

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K14728

研究課題名（和文）環状トポロジーの導入により標的への結合力を高めた生体模倣高分子の精密設計

研究課題名（英文）Precise design of biomimetic polymers with enhanced target binding avidity through the introduction of cyclic topology

研究代表者

長尾 匡憲（Nagao, Masanori）

九州大学・工学研究院・助教

研究者番号：40904008

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：研究期間全体を通し、まずリビングラジカル重合を用いることで糖鎖をもつ環状高分子の合成を達成した。精製操作によって純度の高い環状高分子が得た。その物性を示差走査熱量系やNMRの緩和時間により評価すると、環化することでその分子運動性は低下した。相互作用を評価すると、主鎖の環化により分子間相互作用は弱くなったが、側鎖の運動性は低い方が望ましいという結果が得られた。本研究は高分子の局所的な運動性が分子認識という機能に影響することを示し、合成高分子のナノマテリアルとしての発展に寄与した。研究成果は主に2報の国際論文として発表された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

合成高分子は日常生活においてプラスチック材料としてよく知られるが、分子レベルで見るとDNAやタンパク質といったナノサイズの大きさの生体高分子と同じスケールをもつ。タンパク質はアミノ酸が連なった構造をしており、アミノ酸の並び方によって決まったカタチをとり、酵素や抗体のような優れた機能を発揮している。本研究は人間がフラスコで作る合成高分子を天然の生体高分子のように精密に合成し、それらと同等もしくは凌駕する機能性ナノ材料を合成することを目指している。今回の研究成果は合成高分子のカタチを線形から環状にすることで分子同士の結合に影響を与えることを明らかにし、上述の目標達成に貢献した。

研究成果の概要（英文）：Throughout the research period, we successfully synthesized cyclic glycopolymers using living radical polymerization. Highly pure cyclic glycopolymers were obtained through a purification procedure. Evaluation of their physical properties using differential scanning calorimetry and NMR relaxation time revealed that cyclization of the polymer structures reduced their molecular mobility. The cyclization of the main chain weakened the interactions of glycopolymers with target proteins, indicating that the higher molecular mobility of the polymer main chain was favorable. On the other hand, in terms of the side chains, the lower mobility was preferable for the interactions. This research showed that the local mobility of polymers affects the function of molecular recognition, contributing to the development of synthetic polymers as nanomaterials. The research results were mainly published in two international papers.

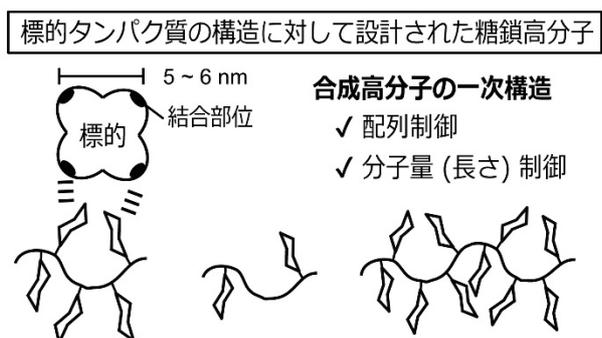
研究分野：高分子化学

キーワード：環状高分子 分子間相互作用 糖鎖高分子 リビング重合 タンパク質

1. 研究開始当初の背景

我々の身体を構成する細胞の中にはDNAやタンパク質といったナノメートルオーダーの高分子が存在し生命活動が成り立っている。これらの高分子は三次元的に非常に決まった構造をとっており、お互いの精密な構造（相補的に一致する官能基配置の組み合わせ）を認識し、特定の相手同士で強く結合する機能を発現している（例：抗原-抗体）。つまり、高分子1分子の精密な三次元構造に由来して精密で優れた機能が発現されている。一方、合成高分子は様々な構造をもつ分子の混合物であり、マクロに発現する機能はそれぞれの分子の性質が重なった結果である。故に高分子材料としての機能の精密さには限界がある。そこでDNAやタンパク質のような天然高分子のはたらしに倣い、合成高分子を1分子として捉えその構造をナノオーダーで均一に設計することができれば、これまで達成できなかった精密な機能をもつ高分子材料が期待できる。合成高分子の構造を制御する重合法としてはリビング重合法が存在し、分子量やモノマー配列といった構造を設計することで多様な機能性高分子が合成されている。

これまでタンパク質のような生体高分子の機能（生体分子間での結合）の模倣を目指し、リビングラジカル重合を用いて糖鎖をもつ合成高分子（糖鎖高分子）の構造設計および機能評価が行われてきた（糖鎖は決まったタンパク質と結合する官能基）（*Biomacromolecules* 2019, 20, 2763）。糖鎖と結合する標的タンパク質の構造特徴を捉え、高分子の一次構造（配列や分子量）を設計することで相互作用を高めることができていた。しかし「標的への結合の強さ」で比較すると合成高分子は未だに生体高分子よりも100倍ほど弱い。この原因は溶液中の高分子の形態変化にある。タンパク質は一次構造だけでなく三次元構造まで定まっており、結合に関与する官能基が決まった向きと距離で配置されていることで標的の構造と強く結合できる。一方、合成高分子は溶液中でランダムウォーク挙動をとっているため、結合性官能基（糖鎖）の三次元的な配置が定まらない。本研究の課題は「一般的な線形の合成高分子では溶液中のコンフォメーションが定まらず、その三次元構造（官能基配置）を制御できない」ことである。



【これまでの結果】

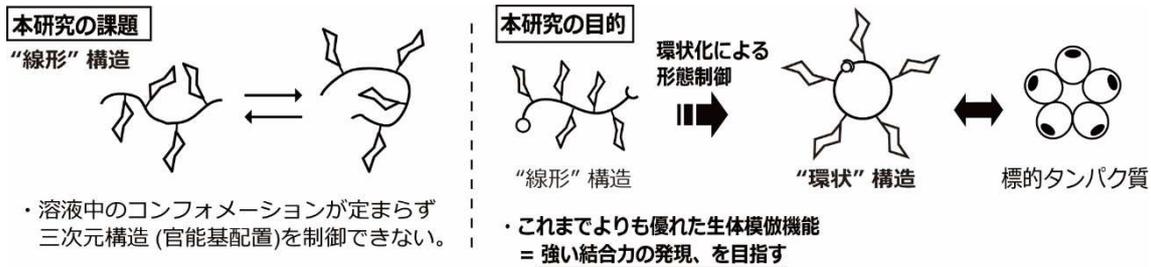
合成高分子の一次構造を標的構造に対して設計し

「分子間の結合強さ」を制御できた。

→ しかしまだ生体高分子より100倍ほど弱く、
高分子の形態(コンフォメーション)変化が原因。

2. 研究の目的

そこで本研究では新たな設計指針として、線形構造よりも形態変化が抑えられる環状構造に着目した。これにより高分子のもつ官能基を空間的に配置できる。リビング重合による従来の一次構造設計に加え、構造の環状化（トポロジー設計）を取り入れることで合成高分子の三次元構造の制御を達成し、より生体高分子に近い機能発現を目指した。



3. 研究の方法

研究の進め方は以下の3つのステップから構成された。

1. リビングラジカル重合により、分子量が設計された環状の糖鎖高分子を合成した。
2. 高分子のトポロジーによる形態（運動）変化の差を分子運動性の定量的測定で評価した。
3. 標的生体分子と環状糖鎖高分子の相互作用を解析し、結合の強さにどのような差が生じるかを評価した。

1 について：

まずリビング重合の1種である可逆的付加開裂連鎖移動 (RAFT) 重合を用いて線形の糖鎖高分子を合成する。このとき、使用する RAFT 剤にあらかじめアジド基を導入しておく。重合後に高分子の末端修飾により、トリチオカルボネートをアルキンへと転換する。その後、線形糖鎖高分子の両末端を銅触媒環化反応により結合させ、標的構造に対して設計された環状の糖鎖高分子を合成した。

2 について：

環状高分子の解析を行い、サイズ排除クロマトグラフィーによる流体半径の減少や示差走査熱量計によるガラス転移温度の上昇が確認された。またさらに NMR における T_2 緩和時間の測定も行い、主鎖の環化によって高分子の運動性が低下していることを確認した。

3 について：

生体分子との相互作用は、標的となるピーナッツ凝集素 (PNA) を用いた赤血球凝集阻害試験によって評価した。糖鎖高分子とタンパク質との結合は、高分子を環状にすることで弱くなることがわかった。

4. 研究成果

上述の実験結果として、線形構造の糖鎖高分子の方が環状の構造よりも強い相互作用を示した。これは予想に反するものだったが、追加で高分子主鎖とガラクトースの間をつなぐリンカー構造の長さを変えて実験を行った。その結果、リンカー構造は短く糖側鎖の運動性が低い方が結合には有利であり、逆に高分子の主鎖は運動性の高い線形構造の方が有利であるという結論が得られた。

研究期間全体を通し、まずリビングラジカル重合を用いることで糖鎖をもつ環状高分子の合成を達成した。精製操作によって純度の高い環状高分子が得た。その物性を示差走査熱量系や NMR の緩和時間により評価すると、環化することでその分子運動性は低下した。相互作用を評価すると、主鎖の環化により分子間相互作用は弱くなったが、側鎖の運動性は低い方が望ましいという結果が得られた。本研究は高分子の局所的な運動性が分子認識という機能に影響することを示し、合成高分子のナノマテリアルとしての発展に寄与した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Masanori Nagao, Yu Hoshino, Yoshiko Miura	4. 巻 13
2. 論文標題 Synthesis of well-defined cyclic glycopolymers and the relationship between their physical properties and their interaction with lectins	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Polymer Chemistry	6. 最初と最後の頁 5453 - 5457
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/D2PY00941B	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nagao Masanori, Tanaka Shuya, Miura Yoshiko	4. 巻 4
2. 論文標題 Preparation of an amphipathic polymer library in a mixture of water/ethanol by photoinduced polymerization and evaluation of the cryoprotective activity	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Materials Advances	6. 最初と最後の頁 3192 ~ 3196
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/D3MA00251A	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Nagao Masanori, Miura Yoshiko	4. 巻 12
2. 論文標題 Correlation between Self-Folding Behavior of Amphiphilic Polymers and Their Molecular Flexibility	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ACS Macro Letters	6. 最初と最後の頁 733 ~ 737
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsmacrolett.3c00182	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nagao Masanori, Matsumoto Hikaru, Miura Yoshiko	4. 巻 18
2. 論文標題 Design of Glycopolymers for Controlling the Interactions with Lectins	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Chemistry - An Asian Journal	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/asia.202300643	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nagao Masanori, Horie Aya, Matsumoto Hikaru, Hoshino Yu, Miura Yoshiko	4. 巻 63
2. 論文標題 Continuous-Flow PET-RAFT Polymerization in a Packed-Bed Reactor with Porphyrin-Immobilized Silica Particles	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Industrial & Engineering Chemistry Research	6. 最初と最後の頁 200 ~ 209
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.iecr.3c03496	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nagao Masanori, Masuda Tsukuru, Takai Madoka, Miura Yoshiko	4. 巻 12
2. 論文標題 Preparation of cellular membrane-mimicking glycopolymer interfaces by a solvent-assisted method on QCM-D sensor chips and their molecular recognition	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Materials Chemistry B	6. 最初と最後の頁 1782 ~ 1787
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D3TB02663A	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Jin Wenkang, Nagao Masanori, Kumon Yusuke, Matsumoto Hikaru, Hoshino Yu, Miura Yoshiko	4. 巻 -
2. 論文標題 Effects of Cyclic Glycopolymers Molecular Mobility on their Interactions with Lectins	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 ChemPlusChem	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cplu.202400136	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 金文康、長尾匡憲、星野友、三浦佳子
2. 発表標題 環状糖鎖高分子の合成および標的タンパク質との相互作用評価
3. 学会等名 第71回 高分子学会年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金文康、長尾匡憲、三浦佳子
2. 発表標題 コレラ毒素認識能を持った環状糖鎖高分子の合成および相互作用評価
3. 学会等名 第59回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金文康、長尾匡憲、三浦佳子
2. 発表標題 ガラクトースを用いた環状糖鎖高分子の合成および 標的タンパク質との相互作用評価
3. 学会等名 第71回 高分子討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Wenkang Jin, Masanori Nagao, Yoshiko Miura
2. 発表標題 Synthesis of cyclic glycopolymers and evaluation of the interaction with target proteins
3. 学会等名 The 17th Pacific Polymer Conference (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 WENKANG JIN, Masanori Nagao, Yoshiko Miura
2. 発表標題 Synthesis of cyclic glycopolymer and evaluation of the interaction with target proteins
3. 学会等名 第72回高分子学会年次大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Masanori Nagao
2. 発表標題 Topological design of synthetic polymers for controlling the biomolecular recognition
3. 学会等名 第72回高分子学会年次大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 金 文康、長尾 匡憲、三浦 佳子
2. 発表標題 コレラ毒素を標的とした環状糖鎖高分子の精密合成と相互作用評価
3. 学会等名 第72回高分子討論会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------