

平成 22 年 5 月 24 日現在

研究種目：若手研究 B
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20750105
 研究課題名（和文）超分子ナノファイバーの特性を利用した物質分離・変換システムの構築
 研究課題名（英文）Construction of mass separation and conversion systems utilizing supramolecular nanofiber
 研究代表者
 池田 将（IKEDA MASATO）
 京都大学 工学研究科・助教
 研究者番号：20432867

研究成果の概要（和文）：直径数 10 nm の繊維(ナノファイバー)を物質分離・変換システムとして利用するため、特定のたんぱく質と特異的に相互作用する機能を付与した超分子ナノファイバーを構築した。得られた物質結合能を有する超分子ファイバーは、たんぱく質をその表面に結合することが可能であり、また結合したたんぱく質はファイバー上を移動していることも明らかになった。さらに、このファイバーをマイクロ流路中に導入することで、たんぱく質を微小空間で分離するシステムの構築にも成功した。

研究成果の概要（英文）：In this research project, supramolecular fibers having a function to interact specifically with a target protein were constructed with a aim to construct mass separation and conversion systems. This study demonstrated the designed and obtained supramolecular nanofibers can bind a target protein on the surface. Interestingly, bound protein was revealed to move along the fibers. Also, by introducing the nanofibers into a microfluidic channel, protein separation system in micro-meter space was successfully constructed.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・機能物質化学

キーワード：超分子, 超分子ナノファイバー

1. 研究開始当初の背景

近年、ボトムアップアプローチとして重要視されている超分子化学的概念を基盤に分子を設計することで、数 10 nm スケールで様々な形の自己集合体を構築できることが明らかになっている。我々のグループでは、

両親媒性分子が、水中で自己集合することで形成される超分子ナノファイバーに注目している。直径がナノサイズのファイバー状構造は、微小空間でのその長軸に沿った一次元的な「物質の輸送」や空間特性を利用した「反応の制御」など多彩な機能を発現可能な基本的かつ魅力的な構造であると考えられる。実

際、生体システムでは、アクチンフィラメント、マイクロチューブなどのファイバー状構造体が多数存在し、細胞骨格の形成や弾性に不可欠であると同時に、モータータンパク質との協調により能動的な物質輸送といった重要な機能を担っている。このような精密な機能を有する生体材料を用いたバイオナノテクノロジーは近年急速に進歩している。しかし、これに対して、化学合成した人工マテリアルの数 10 から数 100 nm 領域(メソスケール)における規則的な構造体の構築や精度の高い機能発現は取り組むべき課題が多いと考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、両親媒性分子が自己組織化することによって得られるナノファイバーへ物質を特異的に結合する能力を付与し、物質分離や変換するシステムの構築を目標とした。また、微量の物質の分離や変換を目指し、マイクロスケールの特定空間に合成したナノファイバーを固定化する手法の検討をおこなった。

3. 研究の方法

最近、我々グループでは超分子ファイバー(図 1)が、特定の分子をファイバー中に取り込むこと、および、ファイバー構成分子が側方拡散している(長軸方向に沿って運動している)ことを明らかにしてきた(図 2)。そこで、本研究では、標的たんぱく質に対するリガンドを提示可能な両親媒性分子を設計・合成し、超分子ナノファイバーに取り込ませることを検討した。

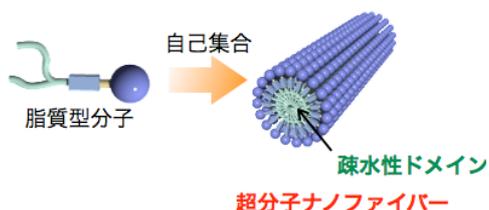


図 1 超分子ナノファイバーの形成

得られた分子認識能を有する超分子ナノファイバーの物質結合能の評価を行った。また、ソフトリソグラフィー技術により加工した PDMS 樹脂内に形成されたマイクロスケールの流路中に超分子ナノファイバーを導入・固定化する検討を行った。さらに、流路中に導入した超分子ナノファイバーを用い、複数のたんぱく質混合溶液から、標的たんぱく質を回収する検討を行った。

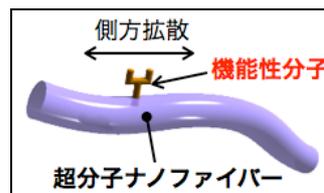
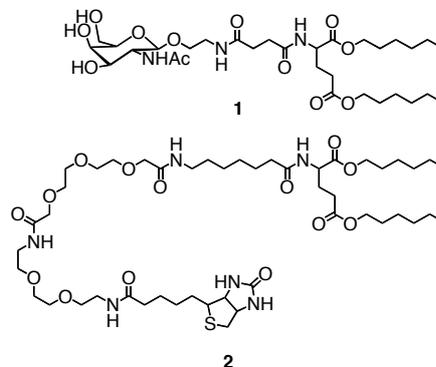


図 2 分子認識機能を有する分子を担持した超分子ナノファイバー

4. 研究成果

標的たんぱく質を超分子ナノファイバーに結合させるモデル実験として、アビジン(たんぱく質)に特異的に結合するビオチンを修飾した両親媒性分子(2)を新たに合成した。



両親媒性脂質 1 および 2 からなる超分子ナノファイバーを水溶液中で構築し、蛍光性色素で修飾したアビジンの水溶液を添加した。結合の様子を共焦点レーザー顕微鏡で観察したところ、蛍光画像から、アビジンがファイバーに結合している様子が確認された(図 3)。また、興味深いことに、蛍光退色後回復測定を利用することで、結合したたんぱく質の運動挙動を評価したところ、たんぱく質がナノファイバーに沿って側方拡散している

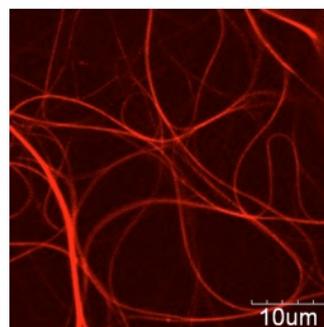


図 3 赤色蛍光性色素で修飾したたんぱく質がファイバーに結合している様子を観察した顕微鏡画像

ことを明らかにした。

このように、ビオチン部位を有するファイバーは、アビジン(たんぱく質)と特異的に相互作用することが示された。そこで、アビジンを修飾したナノ微粒子を添加したところ、同様にファイバーに結合することが明らかになった。また、ビオチンの他にも、金属錯体を修飾した両親媒性分子を合成し、ファイバーに取り込ませることで、その金属錯体に配位結合可能な物質を捕捉できることも明らかにした。

次に、ソフトリソグラフィ技術により加工することで、PDMS樹脂内にマイクロスケールの流路を作成し、分子認識能を有する超分子ナノファイバーを導入・固定化した。近年、このようなマイクロスケールの流路は、微量なサンプルで病理診断できる可能性から医療用診断ツールとしての開発が期待されている。しかし、流路の幅には限界があり、本研究で開発されたナノファイバーを流路内に導入し、さらに微小化された流路として利用できれば精密な物質の輸送が可能になると期待される。

具体的には高さ 50 μm 、幅 300 μm の溝を作成し、カバーガラスに接着させることにより流路を作成した。その一端から超分子ナノファイバーの存在する水溶液を導入することで、流路内にファイバーを配置する手法を確立した。さらに、複数のたんぱく質混合溶液を流路中に導入したところ、標的たんぱく質

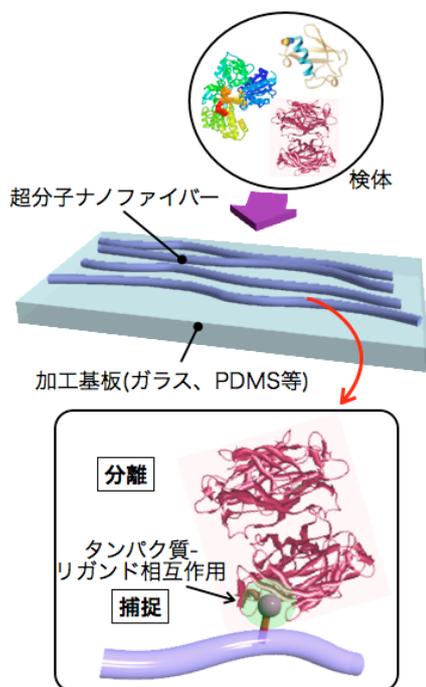


図 4 マイクロ流路中へ固定した超分子ナノファイバーを用いたたんぱく質の分離

のみが超分子ナノファイバーに結合することを示した(図4)。また、予備的な実験から、たんぱく質を捕捉したナノファイバーを回収することも可能であることを明らかにした。

以上の研究成果は、ナノサイズの人工構造体の機能を高め、その構造体を操作性を向上することが、医療応用可能なデバイス開発に重要であることを示している。今後、ナノ構造の特徴を活用した物質の精密な分離や物質変換システムへとつながると期待される。

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5件)

- (1) Harunobu Komatsu, Shinji Matsumoto, Shun-ichi Tamaru, Kenji Kaneko, Masato Ikeda, Itaru Hamachi “Supramolecular Hydrogel Exhibiting Four Basic Logic Gate Functions to Fine-tune release function” *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 5580-5585 (2009).
- (2) Atsuhiko Wada, Shun-ichi Tamaru, Masato Ikeda, Itaru Hamachi “MCM-Enzyme-Supramolecular Hydrogel Hybrid as a Fluorescence Sensing Material for Poly-anions of Biological Significance” *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 5321-5330 (2009).
- (3) Masato Ikeda, Shiori Ueno, Shinji Matsumoto, Yusuke Shimizu, Harunobu Komatsu, Ken-ichi Kusumoto, and Itaru Hamachi “Three-dimensional encapsulation of live cells by hybrid matrix of supramolecular hydrogel and nanoparticles” *Chem. Eur. J.* **14**, 10808-10815 (2008).
- (4) Masato Ikeda, Yusuke Shimizu, Shinji Matsumoto, Harunobu Komatsu, Shun-ichi Tamaru, Toshikazu Takigawa, Itaru Hamachi “Mechanical reinforcement of supramolecular hydrogel comprising artificial glyco-lipid through supramolecular copolymerization” *Macromol. Biosci.* **8**, 1019-1025 (2008).
- (5) Shinji Matsumoto, Satoshi Yamaguchi, Atsuhiko Wada, Toshihiro Matsui, Masato Ikeda, Itaru Hamachi “Photo-responsive gel droplet as a nano- or pico-liter container comprising a supramolecular hydrogel” *Chem. Commun.*, 1545-1547 (2008).

[学会発表] (計2件)

- (1) 池田 将, 浜地 格 「ナノバイオ材料としての超分子ヒドロゲルの設計」 第58回

高分子討論会、平成 21 年 9 月 16 日、熊本大学

(2) 池田将「超分子ナノファイバーの流動性を利用した分子レールの構築」第 57 回高分子討論会、平成 20 年 9 月 24 日、大阪市立大学

〔図書〕(計 1 件)

(1) 池田 将、浜地 格・超分子ヒドロゲルのバイオ機能・「驚異のソフトマテリアル―最新の機能性ゲル研究」・104-110・2010

〔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

<http://www.sbchem.kyoto-u.ac.jp/hamachi-lab/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

池田 将 (IKEDA MASATO)

京都大学・大学院工学研究科・助教

研究者番号：20432867