, T. Fukuda, “Molecular Recognition of Glycopolymer Interface” in An Integrated View of the Molecular Recognition and Toxinology-From Analytical Procedures to Biomedical Applications” In Tech in press.
- 5) 三浦佳子、バイオマテリアルの基礎、日本医学館、pp156-160, 2010.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称：表面処理剤および表面処理方法
 発明者：松元絵里乃、福田知博、三浦佳子
 権利者：北陸先端科学技術大学院大学
 種類：
 番号：特願 2009-200368

出願年月日：2009年8月31日
国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.chem-eng.kyushu-u.ac.jp/lab9/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三浦 佳子 (MIURA YOSHIKO)
九州大学・工学研究院・教授
研究者番号：00335069

(3) 連携研究者

星野 友 (HOSHINO YU)
九州大学・工学研究院・助教
研究者番号：40554689