

令和 2 年 4 月 13 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K14000

研究課題名(和文) 海洋生物の翻訳後修飾にヒントを得た高強度水中接着ポリマーの創出

研究課題名(英文) High-strength underwater adhesive inspired by post-translational modification of marine organisms

研究代表者

江島 広貴 (Ejima, Hirotaka)

東京大学・大学院工学系研究科(工学部)・准教授

研究者番号：00724543

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：近年ムール貝の接着タンパク質中に多く含まれるジヒドロキシフェニルアラニンが水中接着剤開発の鍵になるのではないかと大きな注目を集めている。本研究では、フェノール性水酸基の数を系統的に変化させたポリマーを合成し、同一条件下で接着強度を比較することで、水酸基の数と接着強度の相関を調べた。その結果、三つのフェノール性水酸基をもつガロール基が特に優れた水中接着特性を示すことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

外科手術においては臓器、組織の接着や局所の止血、体液の流出防止を必要とする場面が数多く存在する。しかし、現状の手術用接着剤は湿潤組織に対する接着強度が十分ではないという課題が残っている。本研究では海洋生物が水中で接着するメカニズムに学び、高強度の水中接着剤の合成に成功した。この過程で高強度な手術用接着剤を設計するために役に立つ新たな分子設計指針が得られた。

研究成果の概要(英文)：Recently, great attention has been paid to the dihydroxyphenylalanine, which is abundant in mussel's foot proteins, as a key chemical structure to the development of strong underwater adhesives. In this study, we synthesized a series of polymers in which the number of phenolic hydroxyl groups was systematically varied. The correlation between the number of hydroxyl groups and the underwater bonding strength was evaluated using these polymers. As a result, it was revealed that a gallol group having three phenolic hydroxyl groups is a promising building block for strong underwater adhesives.

研究分野：高分子材料

キーワード：水中接着

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

通常の接着剤は水中で接着強度が低下する。これは、被着体表面を覆う水分子が接着阻害層として働くからである。一方で生物はこの難しい水中接着を巧みにやっている。近年ムール貝の接着タンパク質中に多く含まれるジヒドロキシフェニルアラニン (DOPA) が高強度水中接着剤を開発するための分子設計において鍵になるのではないかと注目を集めている。この DOPA の側鎖はフェノールに一つ水酸基が付加したカテコール基 (図 1 左下) である。カテコール基を側鎖にもつ高分子が合成され、高い水中接着能を示すことが明らかとなってきた。しかし、フェノール性水酸基を2つもつカテコール基が本当に水中接着剤として最適な官能基なのだろうか？同じく海水中の岩に固着して生息するホヤはフェノール性水酸基を3つもつトリヒドロキシフェニルアラニン (TOPA) を生合成することが知られている (図 1 右下)。

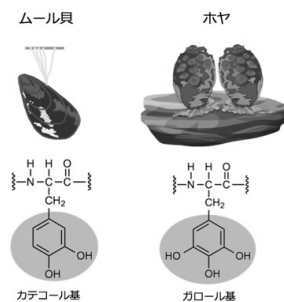


図 1 海洋生物であるムール貝とホヤが合成する翻訳後修飾されたアミノ酸。左が DOPA, 右が TOPA.

2. 研究の目的

そこで本研究では、フェノール性水酸基の数を系統的に変化させたポリマー (図 2) を合成し、同一条件下で接着強度を比較することで、水酸基の数と接着強度の相関を明らかにすることを目的とした。併せて、他のモノマーと共重合体化させることでガラス転移温度などの物性を調整し、水中での高い接着強度を発現する配合を決定した。

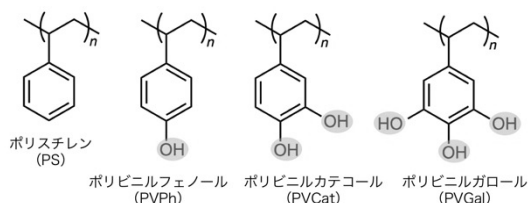


図 2 フェノール性水酸基の数を系統的に変化させたポリマーの化学構造。

3. 研究の方法

フェノール性官能基はラジカル捕捉能があるため、ラジカル重合する際は保護しておく必要がある。筆者らが 2016 年に報告した RAFT 重合を用いる PVGal の合成 (*ACS Sustainable Chem. Eng.*, 2016, 4, 3857-3863) ではメトキシ基を保護基として用いたが、脱保護には三臭化ホウ素が必要であった。三臭化ホウ素は強いルイス酸であるため、エーテル結合やエステル結合を切断してしまい、モノマーの選択が大きく制限されてしまうという問題があった。そこで、図 3 に示したように、より温和な条件で脱保護可能なメトキシメチル基 (MOM 基) を用いる新たな合成ルートを立案し、PVGal とアクリル系モノマーの共重合体合成ルートを確立した。

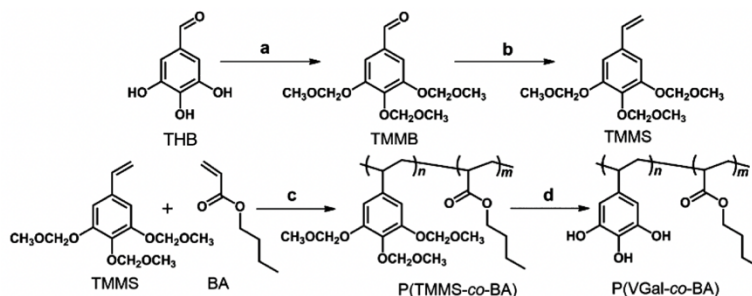


図 3 ポリビニルガロール (PVGal) 共重合体の合成ルート。

窒素雰囲気下、5.0 g (32.5 mmol) の 3,4,5-trihydroxybenzaldehyde (THB) を、45.0 g (325 mmol) の炭酸カリウムを分散させた 300 mL のアセトンに加えた。反応液を 10 °C に冷却し、クロロメチルメチルエーテル 15.2 g (195 mmol) を加え、一晚還流した。固形物はろ過で除き、ロータリーエバポレーターで濃縮した。酢酸エチルで 3 回抽出を繰り返し、硫酸マグネシウム粉末を用いて有機層を乾燥した。シリカカラムクロマトグラフィー (ヘキサン: 酢酸エチル = 2:1) で精製することで無色透明の液体、3,4,5-tris(methoxymethoxy)benzaldehyde (TMMB) を得た。収率は 65% であった (図 3a)。

図 3b のステップでは、TMMB のケトンをビニル基に変換した。100 mL テトラヒドロフラン中に 7.0 g (19.2 mmol) のメチルトリフェニルホスホニウムブロミドを分散させ、ここに窒素雰囲気下 0 °C で 12 mL (19.2 mmol) の *n*-butyllithium (1.6 M ヘキサン溶液) を加えた。反応溶液を室温まで温めた後、4.0 g (14.2 mmol) の TMMB をフラスコに加え、45 °C で一晚攪拌した。反応溶液を 10 mL の蒸留水に注ぎ、ジエチルエーテルで抽出し、硫酸マグネシウム粉末を用いて乾燥した。シリカカラムクロマトグラフィー (ヘキサン: 酢酸エチル = 2:1) で精製することで白色固体、3,4,5-tris(methoxymethoxy)styrene (TMMS) を得た。収率は 64% であった。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): (δ, ppm) 6.90 (s, 2H), 6.62 (dd, 1H, *J* = 17.5 Hz, *J* = 10.8 Hz), 5.66 (dd, 1H, *J* = 17.5 Hz, *J* = 0.8 Hz), 5.21 (dd, 1H, *J* = 10.8 Hz, *J* = 0.8 Hz), 5.20 (s, 4H), 5.12 (s, 2H), 3.60 (s, 3H), 3.50 (s, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): (δ, ppm) 151.2, 136.5, 136.4, 134.0, 113.8, 108.4, 98.7, 95.4, 57.2, 56.3. FAB-MS: calcd, 284.1; found, 284.1.

図 3c のステップでは、TMMS とブチルアクリレート (BA) を共重合化した。シュレンク管に 1.0 g (3.5 mmol) の TMMS, 1.8 g (14 mmol) の BA, 28.7 mg (0.18 mmol) のアズビスイソブチ

ロニトリル, 10 mL のテトラヒドロフランを入れた後, 凍結脱気を繰り返し, 最後に窒素を充填した. 反応溶液を 60 °C に加温し, 一晚攪拌した. 反応溶液を 0 °C に冷却した後, ヘキサンを加えることで白色固体 P(TMMS-co-BA) が沈殿した. 減圧乾燥し, 重量を計ったところ, 収率は 74% であった. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): (δ, ppm) 6.58–6.23 (2H, Ar-H), 5.28–4.96 (6H, O-CH₂-O), 4.11–3.70 (4H, COO-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 3.62–3.34 (9H, O-CH₃), 2.47–2.06 (2H, CH₂-COO-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 2.06–1.06 (aliphatic region), 1.00–0.70 (3H, COO-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃).

図 3d のステップで MOM 基を脱保護することで, P(VGal-co-BA) を得た. 100 mL ナスフラスコ中に 1.0 g の P(TMMS-co-BA) と 30 mL の *n*-ブタノールを入れ窒素雰囲気下, 1 時間攪拌した. ここに 18 vol% HCl/*n*-ブタノール溶液を滴下し, 一晚攪拌した. 反応溶液を 200 mL のヘキサンに注ぎ, 生じた沈殿を遠心分離によって回収した. この沈殿をテトラヒドロフランに溶かし, 再度ヘキサンへ注ぐことで再沈殿した (収率 60%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (δ, ppm): 8.70–7.67 (OH), 6.01–5.75 (2H, Ar-H), 4.11–3.70 (4H, COO-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 2.47–2.06 (2H, CH₂-COO-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 2.06–1.06 (aliphatic region), 1.00–0.70 (3H, COO-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃).

同様の合成ルートで出発物質を変更することで PVCat, PVPh の共重合体も合成した. 得られたポリマー 6 mg を用いて, 2 枚のアルミニウム基板 (5 cm × 1 cm) を水中で貼り合わせた (接着面積 1 cm²). ここに 20 g の重りをのせ, 所定時間水中で静置した. 水中から取り出してすぐに引張剪断試験を行い, 破断した時の応力を接着強度とした.

4. 研究成果

P(VGal-co-BA) の接着強度は 6 日後に最大値に達し, その値は 1.0 ± 0.3 MPa であった (図 4a). この値は側鎖にカテコール基をもつ P(VCat-co-BA) の同一条件下における接着強度と比べて約 10 倍大きかった. また, 接着強度はポリマーの共重合組成に大きく依存した. 接着性に有効なフェノール性モノマーを増やすと接着強度は上がる一方, ポリマーが硬質下し粘着性が低下するというトレードオフ要因から, 約 30% のガロール基を含む共重合体で接着強度は最大値を示した (図 4b). 特に P(VGal_{26%}-co-BA_{74%}) が海水中で 1.3 ± 0.4 MPa (図 4c), PBS 中で 1.4 ± 0.2 MPa (図 4d) という高い接着強度を示した. 約 20, 30, 40 mol% のフェノール性モノマーを含む共重合比全てにおいて, 接着強度は P(VGal-co-BA) > P(VCat-co-BA) > P(VPh-co-BA) ≒ P(St-co-BA) であった.

破断跡を観察すると主に凝集破壊であったため, バルク材料の力学特性を調べた. 図 5 は P(VGal_{16%}-co-BA_{84%}) と P(VCat_{19%}-co-BA_{81%}) のフィルム の応力-ひずみ曲線である. P(VCat_{19%}-co-BA_{81%}) は粘性の高いポリマーで, 2000% 伸長しても破断しなかった. 一方で, P(VGal_{16%}-co-BA_{84%}) はより弾性が高く (ヤング率 1.4 ± 0.2 MPa), 高い靱性を示した (17.6 ± 6.5 MJ m⁻³). これはガロール基がカテコール基よりも多くの水素結合を形成したことが原因と考えられる. またこの力学特性は水に長時間浸漬してもほとんど変化しなかった.

アルミニウム基板だけでなく, ガラス, polyvinyl chloride (PVC), polytetrafluoroethylene (PTFE), 豚皮を用いて同様の接着試験を行った. 一般的に金属材料は表面エネルギーが高く, ポリマー材料は表面エネルギーが低いため, 特に平滑なポリマー基板は金属材料よりも接着し難い. PVC, PTFE では接着破壊が主に観察され, 接着強度は約 0.1–0.2 MPa 程度であった. *Mytilus edulis* の PTFE に対する接着強度もガラス基板と比べると 1/20 程度であることが知られている (D. J. Crisp et al., *J. Colloid Interface Sci.*, **1985**, 104, 40–50). これらの結果は水中でプラスチック材料を強固に接着させるにはいまだ新たな接着界面の設計が必要であることを示している. リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 中での豚皮の接着強度は 60 kPa であった. これはヒトの正常血圧よりも十分高く, 今後の改良次第では有望な生体組織接着剤となることが期待できる.

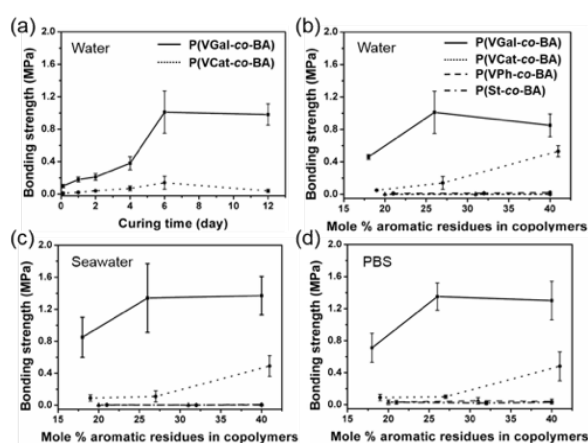


図 4 (a)硬化時間が接着強度に及ぼす影響. (b) 水中, (c)海水中, (d) PBS 中においてフェノール性官能基のモル分率が接着強度に及ぼす影響.

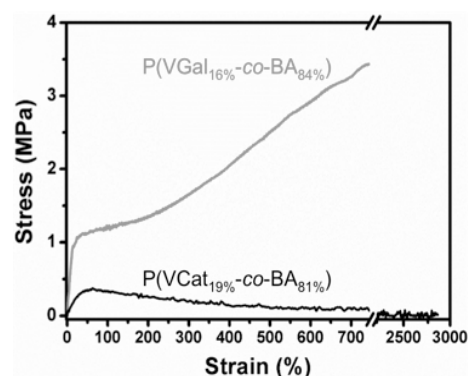


図 5 P(VGal_{16%}-co-BA_{84%}) と P(VCat_{19%}-co-BA_{81%}) の応力-ひずみ曲線.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Joseph J. Richardson, Blaise L. Tardy, Junling Guo, Kang Liang, Orlando J. Rojas, Hirotaka Ejima	4. 巻 7
2. 論文標題 Continuous metal-organic framework biomineralization on cellulose nanocrystals: extrusion of functional composite filaments	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Sustainable Chemistry and Engineering	6. 最初と最後の頁 6287-6284
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acssuschemeng.8b06713	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 該当する

1. 著者名 Bohan Cheng, Kazuhiko Ishihara, Hirotaka Ejima	4. 巻 11
2. 論文標題 Bio-inspired immobilization of low-fouling phospholipid polymers via a simple dipping process: a comparative study of phenol, catechol and gallol as tethering groups	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Polymer Chemistry	6. 最初と最後の頁 249-253
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/c9py00625g	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 Jinhong Yu, Bohan Cheng, Hirotaka Ejima	4. 巻 -
2. 論文標題 Effect of molecular weight and polymer composition on gallol- functionalized underwater adhesive	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Materials Chemistry B	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） 10.1039/D0TB00706D	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Bohan Cheng, Kazuhiko Ishihara, Hirotaka Ejima
2. 発表標題 One-step surface zwitterionization by bio-inspired polyphenolic coating
3. 学会等名 4th International Conference on Bioinspired and Zwitterionic Materials
4. 発表年 2019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
--	---------------------------	-----------------------	----