

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26620106

研究課題名(和文)ダイナミック硫酸化糖鎖高分子の創製と機能

研究課題名(英文)Preparation and Function of Dynamic Sulfated Glycopolymers

研究代表者

三浦 佳子 (Miura, Yoshiko)

九州大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：00335069

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：糖鎖高分子は、糖鎖の密度、空間分布に従って、糖認識タンパク質と結合する作用があることがわかった。また、糖鎖高分子の物性に応じて結合能が異なり、分子認識に大きな影響があることがわかった。硫酸化糖鎖を有した高分子については、酵素や細胞成長因子といったタンパク質と強く結合することがわかった。高分子のナノゲルと同様のモノマーで、濃度を濃厚にした上で、溶媒をDMSO、アルコール混合溶媒にしたところ、多孔性の糖鎖高分子が調製された。また、アクリルアミド型のアルキン側鎖を持つモノマーを合成し、シアル酸オリゴ糖を含む糖鎖高分子を簡単に調製できる手法の開発も行った。

研究成果の概要(英文)：Various glycopolymers were prepared with different sugar ratio, density and physical properties. The glycopolymers were prepared as linear polymers, nanogels, and polymer monolith. Not only were the density of sugar, but also physical properties of the glycopolymers important for protein recognition. Target proteins depended on the sugar structure, and sulfated glucosamine bound to the enzyme and growth factors. The polymer monolith was also prepared with the same method with condensed condition under the mixture of DMSO and alcohol. The glycopolymers with various saccharides were prepared via living radical polymerization and click chemistry.

研究分野：高分子化学

キーワード：糖鎖高分子 生体関連高分子 分子認識

## 1. 研究開始当初の背景

生体系では生理活性糖鎖が種々の生体分子認識を司っている。糖鎖とタンパク質の相互作用を解析することは、生命現象を明らかにする上で、シグナル伝達などの観点から非常に重要である。糖鎖-タンパク質の相互作用は、元々弱いため、糖鎖の提示方法によって、種々の要因の影響を受ける。良く知られている、糖鎖の集合効果は糖鎖クラスター効果として知られるが、単なる多点結合として捉えられており、詳細は分かっていない。

一方で、人工的な高分子である、糖鎖高分子では、強大な多価効果を発揮しうる材料として注目を集めてきた。また、糖鎖の間隔や分子鎖長など種々のパラメーターを調節できることから分子認識のモデル系として興味深い。これまでの糖鎖高分子の分子認識の解析においては糖鎖の間隔(密度)と多点結合の可能性のみが考慮されてきたが、分子のダイナミクスについては殆ど考慮されていなかった。これまでに申請者のグループでは、糖鎖を含む三次元的なナノゲル粒子の合成に成功している。糖鎖を三次元的に配置して、高分子物性を制御することで、ダイナミクスを制御した糖鎖高分子の開発を可能にしてきた。

また、申請者は、硫酸化糖の重合性モノマーを用いたグリコサミノグリカンの模倣高分子の開発を行ってきた。本研究では糖鎖高分子のダイナミクスを制御した高分子、硫酸化糖のダイナミクスを制御した高分子などについて検討を行った。

## 2. 研究の目的

糖鎖高分子および糖鎖高分子ナノゲルを利用することで、動的構造に着目しながら、分子認識の機構の解明と制御を行うことが目的である。同時に、糖鎖高分子自体に着目し、タンパク質、細胞、ウイルスなどとの相互作用を制御して、バイオマテリアルとして役立てることも目的である。

## 3. 研究の方法

N-イソプロピルアクリルアミドを主体とし、重合性の糖鎖誘導体を各種合成して、糖鎖高分子ナノゲルを調製した。また、部位特異的な硫酸化を施した、各種の重合性硫酸化 N-アセチルグルコサミンを合成した。調製した重合性の糖モノマーを利用して、各種の糖鎖高分子とナノゲルを調製した。対応する糖認識タンパク質との相互作用を検討した。また、クリック反応を利用して、糖鎖高分子の糖鎖の種類を増やすような合成手法も開発した。

## 4. 研究成果

先ず、マンノースをモノマーとした時の糖鎖高分子ナノゲルの開発を行い、糖鎖高分子の糖鎖の密度、物性に関する相関について検討を行った。糖鎖高分子は、糖鎖の密度、空間分布に従って、糖認識タンパク質と結合する作用があることがわかった。また、糖鎖高分子の物性に依っても結合能が異なり、相転移しやすいナノゲル粒子と糖認識タンパク質の結合速度と解離速度が異なり、分子認識に大きな影響があることがわかった。また、硫酸化糖鎖を有した高分子については、アクリルアミドなどと共重合することで、糖鎖高分子を調製することができて、酵素や細胞成長因子といったタンパク質と強く結合することがわかった。

高分子のナノゲルと同様のモノマーで、濃度を濃厚にした上で、溶媒を DMSO、アルコール混合溶媒にしたところ、多孔性の糖鎖高分子が調製された。この高分子については流通式でタンパク質と結合し、これは糖鎖高分子の物性によることがわかった。また、アクリルアミド型のアルキン側鎖を持つモノマーを合成し、シアル酸オリゴ糖を含む糖鎖高分子を簡単に調製できる手法の開発も行った。

## 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 11 件)

1. Hirokazu Seto, Seiji Kamba, Takashi Kondo, Makoto Hasegawa, Yuichi Ogawa, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, “Metal mesh device sensor immobilized with a trimethoxysilane-containing glycopolymer for label-free detection of proteins and bacteria” ACS Applied Materials and Interface, 2014, 6, 13242-13241.
2. Hirokazu Seto, Seiji Kamba, Takashi Kondo, Yuichi Ogawa, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, “Novel Detection Technique for Particular matter Air Using Metal Mesh Device Sensors” Chem Lett, 2014, 43, 408-410.
3. Yuhei Terada, Wakana Hashimoto, Tetsuro Endo, Hirokazu Seto, Tatsuya Murakami, Hideaki Hisamoto, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, “Singal Amplified Two Dimensional Photonic Crystal Biosensor Immobilized with Glyco-Nanoparticles, J. Mat. Chem. B, 2014, 2, 3224-3332.
4. 三浦佳子、星野友、瀬戸弘一、“合成高分子と天然高分子の融合、精密重合法による生体機能性高分子の展開”2015, 70, 70-71.
5. Hirokazu Seto, Tamami Yoneda, Takato Morii, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, “Membrane Reactor Immobilized with Palladium-Loaded Polymer Nanogel for Continuous Flow” ALCHE J. 2015, 61, 582-589.
6. Yoshiko Miura, Yu Hoshino, Hirokazu Seto, “Glycopolymer Nanotechnology”, Chemical Review,

2016, 116, 1673-1692.

7. Hirokazu Seto, Seiji Kamba, Takashi Kondo, Yuichi Ogawa, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, “Label-Free Detection of Antigen Protein using a Metal Mesh Device Surface-Modified by an Antibody” Anal. Sci. 2015, 173-176.
8. Masanori Nagao, Yuuki Kurebayashi, Hirokazu Seto, Tomonari Tanaka, Tadanobu Takahashi, Takashi Suzuki, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, Synthesis of Well-controlled glycopolymers bearing oligosaccharide and their interactions with influenza viruses” Polymer Journal, in press.
9. Yoshiko Miura, Tomohiro Fukuda, Hirokazu Seto, Yu Hoshino, “Development of Glycosaminoglycan Mimetics using Glycopolymers”, Polymer J. 2016, 48, 229-237.
10. Xinnan Cui, Yuki Kojima, Hirokazu Seto, Tatsuya Murakami, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, “Inhibition of Bacteria Adhesion on Hydroxyapatite Model Teeth by Surface Modification with PEGMA-Phosmer Copolymers” ACS Biomater Sci Eng. 2016, 2, 205-212.
11. Tomohiro Fukuda, Erino Matsumoto, Yoshiko Miura, “Interaction between Multimeric Sulfated Saccharides and Alzheimer Amyloid b(1-42)”, Chem Lett, 2015, 44, 1482-1484.

〔学会発表〕(計 44 件)

1. 瀬戸弘一、澁谷誠、星野友、三浦佳子、“糖鎖高分子を利用したタンパク質吸着材料”、第 28 回日本吸着学会 2014 年 10 月
2. 瀬戸弘一、米田玉弥、星野友、三浦佳子、“塩基性高分子ナノゲル触媒の開発、第

- 6 3 回高分子討論会 2014 年 9 月
3. 瀬戸弘一、神波誠治、近藤孝志、星野友、三浦佳子、“金属メッシュデバイスを利用した空気中の粒子状物質の検出” 第 46 回化学工学会、2014 年 9 月
  4. 国府島由紀、ツイシンナン、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子、“HAp 基板上への生体分子の吸着を抑制する材料の開発” 第 28 回日本吸着学会、2014 年 10 月
  5. 国府島由紀、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子、“Inhibition of Protein and Bacteria Adsorption on Hydroxyapatite Surface” 27<sup>th</sup> International Symposium on Chemical Engineering, 2014 年 12 月
  6. 国府島由紀、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子”Biomacromolecular adsorption on oligoethyleneglycol modified dendrimer interface” IUMRS-ICA2014 2014 年 8 月
  7. 長尾 匡憲、呉振宇、瀬戸弘一、田中知成、星野友、三浦佳子、“糖鎖高分子を用いたセンサーによる標的検出”、第 63 回高分子討論会 2014 年 9 月
  8. 長尾 匡憲、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子 “糖鎖高分子修飾金属メッシュデバイスによる標的検出”、第 51 回化学関連支部合同九州大会、2014 年 6 月
  9. 長尾 匡憲、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子 “インフルエンザウイルスの検出を目指した糖鎖高分子の開発”、第 63 回高分子年次大会、2014 年 5 月
  10. 秋吉孝則、米田玉弥、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子、“架橋密度の異なるナノ粒子を担体とする Pd 固定化触媒の開発”、九州地区高分子若手研究会 2014 年 12 月
  11. 秋吉孝則、米田玉弥、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子 “ナノゲル粒子単体の架橋密度が異なる Pd 固定化触媒の作製” 第 17 回化学工学会学生発表会、2015 年 3 月
  12. 米田玉弥、森井崇人、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子、“Pd-supported polymer nanoparticle immobilized silica membrane type reactor”, 27<sup>th</sup> International Symposium on Chemical Engineering, 2014 年 12 月
  13. 米田玉弥、森井崇人、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子、“固定化パラジウム触媒活性へのナノゲル担体組成の影響” 化学工学会 第 46 回秋季大会、2014 年 9 月
  14. ツイシンナン、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子、“Inhibition of biofilm Adhesion on Hydroxyapatite surface by using PEG-Phosmer Copolymer” 第 25 回九州地区若手ケミカルエンジニア討論会 2014 年 7 月
  15. ツイシンナン、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子、“Inhibition of biofilm Adhesion on Hydroxyapatite surface by using PEG-Phosmer Copolymer” 第 24 回日本 MRS 年次大会、2014 年 12 月
  16. Yoshiko Miura, Yuri Nishimura, Hirokazu Seto, “Glycopolymer with Glycosaminoglycan Mimic Activity” ACS national meeting 2014 年 8 月
  17. Yoshiko Miura, “Glycopolymer Coated Gold Nanoparticle via RAFT Polymerization for Biosensing” CIMTEC2014, 2014 年 6 月
  18. Yuhei Terada, Tatsuro Endo, Hirokazu Seto, Hideaki Hisamoto, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, “2D Photonic Crystal Immobilized with Sugar Incorporating Nanogel Particles” ACS National meeting, 2014 年 8 月
  19. Yoshiko Miura, “Glycopolymer Interface for Bio-Functional Materials”, CC3DMR, 2014 年 6 月
  20. 三浦佳子、“糖と合成プラスチックの融合による新しい機能マテリアルの創造” 第 8 回多糖の未来フォーラム、2014 年 11 月
  21. ツイシンナン、国府島由紀、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子、“Inhibition of Biofilm Adhesion of Hydroxyapatite Surface by using PEG-Phosmer Copolymer” 第 64 回高分子年次大会 2015 年 5 月
  22. 瀬戸弘一、澁谷誠、星野友、三浦佳子、“糖鎖高分子を利用したタンパク質分離材料の開発”、第 64 回高分子年次大会、2015 年 5 月
  23. 長尾 匡憲、瀬戸弘一、田中知成、星野友、三浦佳子、“RAFT living radical polymerization of glycopolymers having various polymer backbones and molecular recognition” 第 64 回高分子年次大会、2015 年 5 月
  24. 秋吉孝則、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子、“架橋密度を制御した Pd 担持ナノゲル触媒の活性評価” 第 52 回化学関連支部合同九州大会、2015 年 6 月
  25. 秋吉孝則、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子、“ナノゲル担体の網目によって高活性を保持する Pd 微粒子触媒” 第 26 回九州地区若手エンジニア討論会、2015 年 7 月
  26. 長尾 匡憲、瀬戸弘一、田中知成、星野友、三浦佳子、“種々の糖鎖を含有する糖鎖高分子の合成およびその分子認識” 第 34 回日本糖質学会、2015 年 8 月
  27. 秋吉孝則、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子、“Pd 微粒子触媒の安定性を向上させるナノゲル担体の設計” 第 47 回化学工学会秋季大会、2015 年 9 月
  28. 澁谷誠、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子、“生体分離のためのグライコモノリスの調製と応用” 第 47 回化学工学会秋季大会、2015 年 9 月
  29. 瀬戸弘一、秋吉孝則、星野友、三浦佳子 “反応場を制御したゲル粒子中のパラジウム触媒” 第 47 回化学工学会秋季大会、2015 年 9 月
  30. 三浦佳子、長尾匡憲、瀬戸弘一、高良正

- 己、星野友、“精密重合を利用した糖鎖高分子の合成とバイオインターフェースの開発”第64回高分子討論会、2015年9月
31. 長尾 匡憲、紅林祐希、瀬戸弘一、田中知成、高橋忠伸、鈴木隆、星野友、三浦佳子、“強いインフルエンザウイルス阻害に向けた糖鎖高分子の合成的設計”平成27年度九州地区高分子若手研究会、2015年9月
32. 秋吉孝則、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子、“Pd微粒子触媒の安定性を向上させるナノゲル担体の作製”平成27年度九州地区高分子若手研究会、2015年9月
33. 松本光、秋吉孝則、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子、“貴金属イオンを回収する多孔質モノリスの開発”平成27年度九州地区高分子若手研究会、2015年9月
34. 王尊弘、園田章太郎、長尾 匡憲、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子、“タンパク質を認識する分子集合体を目指した糖鎖高分子の作製”第18回化学工学会学生発表会、2016年3月
35. 松本光、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子、“パラジウム触媒を担持した多孔質モノリスリアクターの作製”第18回化学工学会学生発表会、2016年3月
36. 松本光、瀬戸弘一、星野友、三浦佳子、“パラジウム触媒担持リアクターを目指した多孔質モノリスの作製と物性評価”化学工学会第81年会、2016年3月
37. M. Nagao, T. Oh, H. Seto, T. Tanaka, t. Takahashi, T. Suzuki, Y. Hoshino, Y. Miura, “Synthesis of Well-Defined Glycopolymer Bearing Oligosaccharide using Post-Click Chemistry”, 7<sup>th</sup> Asian Community of Glycoscience and Glycotechnology, 2015年11月
38. M. Nagao, Y. Kurebayashi, H. Seto, T. Tanaka, T. Takahashi, T. Suzuki, Y. Hoshino, Y. Miura, “Synthesis of Influenza Virus-Recognizing Glycopolymer via RAFT polymerization and Copper Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition, Pacificchem2015, 2015年12月
39. Xinnan Cui, Yuki Koujima, Hirokazu Seto, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, “Inhibition of bacteria adhesion and protein adsorption on hydroxyapatite surface using PEG-Phosmer copolymers” Pacificchem2015, 2015年12月
40. 三浦佳子、“細菌耐性を持つ PEGMA ブラシによる歯界面の修飾とその性質”, 第25回日本MRS年次大会、2015年12月
41. Yoshiko Miura, “Glycopolymer Nanomedicine with Glycosaminoglycan Mimetics”, IUMRS-ICMAT2015, 2015年6月
42. Yoshiko Miura, “Preparation of Glyconanomaterials via RAFT living radical polymerization” ACS national Meeting 2015, 2015年8月
43. Yoshiko Miura, “Syntheses and Function of Glycosaminoglycan Mimic Polymers” Pacificchem2015, 2015年8月
44. 三浦佳子、“生理活性糖と繊維の融合による生体機能材料の開発”繊維学会、2015年7月

〔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：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等  
<http://www.chem-eng.kyushu-u.ac.jp/lab9/>

6. 研究組織  
(1)研究代表者  
三浦佳子 (Miura Yoshiko)  
九州大学大学院工学研究院化学工学部門  
教授

研究者番号：00335069

(2)研究分担者 ( )

研究者番号：

(3)連携研究者 ( )

研究者番号：