

令和元年6月3日現在

機関番号：82626

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K17961

研究課題名(和文) 末端官能基化ポリカチオンの微生物合成とこれを用いた既存材料のポリカチオン化

研究課題名(英文) Microbial synthesis of functional cationic-polyelectrolyte and preparation of polycationized plastic materials

研究代表者

牛丸 和乗 (Ushimaru, Kazunori)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・材料・化学領域・研究員

研究者番号：10770703

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、独自の「末端官能基化ポリカチオンの微生物合成」技術を用い、既存の疎水性高分子材料の親水化および機能化に取り組んだ。
新たな技術としてカチオン性の天然高分子である γ -ポリリジンを有機溶媒に可溶な複合体に変換する技術を開発し、当該複合体がプラスチック材料および抗菌材料として利用可能であることを示した。
一方、既存高分子材料のカチオン修飾に関しては反応条件の最適化が必要であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、医用材料や再生医療分野で用いられる細胞培養基材として有用な「親水性・抗菌性・細胞接着性を併せ持つプラスチック材料」の創生を目的として検討を行った。
目的とする機能性プラスチック材料の開発に取り組む中で、微生物由来の水溶性高分子を水に不溶なプラスチック化する技術を見出した。この手法で得た材料は微生物由来の環境調和型材料であると共に、優れた抗菌活性を示す機能性材料であることを見出した。

研究成果の概要(英文)：In this study, functional natural cationic-polyelectrolyte was synthesized by microbial process and apply the polycation to creation of hydrophilic and functional plastics.
We found a new technique to produce a organo-soluble cationic-polyelectrolyte via a complex formation of the polyelectrolyte with an anionic surfactant. This complex revealed thermoplasticity and antimicrobial activity, thus, we applied the complex for thermoplastic and/or antimicrobial materials.
As for the creation of hydrophilic and functional plastics, it requires further optimization of reaction condition to obtain the desired material.

研究分野：高分子化学

キーワード： γ -ポリリジン 親水化 抗菌材料 天然高分子

1. 研究開始当初の背景

再生医療分野などに代表される医療技術の進展に伴い、生体関連材料の需要が高まっている。生体関連材料の中でも高分子材料は大きな割合を占めているが、一般的には高分子材料は疎水的な材料であり、細胞との親和性が低いことや、疎水的なタンパク質が吸着することに起因する様々な問題が生じる。前者の例としては細胞培養に用いるポリスチレンディッシュ表面への低い細胞接着性、後者の例としてはコンタクトレンズ表面への疎水的タンパク質吸着による汚染とそれに伴う眼の障害誘発などが挙げられる。このような経緯から、疎水的な高分子材料を効率的に親水化（高極性化）する技術へのニーズは大きく、表面プラズマ処理やブロック共重合体化など様々な技術が検討されている。

2. 研究の目的

本研究では、「天然カチオン性高分子の末端修飾技術」を利用して、汎用高分子の親水性、抗菌性および細胞接着性の向上を目指す。

ϵ -ポリリジン (ϵ -PL) は、土壌由来の微生物を用いた発酵プロセスで得られるカチオン性ポリマーで、側鎖アミノ基のカチオン性に由来する高い抗菌活性を有すること、およびアミノ酸ユニットから構成されており人体への安全性が高いことから、食品添加剤（防腐剤）として実用化されており、商業的な発酵生産の技術も確立されている。 ϵ -PL はカチオン性側鎖を多数有する高極性（親水性）分子であると共に、防腐剤として幅広い食品に用いられてきた安全性の高い分子である。この親水的かつ安全性の高い ϵ -PL を、既存の疎水性高分子材料と連結することができれば、親水的かつ安全性が高い高分子材料を創生することができるものと考えられる。

本研究の申請者は、福井県立大学 濱野教授と共に発酵プロセスで ϵ -PL の末端に様々な官能基を導入する技術を開発してきた。通常、 ϵ -PL のような高極性化合物に官能基を導入するには、アミノ基の保護などの多段階の煩雑なプロセスを必要とし、コストや効率面で多くの問題が存在する。これに対して本法では適切な培地で微生物を培養するのみの簡便な手法で、多様な官能基を有する ϵ -PL を高い修飾効率で合成できる。(Figure 1)

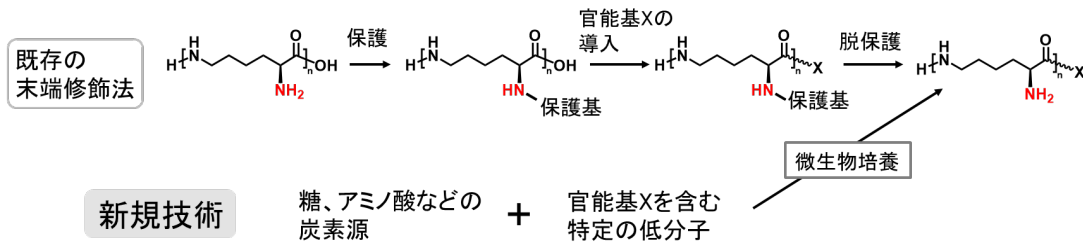


Figure 1 ϵ -PL 末端への官能基導入技術

上記の「 ϵ -PL の末端修飾技術」で調製した末端官能基化 ϵ -PL と、様々な汎用高分子を連結することで、汎用高分子由来の優れた力学物性や加工性と、 ϵ -PL の親水性や抗菌活性を併せ持つ新規高分子材料の創生に取り組んだ。

3. 研究の方法

本研究では親水化を試みる汎用高分子の例として、培養シャーレやマルチウェルプレートなどに用いられるポリスチレン (PS) をモデル高分子に選定し、Huisgen 環化反応による ϵ -PL と PS の連結とその物性評価に取り組んだ。(Figure 2)

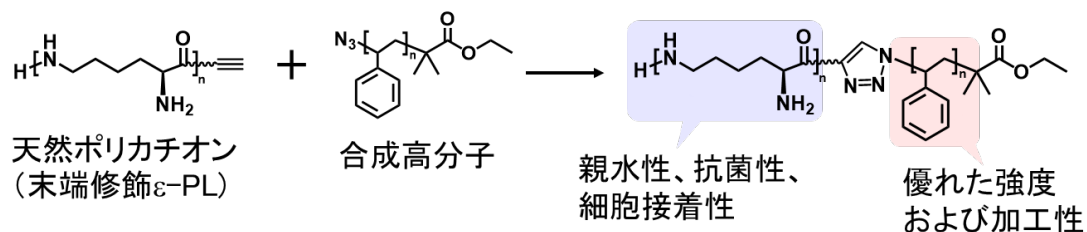


Figure 2 ϵ -PL と合成高分子から成る高機能材料

上記の ϵ -PL と PS の連結反応を行う上で最も大きな問題となったのが、 ϵ -PL は水に可溶であるがほとんどの有機溶媒に不溶であり、PS は有機溶媒に可溶であるが水には不溶である、すなわち両基質を同時に溶解する適切な溶媒が存在しないという点である。 ϵ -PL と PS を連結した共重合体を高い反応収率で得るためには、均一系での反応を行うことが望ましい。そのためには有機溶媒に可溶な ϵ -PL、もしくは水に可溶な PS 誘導体が必要であるが、本材料の最終的な用途が細胞培養などの水溶液と接触する用途であることを鑑みると、PS を水溶性誘導体にすることは現実的ではない。そこで、目的とする ϵ -PL と PS の連結反応の前段階として、福井県立大学 片野教授との連携の下、「有機溶媒に可溶な ϵ -PL」の開発を行った。

また、開発した「 ϵ -PL の末端修飾技術」と「有機溶媒に可溶な ϵ -PL の調製技術」を組み合わせることで、有機溶媒中で ϵ -PL と PS の連結反応を行い、新規機能性高分子の合成を検討した。

4. 研究成果

まず初めに、目的の ϵ -PL と PS の連結反応を行うために「有機溶媒に可溶な ϵ -PL」の開発を進めた。様々な検討を行う中で、アニオン性界面活性剤の一種「Bis(2-ethylhexyl) sulfosuccinate sodium salt (Docusate sodium salt, NaBEHS)」を ϵ -PL 水溶液と混合すると、水に不溶な白色のイオン複合体 (ϵ -PL/BEHS 複合体) が得られることを見出した。(Figure 3)

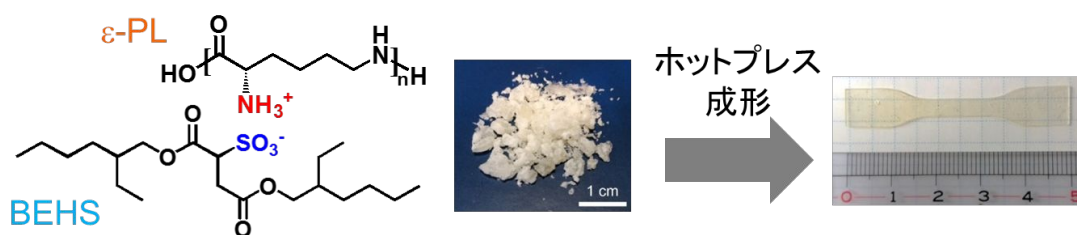


Figure 3 ϵ -PL/BEHS 複合体

この ϵ -PL/BEHS 複合体は水に不溶、種々の有機溶媒 (アルコール類、アセトン、ジメチルスルホキシド、クロロホルムなど) に可溶であり、溶解性の観点では ϵ -PL とは真逆の性質を示した。また、本複合体は熱可塑性 (ガラス転移点: 75、融点: 157) を有しており、ホットプレスなどの熱成形が可能であった。 ϵ -PL から熱可塑性材料の創生に成功した例は本研究が初であり、天然高分子の材料化という観点でも有用な研究であると考えている。

これらの物性評価と併せて ϵ -PL/BEHS 複合体をコーティングした材料を作成し、その抗菌活性を評価したところ、 ϵ -PL のカチオン性官能基がイオン結合で封止されているにも関わらず、グラム陽性菌およびグラム陰性菌のいずれにも高い抗菌活性を示すことが分かった。本複合体が抗菌活性を発現する詳細なメカニズムについては検証中であるが、本複合体が有機溶媒に可溶で水に不溶という特徴を生かすことで、耐水性の抗菌コーティング剤として有用であることを実証した。

上記の ϵ -PL/BEHS 複合体は、複合体そのものが材料として有用であるだけでなく、有機溶媒中で ϵ -PL を基質として用いる際にも利用可能である。例として、「 ϵ -PL の末端修飾技術」で調製した末端官能基化 ϵ -PL と NaBEHS を複合化して、末端官能基化 ϵ -PL/BEHS 複合体を調製し、有機溶媒中で低分子を基質とする Huisgen 環化反応を行ったところ、反応の進行を確認することができた。

本研究の最終目的である ϵ -PL と PS の共重合体を合成するために、原子移動ラジカル重合で合成した末端アジド PS と、末端アルキン化 ϵ -PL/BEHS 複合体を用いた Huisgen 環化反応を行った。触媒の種類や濃度、溶媒の種類や反応温度など様々な条件を変えて反応を行った。反応産物を精製し NMR にて分析を行ったところ、PS 末端アジド基の隣接プロトンに由来するピークが消失しており、アジド基の消失が示唆された。一方で、目的の Huisgen 環化反応が進行するのであれば共重合された ϵ -PL に由来するピークが確認されるはずであるが、当該のピークは確認できず、アジド基が消失しているにも関わらず目的のブロック共重合体が生成していないことが示唆された。精製後の化合物を詳細に分析した結果、副反応によってポリスチレンの末端官能基が変性している可能性が示唆された。この結果から、目的の ϵ -PL と PS の共重合体を合成するには、触媒および連結反応に用いる末端官能基の種類を変更し、より穏やかな条件で反応が進行する系を適用する必要があると考えている。

本研究では ϵ -PL と PS を連結し、優れた力学物性や加工性と、親水性や抗菌活性を併せ持つ新規高分子材料の創生を目指して研究を進めた。

研究を進める中で、容易な手法で ϵ -PL を有機溶媒に可溶なイオン複合体に変換する技術を確立するとともに、当該のイオン複合体が世界初の ϵ -PL 由来の熱可塑性材料であることを示した。

また、この複合体の応用として耐水性抗菌コーティング剤としての利用例を検討し、高い抗菌活性を示す有用な材料となりうることを示した。

上記のような一定の成果は得られたものの、当初の目的である ϵ -PL と PS を連結した新規材料の創生には至っておらず、当該材料の創生と機能検証を行うために、反応条件の最適化などの更なる探索に取り組みたいと考えている。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

[1] Ushimaru, K.; Hamano, Y.; Katano, H. Antimicrobial Activity of ϵ -Poly-L-lysine after Forming a Water-insoluble Complex with an Anionic Surfactant. *Biomacromolecules*, 18, 1387-1392 (2017)

DOI: 10.1021/acs.biomac.7b00109, 査読あり

〔学会発表〕(計 1 件)

[1] ○牛丸 和乗, 濱野 吉十, 片野 肇, “ ϵ -PL とアニオン性界面活性剤から成るイオン複合体の抗菌材料応用”, 第 32 回 高分子学会関東支部 茨城地区若手の会交流会, 茨城県つくばみらい市, 2017 年 10 月

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名 :

ローマ字氏名 :

所属研究機関名 :

部局名 :

職名 :

研究者番号 (8 桁) :

(2)研究協力者

研究協力者氏名 :

ローマ字氏名 :

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。