

平成 22 年 5 月 18 日現在

研究種目：若手研究(スタートアップ)
 研究期間：2008 年度～2009 年度
 課題番号：20850005
 研究課題名(和文)水中原子移動ラジカル重合による糖鎖高分子合成を用いる微粒子表面の高
 密度糖鎖被覆
 研究課題名(英文) Preparation of glycopolymer grafted polymer particles via
 surface-initiated atom transfer radical polymerization
 研究代表者
 桑折 道済 (KOHRI MICHINARI)
 千葉大学・大学院工学研究科・助教
 研究者番号：80512376

研究成果の概要(和文): 物質表面の化学的、物理的な改質技術は、材料科学において重要である。本研究では、表面改質技術の一種である表面開始原子移動ラジカル重合(ATRP)を駆使し、ポリスチレン微粒子表面の糖鎖高分子による被覆を行った。作製した粒子は高い分散安定性、レクチンとの特異的凝集能を示した。

研究成果の概要(英文): The chemical and physical modification of material surface is important for practical application. In this study, we utilized surface-initiated atom transfer radical polymerization (ATRP) technique for surface modification of polystyrene particles with glycopolymers. Resulting particles were vigorously aggregated in response to specific lectins.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,190,000	357,000	1,547,000
2009 年度	1,080,000	324,000	1,404,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,270,000	681,000	2,951,000

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：糖鎖高分子，高分子微粒子，原子移動ラジカル重合，表面改質

1. 研究開始当初の背景

糖鎖高分子を合成し、医用基盤材料として応用、実用化する研究が盛んに行われている。これまでラジカル重合・イオン重合・開環重合などにより、多くの糖鎖高分子の合成が報告されている。さらに近年では、リビングラジカル重合により、構造・分子量が精密に制御された糖鎖高分子の調製も行なわれるようになってきた。

現在報告されているほとんどが、線状・分岐状糖鎖高分子であるが、生体内で糖鎖は各細胞の表層、つまり界面に高密度に存在している。つまり、糖鎖機能を積極的に解明・利用していくにあたっては、界面に糖鎖を高密度で集積したモデル物質の調製が不可欠である。

高分子微粒子は、表面積が大きく(=多くの界面が存在)、取り扱いやすいことから、高

分子微粒子表面への効率的な糖鎖高分子の導入により、上記課題が達成され、幅広い分野での利用が期待される。また、糖鎖が高密度で集まることで発現する「クラスター効果」が効果的に機能することが見込まれる。しかし、このような観点からの研究例はこれまでにほとんどない。高密度な集積、機能評価を行なうにあたっては、構造明確で分子量が制御された糖鎖高分子合成が求められる。また、疎水性の高分子微粒子表面上に、親水性に富んだ糖鎖高分子を導入していくにあたっては、微粒子が溶解しない水中での反応が求められていた。

2. 研究の目的

糖鎖機能をより積極的に解明・利用していくにあたっては、界面への高密度な糖鎖高分子の集積化が求められる。高分子微粒子は取り扱いが容易で、大きな表面積(=界面)を有するにも関わらず、その表面上への糖鎖高分子の集積化はあまり検討されてこなかった。そこで本研究では、高分子微粒子表面上で、水中での原子移動ラジカル重合法(水中 ATRP 法)により糖鎖高分子を調製する糖鎖高分子被覆微粒子の簡便な調製法の開発目的とした。図 1 に本研究の概要を示す。上記目標を達成すべく、(1)新規糖鎖含有モノマー 1、2 の合成、(2)糖鎖高分子被覆微粒子 Gp1、Gp2 の調製、(3)作製した微粒子の特性評価を目指した。

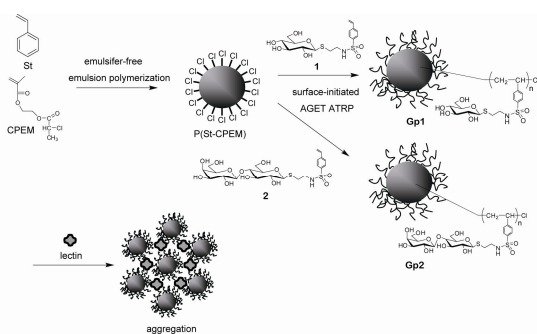


図 1 本研究の概要

3. 研究の方法

(1)新規糖含有モノマーの合成

スルホンアミド基含有のグルコース、ラクトース型糖鎖モノマー 1、2 を、容易に調製可能な臭化グリコシルから 3 段階で合成した。合成後のモノマーの構造は NMR、MS により解析した。

(2)ATRP 開始基を導入したポリスチレン微粒子の合成、ATRP による表面修飾

ソープフリー乳化重合を用いて、粒子表面に ATRP 開始基を有する、粒径約 340 nm のポリスチレン粒子(P(St-CPEM))を作製した。続いて、水中またはメタノール-水混合溶媒中で(1)で作製した糖鎖含有モノマー 1、2 の ATRP を行い、糖鎖高分子により被覆した高分子微粒子 Gp1、Gp2 を調製した。作製した粒子の特性評価は、SEM、DLS、NMR により行った。

(3)限界凝集濃度、レクチンとの特異的凝集能の評価

塩化ナトリウム濃度変化における(2)で作製した粒子 Gp1、Gp2 の限界凝集濃度を算出した。また、導入した糖鎖高分子の特異的凝集を検出するため、グルコース、あるいはラクトースに結合するレクチン(コンカナバリン A: ConA、ピーナッツレクチン: PNA)を用いて凝集能の評価を行った。

4. 研究成果

(1)新規糖鎖含有モノマー 1、2 の合成

はじめに、水中での原子移動ラジカル重合による糖鎖高分子の合成へ適応可能な新規糖鎖モノマー 1、2 をそれぞれ設計/合成した(図 2)。各種 NMR 測定、MS 測定より 1、2 が合成できたことを確認した。なお、グルコース型の 1 は水への溶解性が低かったが、メタノールには溶解することが分かった。一方、ラクトース型の 2 は水へ溶解することが確かめられた。

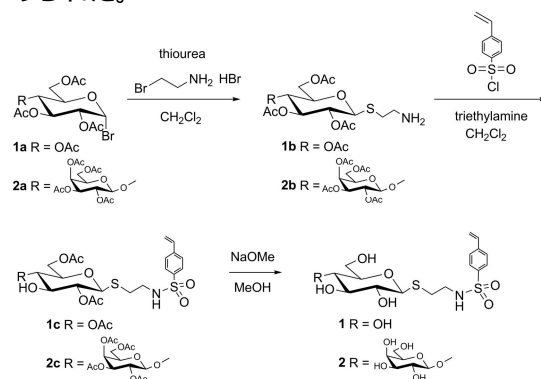


図 2 糖鎖モノマーの合成

(2)糖鎖高分子被覆微粒子 Gp2、Gp2 の調製

合成した糖鎖モノマー 1、2 を用いて、各種重合法により調製した高分子微粒子表面に糖鎖高分子層を形成した。その結果、ソープフリー乳化重合により調製した粒子を利用することで、効率よく糖鎖高分子被覆、ならびに精製が行えることがわかった。

DLS により粒子径の測定を行ったその結果、微粒子表面に 30 ~ 40 nm 程度の糖鎖高分子の

グラフト層が形成されていることが示された(図 3)。また、SEM 測定により表面形状を観測したところ、非常に均一な表面が形成されていることがわかった。さらに IR 測定からも糖鎖高分子の導入が確認された。

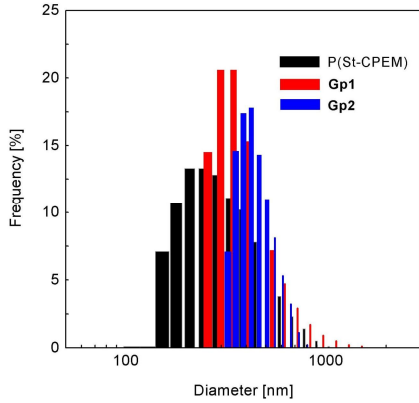


図 3 作製した粒子の粒径分布

(3) 作製した微粒子の特性評価

高分子微粒子の安定性は、医療診断材料等への応用を考える上で、大変重要な要素となる。そこで、作製した糖鎖高分子被覆微粒子 Gp1、Gp2 の限界凝集濃度を測定した。塩化ナトリウム濃度の違いにおける凝集濃度を測定したところ、コアとなるポリスチレン粒子 (P(St-CPEM)) では 70 mM で粒子が凝集したのに対して、Gp1、Gp2 ではそれぞれ 110 mM、105 mM まで凝集濃度が増加した(図 4)。この結果から、導入した糖鎖高分子が微粒子の安定性に寄与することが示された。

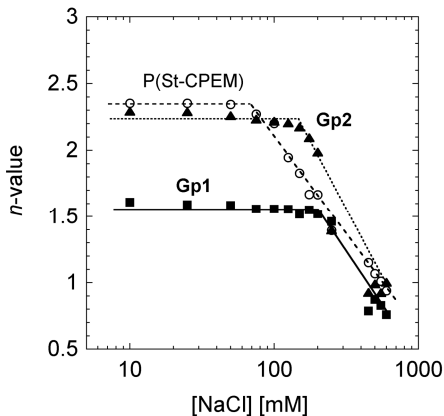


図 4 作製した粒子の限界凝集濃度

本実験で導入した糖鎖高分子は、グルコース、ラクトースをそれぞれ含有している。これらの糖鎖は、生体内ではタンパク質と特異的に結合することが知られており、このよう

な糖鎖の性質を利用することで、作製した微粒子の医療診断材料等への応用が見込まれる。そこで、グルコース、ラクトースにそれぞれ特異的に結合するレクチン ConA、PNA を用いて、微粒子の特異的凝集能の評価を行った。結果を図 5 に示す。

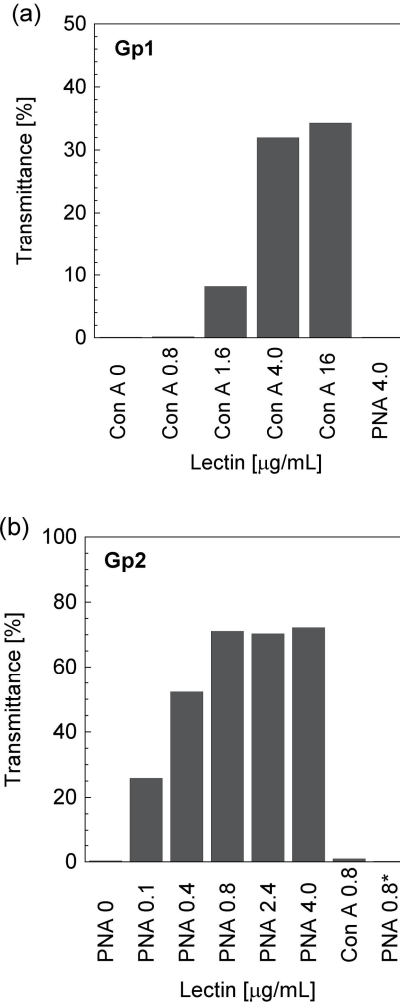


図 5 レクチンとの特異的凝集能の評価

レクチン凝集能の評価は、粒子分散液に各種レクチンを添加し、一晚静置後、上澄みの 600 nm における透過率を UV-vis 分光光度計により測定することで評価した。図 5(a) は Gp1 を用いた際の結果である。グルコースに特異的に結合する ConA の濃度を 0-16 μg/mL まで変化させたところ、濃度の増加に伴い糖化率が上昇した。また、グルコースとは結合しない PNA を加えた場合は、粒子の凝集は観測されなかった。このことから ConA の添加によりグルコース-ConA 間の特異的結合が起こり、結果として粒子 Gp1 の凝集が起こることが示された。また、図 5(b) には Gp2 の結果をまとめた。Gp2 はラクトースを含むことが

ら PNA を添加したところ、濃度上昇に伴い、確かに粒子凝集が引き起こされることが確かめられた。また Gp2 の場合も、ラクトースを認識しない ConA による凝集は認められなかった。さらに、PNA により凝集した粒子にラクトースを添加したところ(図 5(b)*)、再び透過率はほぼ 0 となり、一度凝集した粒子が再分散することが確かめられた。これらの実験結果より、本研究で作製した糖鎖高分子で被覆した微粒子は、非特異凝集能が抑制され、かつ特異的凝集能を有することが示された。

糖鎖は特異的な認識機能に加え、親水性を示す性質から表面改質等にも利用でき、本研究で確立した糖鎖高分子の水中での精密重合による微粒子表面の機能化法は大変有用である。一連の検討は、親水性の糖鎖による、微粒子表面被覆であることから、糖鎖だけでなく、さまざまな親水性機能団を用いた系へ適用できる。このため、糖鎖工学のみならず、光・電子機能化合物などに代表される、機能性高分子化学一般にひろく応用が可能であると考えられる。

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 2 件)

「Preparation of core-shell coagulates by hydrophobic heterocoagulation of micron-sized poly(methyl methacrylate) and submicron-sized poly(styrene) particles」T. Taniguchi, T. Ogawa, Y. Kamata, S. Kobaru, N. Takeuchi, M. Kohri, T. Nakahira, and T. Wakiya, (2010) Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 356, 169-175

「Preparation of organic/inorganic composites by deposition of silica onto shell layers of polystyrene (core) / poly[2-(N,N-dimethylamino)ethyl methacrylate] (shell) particles」T. Taniguchi, T. Kashiwakura, T. Inada, Y. Kunisada, M. Kasuya, M. Kohri, T. Nakahira, J. Colloid Interface Sci., in press

[学会発表](計 15 件)

「Preparation of Glycoparticles by Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization」M. Kohri, Y. Kunisada, M. Kasuya, T.

Taniguchi, T. Nakahira, (The 2nd International Symposium on Advanced Particles(ISAP-2009), Yokohama, 2009.4)

「Specific Agglutination of Polymer Particles Supporting BSA」

T. Taniguchi, A. Mizuno, T. Sawai, H. Tsubota, M. Kohri, T. Nakahira, (The 2nd International Symposium on Advanced Particles(ISAP-2009), Yokohama, 2009.4)

「無保護の糖鎖モノマーを用いる精密重合による糖鎖高分子調製」

桑折 道済, 阿保 英美奈, 佐藤 円香, 笹岡将人, 国貞 悠介, 春谷 昌克, 谷口 竜王, 中平 隆幸, (第 58 回高分子討論会, 熊本, 2009.9)

「水中での原子移動ラジカル重合による糖鎖高分子の合成および微粒子表面修飾技術への適応」

桑折 道済, 篠原 満利恵, 国貞 悠介, 春谷 昌克, 谷口 竜王, 中平 隆幸, (第 57 回高分子討論会, 大阪, 2008.9)

他 11 件

[その他]

ホームページ等

<http://chem.tf.chiba-u.jp/gacb03/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

桑折 道済 (KOHRI MICHINARI)

千葉大学・大学院工学研究科・助教

研究者番号：80512376

(2)研究分担者

なし ()

研究者番号：

(3)連携研究者

なし ()

研究者番号：