

令和元年6月6日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K14536

研究課題名(和文) 精密で可逆的な物理架橋点を利用した真に均一な高分子ゲルの創成

研究課題名(英文) Fabrication of homogeneous polymer gels by using precise and reversible physical crosslinkers

研究代表者

Li Xiang (Li, Xiang)

東京大学・物性研究所・助教

研究者番号：30759840

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：二種類の4分岐PEGとDNAのconjugateの合成し、それを水中で混合したところ、室温で素早くゲルを形成した。当該ゲルは、昇温・降温することで、繰り返しソル・ゲル転移を示した。小角中性子散乱測定によってゲルの構造を調べたところ、ゲル化する前のものとほぼ同じ空間相関が得られ、極めて均一な構造が形成されていると言える。また、動的粘弾性測定の結果から、このゲルは非常に俊敏な温度応答性を示すことが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高分子ゲルはオムツの吸水剤を始め、再生医療でも用いられている重要な材料である。しかし、これらのゲルの構造は非常に不均一で、理論的に記述することや精密に設計することが困難であった。本研究は、DNAを用いることによって、非常に精密で均一な網目構造を構築することに成功した。その結果、理想的な粘弾性挙動も確認された。本ゲルをモデル物質として用いることで、高分子ゲルへの理解が進み、より高度で効率的な材料設計が可能となる。

研究成果の概要(英文)：By mixing two kinds of four-armed PEG DNA conjugates in aqueous solution at room temperature, the solution immediately changed to a solid gel. This polymer gel shows repetitive sol-gel transition by elevating and lowering the sample temperature. By using the small angle neutron scattering, we investigated the spatial homogeneity of this polymer gel. The scattering patterns of gel was exactly the same with the uncrosslinked sol, indicating that the network of this polymer gel is highly homogeneous. By measuring the dynamic viscoelastic property of this gel, we found that this polymer gel shows very sharp stimuli-response against the temperature change.

研究分野：高分子物理、高分子溶液、ゲル、光・X線・中性子散乱

キーワード：ゲル 理想網目 物理結合 DNA

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ここ 200 年来、鉄に代わる材料として、架橋高分子からなるゲルやエラストマーなどの材料が医学から工業まで幅広い分野で使用されている。ゲルやエラストマーは高分子同士が架橋された 3 次元の網目構造を持つ。網目を構成する部分鎖はそれぞれに揺らぎながらも、マクロな並進運動は架橋点によって阻害されるため、系全体としては形が崩れずに固体のように振る舞う。このゆらゆらと揺らぐ特殊な 3 次元網目構造により、ゲルやエラストマーはゴム弾性とも呼ばれるエントロピー弾性を示し、さらに網目内部を移動する物質に対しては分子ふるい効果を示す。しかし、高分子網目内の架橋は一般的にはランダムに導入されるため、ゲルやエラストマーの網目構造は多くの不均一性を内包した構造となっている。

架橋点を中心に据えた多分岐高分子を基本モジュールとして用いる合成方法によって、既存のゲルと比べて不均一性を著しく抑えた高分子網目構造をもつゲル (Tetra-PEG gel) の作製に成功している (Sakai et al, *Macromolecules*, 2008)。この均一な網目構造は極めて高い弾性率、優れた破壊特性をもたらした。しかし、小角中性子散乱実験やコンピュータシミュレーションにより、モジュール型高分子を用いて作製されたゲルでも、不均一な構造が残存していることが明らかになった。不均一な構造が形成される原因として明らかになったのが、隣り合うモジュール間での多重結合などの不適切な結合である。シミュレーションの結果から、実に 40% 近くのモジュールの末端が不適切に結合していると判明している (Lange et al, *Macromolecules*, 2011)。このように多くの不適切な結合が存在するのは、多分岐モジュール間の結合が不可逆な化学結合であるためである。これらの不適切な結合は一旦生じると解消されることなく高分子網目構造内に残存し、さらに周囲の結合不均一性を誘起する。もし多分岐モジュール間の結合を可逆で特異的な物理結合に置き換えることができれば、ゲル化後の網目構造の再配置が可能となり、真に均一な高分子網目構造を構築できると考えている。従来の架橋高分子の物性として我々が認識してきたものは、結局は網目構造の不均一性を反映したものである可能性は極めて高い。真に均一な網目構造を創造することができれば、我々がまだ知らない架橋高分子の本来の物性を発見することができるかもしれない。

2. 研究の目的

精密な解離制御が可能な物理結合を利用して、真に均一な高分子ゲルを創造する。

3. 研究の方法

1) 精密な物理結合点を有する多分岐高分子モジュールの合成

DNA の二重螺旋構造は 2 つのペアとなる一本鎖 DNA を混合することで形成される。ペアとなる一本鎖 DNA はそれぞれ sense 鎖、anti-sense 鎖と呼ばれる。末端に一級アミンを有する sense 鎖あるいは anti-sense 鎖と、末端に活性エステルを持つ多分岐高分子の水溶液を混合して、アミンと活性エステル間の反応により、一本鎖 DNA を末端に持つ多分岐高分子を合成する。多分岐高分子と DNA 結合率は電気泳動法により定量的に評価できる。多分岐高分子には 4 分岐ポリエチレングリコール (tetra-PEG) を用いた。

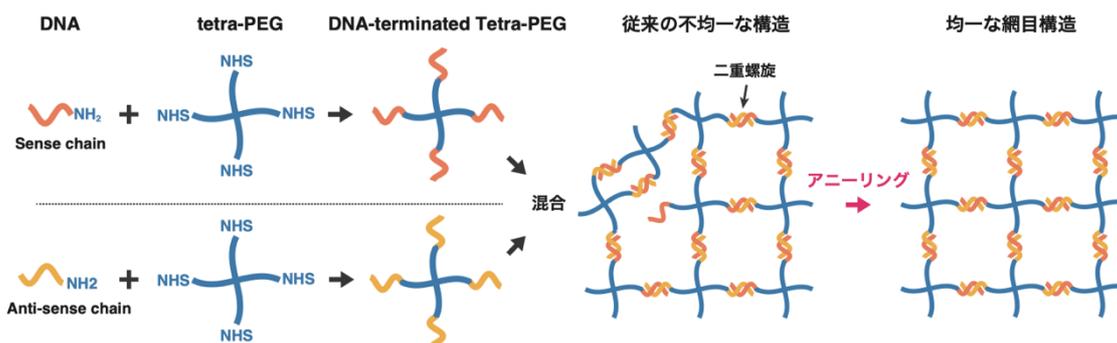


図 1. DNA を末端に持つ多分岐高分子モジュールの合成と当該モジュールを用いた均一網目構造の構築方法の概念図

2) 当該モジュールによる高分子ゲルの創製・結合の再配置

得られた sense DNA 多分岐モジュールと anti-sense DNA 多分岐モジュールの水溶液を混合する。DNA の二重螺旋構造は室温付近では安定的に存在できるため、室温で混合した sense 鎖と anti-sense 鎖は速やかに二重螺旋構造を形成し、多分岐高分子間で結合が形成されてゲル化が完了する。このように形成された高分子網目構造は酒井らが合成した化学結合からなる Tetra-PEG ゲルと同等の不均一性を含んだ網目を持つ。上記の操作によって得られたゲルを昇温して螺旋構造を一部解離させる。その温度で一定時間静置して、モジュール間の結合の再配置を促す。その後、系の温度を室温付近まで徐々に戻して、二重螺旋構造を再形成させる。この操作は遺伝子工学で良く用いられる操作で、アニーリングと呼ばれる。DNA は二重螺旋構造を形成すると、260 nm 付近でのモル吸光度が低下する淡色効果を示すので、螺旋構造の解離過程・再形成過程

を定量的に評価できる。

3) 結合の再配置がゲルの構造と力学特性へ及ぼす影響の評価

前年度で確立したゲルの作製方法やアニーリング方法を元に、系統的にアニーリング条件を調整してゲルを作製する。得られたゲルに対して、小角中性子散乱・光散乱測定により構造不均一性の評価を行った。そして、上記の手法で得られたゲルに対して動的粘弾性試験を行い、網目構造の均一化がゲルの力学特性に与える影響を評価する。

4. 研究成果

1) 先に述べた方法で、sense, anti-sense の sequence を含む tetraPEG-DNA conjugate を水中で混合したところ、室温で素早くゲル化した。得られたゲルは無色透明で、温度を上昇・降下させることで、設計通りに約 50C で繰り返しゾル・ゲル転移した。SYBR Green I という DNA の二重螺旋構造に特異的に結合し、蛍光を示す物質をゲルに混合したところ、ゲルでは緑色の蛍光を示し、ゾルでは蛍光が観測されなかった。この結果から、設計通りに DNA が二重螺旋構造を構築することで、ゲルが形成されていることが確認された。

2) 得られたゲルをコントラストマッチング小角中性子散乱法 (Quokka, ACNS, Australia; Taikan, J-PARC MLF, Japan) によって測定したところ、ゾル (sense 溶液) とゲル (sense/antisense 混合溶液) の散乱プロファイルはほぼ同じであった。このことから、ゲル化による構造の不均一化はほとんど観測されないことが明らかになった (図 1)。また、いずれの散乱プロファイルは乱雑移送近似によって得られる散乱関数で良く再現でき、PEG-溶媒、DNA-溶媒、PEG-DNA 間の相互作用パラメーター (Flory パラメーター) を取り出すことに成功した。PEG-溶媒間の値は文献値とほぼ一致し、使用したモデルの妥当性が確認された。DNA-溶媒、PEG-DNA 間の相互作用に関しては、大きな負の値を示したが、おそらくモデルに組み込まれていない DNA の静電相互作用の影響であり、今後のモデル構築の課題である。

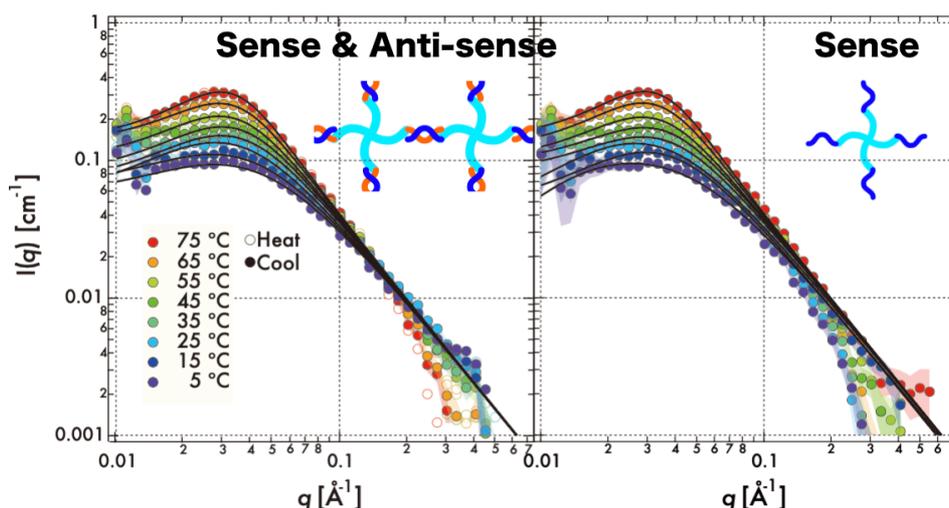


図 2. 小角中性子散乱による構造解析の結果。左は sense と antisense sequence の tetraPEG-DNA を混合したもの、右は sense tetraPEG-DNA のみを含むもの。左の混合物は温度変化に応じて、ゾル・ゲル転移するが、右の溶液はゾルのままである。しかし、両者はほぼ同じ散乱プロファイルを示した。実線は乱雑移送近似による fitting 結果である。

さらに、このような均一なゲルに対して動的粘弾性測定を行ったところ、約 15C 変化させるだけで、緩和時間が 3 桁ほど変化し、このゲルが俊敏な温度応答性を持つことが明らかになった。得られた貯蓄弾性率、損失弾性率は 1 要素だけの Maxwell model で記述することができ、設計通りに理想的な粘弾性物質であることが確認された。

当研究で得られた結果は現在論文準備中であり、その派生で得られた研究結果はすでに論文として発表されており、以下のセクションで示している

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

1. Ohira, M., Li, X., Gupit, C.I., Kamata, H., Sakai, T., Shibayama, M.: Dynamics of thermoresponsive conetwork gels composed of poly(ethylene glycol) and poly(ethyl glycidyl ether-co-methyl glycidyl ether). Polymer. 155, 75–82 (2018). (査読有)

〔学会発表〕（計 6 件）

1. Xiang Li “Structure Analysis of Ideal Physical Gel Crosslinked with Double-Helix of DNA by Small-Angle Neutron Scattering”, International Symposium on Polymer Analysis and Characterization, Sendai, Japan, 2019/6/2-5.
2. Xiang Li “Structure analysis of ideal physical gel crosslinked with double-helix of DNA by small-angle neutron scattering” Gordon Research Conference Neutron Scattering, Hong Kong China, 2019/5/5-10
3. 大平 征史、Li Xiang、内藤 瑞、柴山充弘、「二本鎖 DNA によって架橋された温度応答性物理ゲルの網目構造」高分子ゲル研究討論会、東京、2019/01/16
4. Li Xiang、大平 征史、内藤 瑞、柴山充弘「DNA の二重螺旋構造から架橋される均一物理ゲルの構造解析」量子ビームサイエンスフェスタ、茨城、2019/03/12
5. Xiang Li, Masashi Ohira, Mitsuru Naito, Mitsuhiro Shibayama “A MODEL PHYSICAL GEL CROSSLINKED BY DOUBLE STRANDED DNA” 24th Polymer Networks Group Meeting, Prague, Czech, 2018/06/17
6. Xiang Li, Yusuke Yoshikawa, Masashi Ohira, Nobuyuki Watanabe, Mitsuhiro Shibayama “Structure analysis of physical gel crosslinked by double-stranded DNA” 8th Taiwan-Japan Joint Meeting on Neutron and X-ray Scattering, Taipei, Taiwan, 2018/03/14

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

※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。