

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2006～2008

課題番号：18200033

研究課題名（和文） バイオフロンティア界面の創成によるナノバイオセンシング

研究課題名（英文） Bionanosensing based on Bio-frontier Surface

研究代表者 長崎幸夫（NAGASAKI YUKIO）

筑波大学・大学院数理物質科学研究科・教授

研究者番号：90198309

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学・生体材料学

キーワード： バイオインターフェース バイオナノ粒子 ナノ診断 免疫診断 ナノ酵素
表面プラズモン共鳴 PEG ポリマーブラシ

1. 研究計画の概要

固定化酵素のみならず、バイオセンサー、一分子計測、タンパク質チップなど、基材表面に様々な生体分子を固定し、特異的応答を認識させる試みは広く研究されている。しかしながら目的の相互作用だけを適格に認識させることは必ずしも容易ではなく、様々な工夫と苦勞がなされているのが現状である。申請者らは両末端に異なる官能基を有するヘテロ 2 官能性ポリエチレングリコール（ヘテロ PEG）の重要性にいち早く注目し、様々な官能基を有するヘテロ PEG の選択的かつ定量的な合成法を確立し、上図に示すように非特異吸着を抑制しつつ特異的認識能を示す表面を構築してきた。この研究の中で、PEG ブラシ鎖の鎖長を制御し、異なる長さを有する PEG 鎖によるブラシが極めて高いタンパク質非特異吸着抑制効果を示すことを示した。さらに極めて最近、抗体を固定した表面に PEG ブラシを固定することにより、非特異吸着を抑制するだけでなく、表面の抗体の認識能自身を向上させることを見いだした。このような PEG の密度、鎖長を制御し、バイオナノ表面を造り込むことは、これまで達し得なかった生体分子自身の性能を 100%引き出す可能性を有する。本研究ではブラシの作製と物理化学的特性（たとえば鎖長、混合比等によるブラシの運動性や水和能など）を検討するだけでなく、PEG ブラシ先端の分子認識能、生体分子との混合ブラシ構造による新しい界面の造り込みを行い、バイオ界面のナノエンジニアリング概念を創成することにある。

2. 研究の進捗状況

3 年間の基礎的研究で、混合 PEG ブラシと生体高分子の密生相が高い認識能と非特異吸着抑制を示すことが明らかになりつつあった。これらの結果をふまえて最終年度にその表面構築法をナノ粒子に展開し、様々な高機能ナノ粒子の設計を以下のように行った。

①百ナノメートルサイズの粒子に抗体と PEG の共固定密生層を構築し、高感度ナノ診断に適用する新しいナノ粒子の設計を行い、フェリチン等の微量分析を可能とした。

②ナノ粒子の表面に PEG 密生層を形成せしめ、オリゴ核酸との複合化を行い、その熱安泰性を評価し、高温でも繰り返し利用できる材料を作製することに成功した。

③金赤外で発光するナノ粒子（アップコンバージョンナノ粒子）の表面設計を行い、生体に優しいバイオイメージング用材料の設計を行い、定量的検出ができることを明らかにした。

④大気圧下で利用できるマイルドなプラズマ源を利用し、新しいバイオ表面の設計を行うための材料設計を行い、容易に生体成分の非特異吸着抑制が可能な表面の作製に成功した。

これら研究では特に平面で起こる免疫化学的増強効果がナノ粒子においても再現されるかが重要な点であったことから、作製したナノ粒子の分散安定性を光散乱測定、ゼータ電位等の測定で評価し、高い安定性を確認した。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

当初計画していた表面構築とセンシング能

の高度化に加え、XPS によるポリマー吸着状態の確認や表面抗体の経時変化等の測定をし、さらにはプラズマによる表面構築等にも言及できた。

4. 今後の研究の推進方策

これらの基礎技術を基盤に新たなアプリケーションを作製していくとともに、何故このような現象が怒るのかのメカに済みを解析していく。このために平成21年度より新学術領域「ソフト界面」を立ち上げ、さらに検討を進めていく。

5. 代表的な研究成果

(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 31 件)

1. Yoshimoto Keitaro, Ichino Masahiro, Nagasaki Yukio: Inverted Pattern Formation of Cell Microarrays on Poly(ethylen glycol) (PEG) Gel Patterned Surface and Construction of Hepatocyte Spheroids on Unmodified PEG Gel Microdomains. Lab on a Chip:9: 1286-1289 (2009).
2. Ganguli Sumon, Yoshimoto Keitaro, Tomita Shunsuke, Sakuma Hiroshi, Matsuoka Tsuneyoshi, Shiraki Kentaro, Nagasaki Yukio: Regulation of Lysozyme Activity Based on Thermotolerant Protein/Smart Polymer Complex Formation. Journal of the American Chemical Society accepted(2009).

[学会発表] (計 1 件)

学会発表者 長崎幸夫

2008 Prague Meetings on Macromolecules,

[図書] (計 1 件)

"Block Copolymer Synthesis of Nanoscale Drug and Gene Delivery", in Nanotechnology in Drug Delivery, Ed. by Melgaradt M. de Villiers, Pornanong Aramwit, Glen S. Kwon
発行年度 2008 年

[産業財産権]

○出願状況 (計 13 件)

1. 特願 2009-007846・長崎幸夫, 原 暁非, 吉本敬太郎・混合ポリエチレングリコールと抗体が共固定化された表面を所有する免

疫ラテックス粒子及びその製造方法・国立
大学法人筑波大学・2009年1月16日出願

2. 特願 2009-004710・長崎幸夫, 田村篤志, 大石 基・四級アミノ基を有する架橋ポリマー由来のポリマー微粒子と核酸の複合体・国立
大学法人筑波大学・2009年1月13日出願