

平成 21 年 6 月 2 日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19360358
 研究課題名（和文） 人工細胞集積型・次世代マイクロリアクタ・システムの構築
 研究課題名（英文） Development of novel micro-reactor systems having synthetic-cell assembly
 研究代表者
 山口 猛央（YAMAGUCHI TAKEO）
 東京工業大学・資源化学研究所・教授
 研究者番号：30272363

研究成果の概要：本研究では、環境応答型マイクロカプセルの開発を行った。マイクロカプセルのシェル部分に環境応答ポリマーをグラフト重合させ、コア部分に酵素を導入することで、人工細胞に見立てたマイクロカプセルを作成した。さらに、逐次的な反応系を持つ複数のマイクロカプセルの連携により、従来型反応器では困難なノイズキャンセリングが実現できることを、数値シミュレーションを用いて証明した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	7,500,000	2,250,000	9,750,000
2008年度	6,800,000	2,040,000	8,840,000
年度			
年度			
年度			
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：プロセス工学・反応工学・プロセスシステム

キーワード：マイクロリアクタ、人工細胞、協調システム、集積システム、グラフト重合、pH・分子認識ゲート、ノイズキャンセリング、酵素反応、

1. 研究開始当初の背景

材料に益々高い機能が求められる現在において、従来の材料開発手法は限界に達しつつあり、これに替わる新しい開発手法が望まれている。本研究グループにおいてはその一つの候補として、生体の高機能を人工的に再構成する方法論を開発している。これは生体をシステムと捉え、材料に役割分担をさせることで生体システムの機能を再構築する手法である。現在までに、自律代謝型組織や分子認識による自律的なリズムの発現など、高機能を持つ材料の開発に成功しており、この手法は極めて有望な手法であると言える。

本研究では、特に生体内の細胞の機能に着目した。細胞は、細胞間の分子シグナルのやり取り、すなわち協調現象を介して、組織全体としての機能の調節を行っている。この高機能を系統的に再構築することは、工学的観点から見て非常に有用なものであると考えられる。

2. 研究の目的

以上の背景から、本研究においては人工細胞としての環境応答型マイクロカプセルの開発を行うことを目的とした。また複数のマイクロカプセルの分子シグナルを介した協

調により、従来の人工的な材料では実現の難しい高機能の発現を目指した。

3. 研究の方法

(1) 環境応答型マイクロカプセルの開発においては、マイクロカプセルのコア部分に酵素を封入し、シェル部分に分子シグナルに応答して膨潤収縮するポリマーをグラフト重合した。酵素を活性を保ったままコア部分に封入する手法の開発を行い、またグラフト重合にはプラズマグラフト重合法を用いた。

(2) 複数のマイクロカプセルの分子シグナルを介した協調作用の解析を、数値シミュレーションを用いて行った。シミュレーションに用いるパラメータとして、各マイクロカプセルから実験値として得られた値を用いることで計算の信頼性を十分に高めている。

4. 研究成果

(1) マイクロカプセルのシェル部分に感温性高分子とアクリル酸の共重合ポリマーをグラフト重合し、コア部分にグルコースオキシダーゼ(GOD)を封入することで、外部のpHの変化に応答してグルコースの反応量を変化させる環境応答型マイクロカプセルの開発に成功した。

pH4.0と5.0で反応性に3倍の差が出ていることを確認しており、この差は酵素活性のpH依存性よりもずっと大きいことを確認した。また反応性の差が、グルコース(GODの基質)のシェル部分における拡散性の差に起因することを確認した。

このマイクロカプセルの作成時には、先にGODを封入してからプラズマを照射する過程を採っているが、本研究ではプラズマ照射によるGODの失活は問題にならないことも確認しており、プラズマグラフト重合が、マイクロカプセルのシェル形成手法として有用なことを示している。

(2) マイクロカプセルのシェル部分に感温性高分子とクラウンエーテルの共重合ポリマーをグラフト重合し、コア部分にグルコamilラーゼ(GLA)を封入することで、外部のK⁺濃度に応答してグルコースの生成量を変化させる環境応答型マイクロカプセルの開発に成功した。

K⁺イオン存在下と非存在下で、グルコースの生成量に2倍の差が出ていることを確認しており、これがデンプン(GLAの基質)のシェル部分における拡散性の差に起因することを、平膜を用いて確認した。

(1)のマイクロカプセルとは逆に、このマイクロカプセルの作成時には先にシェル部分を形成してからGLAを封入する手順を採る。この場合、GLAをトランスグルタミナ

ーゼによって架橋することで、活性を損なうことなくマイクロカプセルからのGLA溶出を防げることも確認している。

また平膜の作製を通して(4)のシミュレーションで用いるパラメータ(基質拡散性のpH依存性)のデータを取得した。

(3) 感温性高分子とボロン酸の共重合ポリマーを平膜にグラフト重合することで、外部のグルコースを分子シグナルとして、物質透過性を制御できる膜の開発に成功した。グルコース存在下と非存在下で透過性に2倍の差が出ることを確認した。

以上の(1)~(3)を通して、グルコースをそれぞれ原料・生成物・分子シグナルとして利用する材料の開発に成功した。

(4) 生体内ではグルコースの血中濃度(血糖値)がある一定の範囲を超えないように、インシュリンの分泌を通して、巧みに血糖値のコントロールを行っている。このノイズキャンセリングとも呼ぶべき機能を、本研究で開発した複数の環境応答型マイクロカプセルを連携させることで実現できることを、数値シミュレーションを用いて示した。各マイクロカプセルや平膜の実験からシミュレーションに用いるパラメータを算出しており、本シミュレーションの信頼性は十分に高められている。

(2)と(1)のマイクロカプセルを繰り返し積層させた構造は、(2)層により生産されたグルコースが(1)層で反応する際にH⁺を生産し、次の(2)層の反応性を制御する、という複雑な過程を通して生体類似のノイズキャンセリング機能が発現することをシミュレーション解析により示し、本機能が発現する条件の検討を行った。

(5) 以上は、細胞→組織という生体の階層機能をシステム的に再構築するという方法論から見ても、また発現された高次のノイズキャンセリングの機能面から見ても、世界で例を見ない新規で有効性の高い研究成果であるといえる。

本システム自身は、(3)の機能をシェル層に保持したマイクロカプセルを開発し、本システムに組み合わせることで拡張が可能であり、さらに複雑な生体類似の高次機能を獲得できる可能性も高い。例えば、分子生産を促進する自触媒的要素と、分子生産を抑制するフィードバック要素を組み合わせることで、自律的に且つリズミカルに薬剤放出量をコントロールする機能を発現すれば、代謝にあわせた自律的な投薬などが可能となり、ドラッグデリバリーの研究分野に与える影響は大きいと目される。また、本研究グループの先行研究の成功も併せて考えると、我々

のストラテジーを通して獲得される高機能は非常に多岐にわたると考えられ、材料設計の観点からも有用な方法論を提案しているものと自負している。

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 6 件)

① Hidenori Ohashi, Taichi Ito, Takeo Yamaguchi, “A New Free Volume Theory Based on Microscopic Concept of Molecular Collisions for Penetrant Self-diffusivity in Polymers”, *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 42, 86-96, 2009, 査読有

② Nobuo Hara, Ohashi Hidenori, Taichi Ito, Takeo Yamaguchi, “Reverse Response of an Ion-recognition Polyampholyte to Specific Ion Signals at Different pHs”, *Macromolecules*, 42 (4), 980-986, 2008, 査読有

③ Naoko Miyaoi, Hidenori Ohashi, Taichi Ito, Takeo Yamaguchi, “An Analysis of Pore Size Using a Straight-Pore Molecular Recognition Ion Gating Membrane”, *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 41, 766-770, 2008, 査読有

④ Kazuki Akamatsu, Takeo Yamaguchi, “A novel preparation method for obtaining pH-responsive core-shell microcapsule reactors”, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 46, 124-130, 2007, 査読有

⑤ Kazuki Akamatsu, Taichi Ito, Takeo Yamaguchi, “Development of Microcapsule Reactors with Ion-Responsive Membranes Having Crownether Receptors”, *J Chem. Eng. Japan*, 40, 590-597, 2007 査読有

⑥ Taichi Ito, Takeo Yamaguchi, “Generation of Osmotic Pressure through a Molecular Recognition Ion Gating Membrane”, *Trans. Material Res. Soc. Japan*, 32, 455-458, 2007 査読有

[学会発表] (計 33 件)

① 大橋 秀伯・伊藤 大知・山口 猛央, 「高分子中の分子拡散性を予測するマイクロ自由体積モデルにおけるパラメータシステム検討」, 化学工学会 第74年会, 2009年3月18日-20日, 横浜国立大学

② 黒木 秀記・大橋 秀伯・伊藤 大知・山口 猛央, 「架橋ゲート膜型バイオセンサー開発における細孔内構造制御」, 化学工学会 第74年会, 2009年3月18日-20日, 横浜国立大学

③ 大橋 秀伯・伊藤 大知・山口 猛央, 「ミクロな自由体積理論を用いた高分子中の分子拡散性予測: 種々の高分子系への応用」, 高分子材料開発のための俯瞰的シンポジウム 2009, 2009年1月13日-14日, 京都大学桂キャンパス

④ 大橋 秀伯・伊藤 大知・山口 猛央, 「高分子中の分子拡散性を予測する新しいマイクロモデルの構築」, ポストシリコン物質・デバイス創製基盤技術アライアンス平成20年度成果報告会, 2008年12月25日-26日, 北海道大学

⑤ 大橋 秀伯・伊藤 大知・山口 猛央, 「分子認識イオンゲート膜の創製とデバイス応用」, ポストシリコン物質・デバイス創製基盤技術アライアンス平成20年度成果報告会, 2008年12月25日-26日, 北海道大学

⑥ Hidenori Kuroki, Hidenori Ohashi, Taichi Ito, Takeo Yamaguchi, “Development of Novel Bioresponsive Gating System using Biorecognition Crosslinker”, *International Symposium on Engineering Micro-/Nano-Materials based on Self-Assembling and Self-Organization, ISEM2008 Returns*, December 8-10, 2008, The National Museum of Emerging Science and Innovation (Miraikan), Japan

⑦ 伊藤 大知・大橋 秀伯・山口 猛央, 「Nonlinear Self-Excited Oscillation of a Synthetic Ion Channel-Inspired Membrane」, 膜シンポジウム 2008, 2008年11月14日-15日, 大阪大学豊中キャンパス

⑧ 大橋 秀伯・伊藤 大知・山口 猛央, 「ミクロな自由体積理論を用いた高分子中の分子拡散性予測: 気体・溶媒から溶質分子まで」, 膜シンポジウム 2008, 2008年11月14日-15日, 大阪大学豊中キャンパス

⑨ Takeo Yamaguchi, “Micro pore filling membranes and their unique performances ~from Bio-inspired materials to polymer electrolyte fuel cells~”, *California Institute of Technology (Invited Lecture)*, November 12, 2008, California Institute of Technology, USA

⑩ Takeo Yamaguchi, “ Pore filling membranes and their unique performances ~from polymer electrolyte fuel cells to bio-inspired materials ~ ” , 8th Japan-Korea Symposium on Materials & Interfaces -International Symposium on Frontiers in Chemical Engineering- (Keynote Lecture), November 5, 2008 ,Sapporo

⑪ Taichi Ito, Hidenori Ohashi, Takeo Yamaguchi, “ Nonlinear Self-Excited Oscillation of a Synthetic Ion Channel-Inspired Membrane ” , 日韓高分子若手シンポジウム発表(JAPAN-KOREA Polymer Young Scientist Symposium), October 23-25, 2008, Niigata

⑫ Hidenori Ohashi, Taichi Ito, Takeo Yamaguchi, “ Development of A Novel Microscopic Free Volume Theory for Self-Diffusivity Prediction in Polymer Matrices ” , 日韓高分子若手シンポジウム発表(JAPAN-KOREA Polymer Young Scientist Symposium), October 23-25, 2008, Niigata

⑬ 黒木 秀記・大橋 秀伯・伊藤 大知・山口 猛 央, 「生体分子認識ゲート膜における細孔内グラフトポリマーのナノ構造制御」, 第 57 回 高分子討論会, 2008 年 9 月 24 日-26 日, 大阪市立大学 杉本キャンパス

⑭ Hidenori Ohashi, Taichi Ito, Takeo Yamaguchi, “ Bio-Inspired Material Development according to the Notion of “Material System” and Prediction Tool of Molecular Diffusivity in Polymeric Systems for Material Design ” , Second International Conference on Polymer blends, Composites, IPNS, Membranes, Polyelectrolytes and Gels: Macro to Nano Scales (Invited Lecture), September 22-24, 2008, India

⑮ Hidenori Ohashi, Taichi Ito, Takeo Yamaguchi, “ Bio-Inspired Material Development according to the Notion of “Material System” and Prediction Tool of Molecular Diffusivity in Polymeric Systems for Material Design ” , National Institute for Interdisciplinary Science & Technology (Invited Lecture), September 19, 2008, National Institute for Interdisciplinary Science & Technology, India

⑯ 黒木 秀記・大橋 秀伯・伊藤 大知・山口 猛

央, 「生体分子認識ゲート膜を用いたバイオセンサー開発におけるナノ細孔構造制御」, 化学工学会関東支部大会新潟大会 2008, 2008 年 8 月 21 日-22 日, 新潟大学

⑰ Hidenori Ohashi, Taichi Ito, Takeo Yamaguchi, “Development of a Microscopic Free Volume Theory for Molecular Self-Diffusivity Prediction in Polymeric Systems ” , International Congress on Membranes and Membrane Process 2008, July 12-18, 2008, Sheraton Waikiki Hotel, Honolulu, Hawaii, USA

⑱ Hidenori Kuroki, Taichi Ito, Takeo Yamaguchi, “ Development of Nobel Biomolecule-Responsive Gating System using Biomolecular Recognition Gating Membrane ” , International Congress on Membranes and Membrane Process 2008, July 12-18, 2008, Sheraton Waikiki Hotel, Honolulu, Hawaii, USA

⑲ Taichi Ito, Takeo Yamaguchi, “Fixed-Charge Group-Like Behavior of the Captured Ion by Crown Ether and Its Effect on the Response of a Molecular Recognition Ion Gating Membrane ” , International Congress on Membranes and Membrane Process 2008, July 12-18, 2008, Sheraton Waikiki Hotel, Honolulu, Hawaii, USA

⑳ Takeo Yamaguchi, “Micro Pore Filling Membranes and Their Unique Performances ~From Bio-inspired Materials to Polymer Electrolyte Fuel Cells~ ” , 5th International Conference Interfaces Against Pollution 2008 (Keynote Lecture), June 1-4, 2008, Kyoto University

21 黒木 秀記・伊藤 大知・山口 猛 央, 「生体分子応答ゲート膜におけるナノ細孔構造制御」, 日本膜学会第 30 回年会, 2008 年 5 月 15 日-16 日, 東京理科大学 森戸記念館

22 伊藤大知・山口 猛 央, 「分子認識イオンゲート膜の有機溶媒水溶液中での応答挙動」, 化学工学会第 73 年会, 2008 年 3 月 17 日-19 日, 静岡

23 黒木秀記・伊藤大知・山口 猛 央, 「浸透圧出力型生体分子認識ゲート膜における細孔内ナノ構造制御」, 化学工学会第 73 年会, 2008 年 3 月 17 日-19 日, 静岡

24 鶴見信幸・伊藤大知・平川秀彦・山口哲志・長棟輝行・山口 猛 央, 「分子認識ポリマ

ーを用いた人工アロステリック酵素の開発」, 化学工学会第73年会, 2008年3月17日-19日, 静岡

25○黒木秀記・伊藤大知・山口猛央, 「生体分子認識ゲート膜を用いた新規ゲート型生体分子応答システムの開発」, 第18回日本MRS学術シンポジウム, 2007年12月9日, 東京

26○山口猛央, 「招待講演」 「細孔中における分子機能の協調 ～生体システム発想膜から燃料電池まで～」, 第18回日本MRS学術シンポジウム, 2007年12月8日, 東京

27○山口猛央, 「招待講演」 「多孔基材細孔中ファイリングポリマーの物性と応用 ～燃料電池から生体機能膜模倣まで～」, 日本油化学会オレオナノサイエンス部会シンポジウム, 2007年11月19日, 東京,

28○黒木秀記・伊藤大知・山口猛央, 「生体分子応答浸透圧ジェネレーションシステムを志向したナノ細孔ゲート膜の開発」, 第56回高分子討論会, 2007年9月19日-21日, 名古屋

29○鶴見信幸・伊藤大知・山口哲志・長宗輝行・山口猛央, 「イオン認識性ポリマーを用いた人工アロステリック酵素の開発」, 第56回高分子討論会, 2007年9月19日-21日, 名古屋

30○山口猛央, 「展望講演」 「生体システムから発想した機能性ゲル・システムの構築と応用」, 化学工学会秋季大会, 2007年9月13-15日, 北海道

31○荻野佑美・大橋秀伯・伊藤大知・山口猛央, 「イオン認識ゲート膜の浸透圧応答イオン逆転現象」, 化学工学会秋季大会, 2007年9月13-15日, 北海道

32○Kazuki Akamatsu, Taichi Ito, Takeo Yamaguchi, "Preparation of enzyme-enclosed microcapsule reactors in response to specific ion signal", The 4th Conference of Aseanian Membrane Society, August 16-18, 2007, Taipei

33○Yumi Ogino, Hidenori Ohashi, Taichi Ito, Takeo Yamaguchi, 「プラズマグラフト重合法による円筒状細孔を有する多孔膜への機能付加 (Functionalization of porous membrane having cylindrical pores by plasma-graft polymerization)」, 24th Conference of Photopolymer Science and

Technology, 2007年6月28日, 千葉

〔図書〕(計 1 件)

①伊藤大知、山口猛央, サイエンス&テクノロジー, 多孔体の精密制御と機能・物性評価 「多孔体へのプラズマグラフト重合を用いたバイオ材料システムの開発」, 2008, 461-468,

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山口 猛央 (YAMAGUCHI TAKEO)
東京工業大学・資源化学研究所・教授
研究者番号: 30272363

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし