

自己評価報告書

平成 23 年 4 月 20 日現在

機関番号：120102

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2008 年度～2012 年度

課題番号：20106011

研究課題名（和文）

高度分子認識を目指した生体分子と合成高分子のなす超構造界面密生層の構築

研究課題名（英文） Construction of High-performance Biointerface by Hybrid of Biomolecules with Synthetic Polymers

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：人間医工学

科研費の分科・細目：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

1. 研究計画の概要

基材表面に生体分子を固定し、目的の相互作用だけを的確に認識させることは必ずしも容易ではなく、様々な工夫がなされているのが現状である。申請者らは、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、DNA や抗体と PEG ブラシを共固定した表面が、非特異吸着を抑制するだけでなく、DNA や抗体の認識能自身を向上させることを見いだした。このように**生体分子と PEG ブラシとを共固定する表面密生層の構築は、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**。本研究では生体分子と PEG の表面密生層の設計・作製・評価を行うだけでなく、バイオ界面のナノエンジニアリング概念を創成してきた。

2. 研究の進捗状況

我々は本研究領域前半で、抗体固定化後の高密度 PEG ブラシを形成させたハイブリッド表面の構築に専念してきた。この過程で①表面への抗体固定化におけるソフトランディング機構を見出し、高配向固定化を可能にした。②オリゴアミン末端 PEG により PEG 化を飛躍的に高効率化した。③ブロックおよびグラフトポリマー固定を比較し、ブロックポリマー固定の優位性を明らかにした。④表面固定抗体の時間依存性を RI ラベル法、表面プラズモン共鳴法および X 線光電子分光法を用いて検討し、PEG による高い表面安定性を確認した。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

本提案の研究は当初に企図したように、表面の作成、解析と機能創出という段階で研究を進めてきており、おおむね予定通り進んでいる。

4. 今後の研究の推進方策

本研究は上述したように、おおむね予定通り研究が進捗している。したがって、23 年度以降の計画も当初方針に従って検討を進めていくこととしているが、表面の解析に関しては当初の目標より進捗が早くなったため、電子スピン共鳴法や活性酸素に注目した表面設計にまで展開を広げる。すなわち、細胞接触界面による細胞の活性化を抑制するため、活性酸素消去を表面に作り込む材料設計を進め、目的にアプローチする。また、特に領域内での異分野研究者との討論により新たな展開があった場合には新しい検討も加えることは排除しない。特に、本申請領域の中心課題の一つであるベタイン骨格の重要性に関しては我々も検討を加えていくこととしている。また、細胞の接着や分離等の検討に関しては我々の表面が役に立つ可能性も少なくない。これらに関しては共同または我々自身が検討を進めたいと考えている。

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 41 件)

1. Kubota Masaki, Yoshimoto Keitaro, Yuan Xiaofei, Nagasaki Yukio :Improvement of the Thermal Stability of Streptavidin Immobilized on Magnetic Beads by the

- Construction of a Mixed-poly(ethylene glycol) Tethered-chain Layer, *Polymer Journal*, in press. (DOI:10.1038/pj.2011.5) 査読有
2. Yoshimoto Keitaro, Nishio Motohiko, Sugasawa Hiroaki, Nagasaki Yukio: Direct Observation of Adsorption-Induced Inactivation of Antibody Fragments Surrounded by Mixed-PEG Layer on a Gold Surface, *Journal of the American Chemical Society*, 132(23).7982-7989.(2010)査読有
 3. Yuan Xiaofei, Fabregat Dolca, Yoshimoto Keitaro, Nagasaki Yukio: Efficient Inhibition of Interfacial Nonspecific Interaction to Create Practically Utilizable High Ferritin-Response Immunolates, *Analytical Chemistry*, 81 10097-10105 (2009).査読有
 4. Yoshimoto Keitaro, Hirase Takumi, Madsen Jeppe, Armes Steven P. and Nagasaki Yukio: Non-Fouling Character of Poly[2-(methacryloyloxy)ethyl Phosphorylcholine] Modified Gold Surfaces Fabricated by the "Grafting to" Method: Comparison of its Protein Resistance with Poly(ethylene glycol) Modified Gold Surfaces. *Macromolecular Rapid Communication*, 30(24),2136-2140 (2009)査読有
 5. Yoshimoto Keitaro, Nozawa Makiko, Matsumoto Shinya, Echigo Takuya, Nemoto Seiko, Hatta Tamao, Nagasaki Yukio: Studies on the Adsorption Property and Structure of Polyamine-Ended Poly(ethylene glycol) Derivatives on a Gold Surface by Surface Plasmon Resonance and Angle-resolved X-ray Photoelectron Spectroscopy. *Langmuir*, 25(20)12243-12249 (2009).査読有
 6. Kojima Ryota, Yoshimoto Keitaro, Miyoshi Hiroto, Nagasaki Yukio: Spheroid Array of Fetal Mouse Liver Cells Constructed on a PEG-gel Micropatterned Surface: Upregulation of Hepatic Functions by Co-Culture with Nonparenchymal Liver Cells. *Lab on a Chip*: 9:1991-1993.(2009).査読有
 7. Yoshimoto Keitaro, Ichino Masahiro, Nagasaki Yukio: Inverted Pattern Formation of Cell Microarrays on Poly(ethylene glycol) (PEG) Gel Patterned Surface and Construction of Hepatocyte Spheroids on Unmodified PEG Gel Microdomains. *Lab on a Chip*: 9: 1286-1289 (2009).査読有
 8. Yuan Xiaofei, Yoshimoto Keitaro, Nagasaki Yukio: High-performance Immunolates Possessing A Mixed-PEG/Antibody Co-immobilized Surface: High Sensitive Ferritin Immunodiagnosics. *Analytical Chemistry*: 81(4),1549-1556(2009).査読有
 9. Yoshimoto Keitaro, Hoshino Yuki, Ishii Takehiko, Nagasaki Yukio: Binding Enhancement of Antigen-Functionalized PEGylated Gold Nanoparticles onto Antibody-Immobilized Surface by Increasing the Functionalized Antigen using α -sulfanyl- ω -amino-PEG. *Chemical Communications*: 5369-5371 (2008).査読有
 10. Yoshimoto Keitaro, Hirase Takumi, Nemoto Seiko, Hatta Tamao, Nagasaki Yukio: Facile Construction of Sulfanyl-terminated Poly(ethylene glycol)-brushed Layer on a Gold Surface for Protein Immobilization by the Combined Use of Sulfanyl-Ended Telechelic and Semi-Telechelic Poly(ethylene glycol)s. *Langmuir* 24: 9623-9629 (2008).査読有
- [学会発表] (計 210 件)
1. Xiaofei Yuan, Dolca Fabregat, Keitaro Yoshimoto, Yukio Nagasaki: Surface engineering of antibody/PEG hybrid for design of high-performance immunolates, IVC-18/ICN+T2010/ICSS-14/VASSCAA-5, Beijing, China. (2010.08.26).
 2. Xiaofei Yuan, Dolca Fabregat, Keitaro Yoshimoto, Yukio Nagasaki: Design of antibody/PEG hybrid biointerface for obtaining high-performance immunolates, Gordon Research Conferences(GRC) -Biointerface Science, Les Diablerets, Switzerland.(2010.09.08)
 3. Nagasaki Yukio: Hybridization of synthetic polymers and biopolymers for creation of high-performance biointerface, NanoEurope2009 Rapperswil, Switzerland (2009.11.25).
- [産業財産権]
- 出願状況 (計 34 件)
1. 名称: 免疫ラテックス粒子及びその製造方法
発明者: 長崎 幸夫, 吉本 敬太郎, 原 暁非, Dolca Fabrigat
権利者: 筑波大学
種類: 特願
番号: 2009-007846
出願年月日: 2009.1.16.
国内外の別: 国内
 2. 名称: 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
発明者: 長崎 幸夫, 原暁非, 吉本敬太郎
権利者: 筑波大学
種類: 特願
番号: 2009-007846
出願年月日: 2009.1.16
国内外の別: 国内