

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K14007

研究課題名(和文)糖鎖高分子のデノボデザインによる抗体様の高分子医薬の開発

研究課題名(英文)Development of Antibody-like Polymer Medicine by denovo designed glycopolymers

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：タンパク質と結合する糖鎖高分子をリビングラジカル重合によって精密に制御して合成した。高分子の分子の長さ、分子認識素子である糖鎖の配置、糖鎖の種類を設計することで、糖認識タンパク質(レクチン、コンカナバリンA)、インフルエンザウイルスに対して強く、特異的に結合する分子の開発を行った。また、糖鎖高分子は、ポストクリックケミストリーによって合成し、モノマーは反応性ビニル基の電子密度、共役性より新たに設計した。高分子の精密重合はRAFT剤を用いた精密合成によって行い、ポリアクリルアミドについては連続的なマルチブロック重合手法も開発した。

研究成果の概要(英文)：The glycopolymers were designed and prepared by the controlled radical polymerization with RAFT reagent, in order to fit the protein structure. The glycopolymers were designed based on the sugar spatial arrangement, and the kind of sugars, which bound to the specific target of sugar recognition protein (lectin, concanavalin A) and influenza viruses. Those glycopolymers were prepared via post-click chemistry and RAFT living radical polymerization. The monomers was designed in terms of the reactivity of monomers and pi-conjugation. The controlled polymerization was carried out via RAFT reagent, and in the case of polyacrylamide, the multiblock copolymerization was attained.

研究分野：高分子化学

キーワード：糖鎖高分子 リビングラジカル重合 分子認識 デノボデザイン

1. 研究開始当初の背景

糖鎖高分子は糖鎖が側鎖に結合した高分子であり、タンパク質との結合を、多価相互作用によって強くすることが知られていた。そのため、糖鎖の相互作用を高分子医薬として活用するための分子ツールとして認識されてきた。糖鎖高分子によってタンパク質の分子認識が亢進されることは知られているものの、糖鎖の空間配置を制御する手法はなく、多価効果の制御はできない状態であった。

また、高分子を精密に制御する方法としてリビングラジカル重合がある。糖鎖高分子についてもリビングラジカル重合が可能であることが報告されてきたが、精密な糖鎖の配置の制御については報告されていなかった。

2. 研究の目的

本研究ではリビングラジカル重合によって、糖鎖の配置の精密な制御を行って、タンパク質との分子認識作用を設計することを目的とした。また、そのための合成手法について詳細に検討することとした。ターゲットとして糖認識タンパク質、インフルエンザウイルスを検討した。

3. 研究の方法

まず、リビングラジカル重合可能な糖鎖高分子の合成手法を検討した。これまで、申請者のグループでは、パラニトロフェニル糖を利用した、フェニルアクリルアミド糖誘導体を糖鎖高分子のモノマーとして用いてきたが、リビングラジカル重合特性に乏しかった。そこで、ポストクリックケミストリーによる糖鎖高分子の合成方法について検討を行った。次に、RAFT 剤を用いたリビングラジカル重合法について検討し、糖鎖高分子の精密重合による、高分子の制御及び糖鎖の配置の制御について検討を行った。得られた糖鎖高分子については、糖認識タンパク質(レクチン、コンカナバリン A)とインフルエンザウイルスをターゲットとしてアッセイをおこなった。また、糖鎖の空間配置を制御する手法の開発一貫として、糖鎖高分子の精密合成方法を検討し、モノマーの開発、ブロックポリマーの開発、マルチブロックポリマーの開発についても検討した。

4. 研究成果

まず、ポストクリックケミストリーで合成できる、糖鎖高分子用モノマーを開発した。アクリルアミド基と共役性をもたないようにアセチレン基を持つように配置すると、リビングラジカル重合可能な、モノマーを得ることができた。また、このモノマーを利用することで、親水性の高い、糖鎖高分子を簡便に合成することができるようになった。

アセチレン末端を有するアクリルアミドとアクリルアミドを RAFT リビングラジカル重合で共重合した各種の高分子を調製した。長さが 100 量体までの糖鎖高分子について、精

密重合を行った。また、ワンポッドによる無保護糖のアジド化を行い、シアリルラクトースアジド体を得て、高分子に対して、アスコルビン酸添加条件下でクリック反応を行った。得られたシアリルラクトースを有する糖鎖高分子については、インフルエンザウイルスヘマグルチニンに対する結合を評価した。糖鎖の密度、種類を変化させたところ、複数の糖鎖結合部位に糖鎖が結合するときに強い結合を呈して、インフルエンザウイルスを阻害することがわかった。

また、糖鎖高分子のブロック重合を行うことで、糖鎖の配置を制御する手法について検討を行った。プロパルギルメタクリレートとトリエチレングリコールのブロックポリマーを RAFT リビングラジカル重合によって調製し、その後、クリック反応によってマンノースを結合させた。マンノース認識タンパク質である、コンカナバリン A との結合を検討した。25、50、100 量体と長さを変えて合成したホモポリマーの糖鎖高分子では、100 量体になると結合定数が 1 桁以上上昇し、2 か所以上の糖結合サイトに結合していることを示唆した。ここで、糖鎖を両末端に持つトリブロック共重合体による糖鎖高分子と片方だけに持っているジブロック高分子を比べると、糖鎖を両末端に持つ場合だけが強くコンカナバリン A と結合することがわかった。そのように、糖鎖の空間制御をすると、糖タンパク質相互作用が制御できることがわかった。

糖鎖高分子については、アクリルアミド型の糖鎖高分子について、RAFT リビングラジカル重合で、ワンポッドマルチブロック共重合体を合成する手法を開発した。

RAFT 末端を還元することで、糖鎖高分子末端にチオールを持つ糖鎖高分子を得ることができた。SPR イメージングによって糖鎖タンパク質相互作用をスクリーニングする手法を検討した。

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 6 件)

1. Adam Michael Maley, Yuhei Terada, Shunsuke Onogi, Kenneth J. Shea, Yoshiko Miura, Robert M. Corn, Measuring Protein Binding to Individual Hydrogel Nanoparticles with Single Nanoparticle SPRI Microscopy, *J. Phys. Chem. C*, 2016, 120, 16843-16893.
2. Masanori Nagao, Yuuki Kurebayashi, Hirokazu Seto, Tadanobu Takahashi, Takashi Suzuki, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, Polyacrylamide backbones for polyvalent

- bioconjugates using“post-click” chemistry”, *Polymer Chemistry*, 2016, 7, 5920-5924.
3. Yuhei Terada, Shuhei Shinohara, Tatsuya Murakami, Kaoru Tamada, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, SPR study for analysis of water-soluble glycopolymer interface and molecular recognition properties, *Polymer Journal*, 2016, 49, 255-262.
 4. Masanori Nagao, Yurina Fujiwara, Teruhiko Matsubara, Yu Hoshino, Toshinori Sato, Yoshiko Miura, Design of Glycopolymers Carrying Sialyl Oligosaccharides for Controlling the Interaction with the Influenza Virus, *Biomacromolecules*, 2017, 18, 4385-4392.
 5. Xinnan Cui, Tatsuya Murakami, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, Anti-biofouling phosphorylated HEMA and PEGMA block copolymers show high affinity to hydroxyapatite, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2017, 160, 289-296.
 6. K. Jono, M. Nagao, T. Oh, S. Sonoda, Y. Hoshino, Y. Miura, Controlling the lectin recognition of glycopolymers via distance arrangement of sugar blocks, *Chem. Commun.*, 2018, 54, 82-85.
- 〔学会発表〕（計17件）
1. 三浦 佳子, 星野 友, 王 尊弘, 園田 章 太郎, 長尾 匡憲, 瀬戸 弘一, RAFT リ ピングラジカル重合を利用した糖鎖高 分子機能材料, 第 65 回高分子学会年次 大会, 2016.05
 2. 三浦 佳子, 澁谷 誠, 瀬戸 弘一, 星野 友, 糖鎖高分子モノリスの創製とタンパ ク質分離材料, 第 65 回高分子討論会, 2016.09.
 3. 王 尊弘, 星野 友, 三浦 佳子, 両親水 性糖鎖高分子が自己組織化してつくる構 造の解析, 第 65 回高分子討論会, 2016.09.
 4. 城野 一樹, 王 尊弘, 長尾 匡憲, 星野 友, 三浦 佳子, マルチブロック糖鎖高 分子のシーケンスのコントロールと分 子認識能の解析, 第 19 回化学工学会学 生発表会, 2017.03.
 5. 田口 裕貴, 寺田 侑平, 星野 友, 三浦 佳子, 糖鎖高分子ブラシを用いたバ イ オインターフェースの開発, 第 19 回 化学工学会学生発表会, 2017.03.
 6. Yoshiko Miura, Glyco-Polymer Monolith for Protein Separation, Nanokorea, 2016.07.
 7. Yoshiko Miura, Glycopolymer monolith for protein separation, ACS National Meeting, 2017.04.
 8. Yoshiko Miura, Glycosaminoglycan Mimimetic Polymer for Nanomedicine, Nanomedicine 2016, 2016.08.
 9. Yuhei Terada, Hirohiko Ise, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, Screening Molecular Recognition of Protein by Glycopolymer using SPRI, 第 66 回高 分子学会 年次 大会, 2017.05.
 10. Masanori Nagao, Chihiro Tamoto, Yuuki Kurebayashi, Tadanobu Takahashi, Takashi Suzuki, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, Design of glycopolymer-ligands for efficient interaction with influenza viruses, 第 66 回高分子学会 年次大会, 2017.05.
 11. 城野 一樹, 園田 章太郎, 星野 友, 三浦 佳子, マルチブロック糖鎖高分子の配 列 制御による分子認識能の設計, 第 66 回 高分子討論会, 2017.09.
 12. 田口 裕貴, 寺田 侑平, 星野 友, 三浦 佳子, 細胞分離への応用を目指した糖鎖 高分子界面の検討, 第 66 回高分子討論 会, 2017.09
 13. 長尾 匡憲, 久保 あかね, 藤原 由梨奈, 松原 輝彦, 星野 友, 佐藤 智典, 三浦 佳子, シアリルラクトース含有糖鎖高 分子の設計およびインフルエンザウイルス

- との相互作用評価, 第 66 回高分子討論
会, 2017.09.
14. 城野一樹, 王尊弘, 長尾匡憲, 星野友, 三浦
佳子, マルチブロック構造による糖鎖
高分子デノボデザインの検討, 第 54 回
化学関連支部合同九州大会, 2017.07
15. 田口 裕貴, 寺田 侑平, 星野 友, 三浦 佳
子, 細胞分離膜の作製を目指した糖鎖
高分子界面の開発, 第 54 回化学関連
支 部合同九州大会, 2017.07
16. Kazuki Jono, Masanori Nagao, Shotaro
Sonoda, Yu Hoshino, and Yoshiko Miura,
Controlling the Molecular Recognition of
Glycopolymer by the Sugar Chain
Arrangement, 2017 九州・西部-釜山・慶南
高分子(第 18 回)繊維(第 16 回)ジ
ョイントシンポジウム, 2017.12.
17. Yuki Taguchi, Yuhei Terada, Yu Hoshino,
and Yoshiko Miura, Cell Separation by
Glycopolymer Modified Interface for Cell
Separation, 2017 九州・西部-釜山・慶南
高分子(第 18 回)繊維(第 16 回)ジ
ョイントシンポジウム, 2017.12.

〔図書〕(計 1 件)

1. Yoshiko Miura, Tomohiro Fukuda, Hirokazu
Seto, Yu Hoshino, Coupling and Decoupling
of Diverse Molecular Units in
Glycosciences, Syntheses and Functions of
Glycosaminoglycan Mimicking Polymers,
Springer, 213-224, 2017.11.

2. 〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称: 複合体、及び複合体の製造方法
発明者: 崔シンナン、三浦佳子
権利者: 国立大学法人九州大学
種類:
番号: 特願 2018-075396
出願年月日: 2018 年 4 月 10 日
国内外の別: 国内

取得状況(計 1 件)

名称:
発明者:

権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔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 大学院工学研究院 教授

研究者番号: 00335069

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号:

(4) 研究協力者

()