

## 自己評価報告書

平成23年 5月11日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2008～2011

課題番号：20246109

研究課題名(和文) 物理化学的プロテオミクスによるたんぱく不活性表面の構築

研究課題名(英文) Fabrication of passive surface to protein by physicochemical proteomics approach

研究代表者

高井 治 (TAKAI OSAMU)

名古屋大学・工学研究科・教授

研究者番号：40110712

研究分野：表面プラズマ科学

科研費の分科・細目：材料工学・材料加工・処理

キーワード：ナノバイオ、たんぱく質

## 1. 研究計画の概要

医療機器への生体物質の付着・吸着は、材料の機能性を著しく低下させるばかりでなく、ときに患者の生命を危険にさらす場合がある。したがって医療機器の開発においては、何処に「汚れ」の付着しない表面を構築するかが重要となる。本研究では、この生体由来の「汚れ」としてたんぱく質に着目し、たんぱく質の吸着反応に対し、不活性な表面の構築を目指す。この目的を達成するために、我々は(1)様々なたんぱく質の合成を行い、得られたたんぱく質のアミノ酸配列と物理化学的特性(ゼータ電位、会合係数、水への溶解度、吸着平衡定数など)との相関関係を明らかにする。これにより、たんぱく質の一次構造からその特性を予測できるようになる。さらに(2) (1)で得られた構造-物性相関マップを利用し、たんぱく質不活性表面の構築を行う。ここでは、材料表面の表面自由エネルギーの効果と表面形状の効果を検討する。本研究によりたんぱく質吸着の原理原則を解明し、普遍的な生体物質不活性表面の構築を実現する。

## 2. 研究の進捗状況

固体表面へのたんぱく質の吸着状態は、溶液中の pH、固体表面の誘電率や電荷等の物理化学的因子によるたんぱく質のコンフォメーション変化に応じて異なる。たんぱく質の構成要素であるアミノ酸の種類や配列は、材料表面へのたんぱく質の吸着状態に大きな影響を与える。そのため、材料表面とたんぱく質の物理化学的性質の関係を調査し、アミノ酸の種類や配列の異なるたんぱく質の材料表面への吸着状態を明らかにすることが重要となる。本研究では、これまでにたん

ぱく質のモデル化合物としてペプチド合成装置を用いて、ライブラリを構築するために配列の異なる合成ペプチドを作成した。合成したペプチドを用いて、その場観察による固体表面へのペプチドの吸着挙動を表面プラズモン共鳴分光法(SPR)や水晶振動子マイクロバランス法(QCM-D)を用いて測定し、データの相関性について解析を進めた。またたんぱく質不活性表面の構築を行うために、材料表面の表面エネルギーの効果と基板の表面形状の検討を行った。本研究ではこの表面形状の影響を検討するために、フラクタル形状・ナノインプリントリソグラフィ法の開発を進めた。まず、マイクロ波 CVD 法により作製したフラクタル(次元 1.5 程度)ナノ凹凸表面を作製し、Ni 電鍍法により金型作製を行った。Ni 電鍍時にも剥離することがないプロセスを確立した。

## 3. 現在までの達成度

やや遅れている。合成ペプチドを用いた構造-物性相関マップの作成には多くのデータが必要であるため、詳細なデータベース作成のために時間を要している。

## 4. 今後の研究の推進方策

## (1) 低分子量ペプチドの合成

引き続きペプチド合成装置に用いて、様々なアミノ酸配列を有する低分子量ペプチドの合成を行い、ペプチド・たんぱく質のライブラリを作製する。

## (2) ペプチドの物理化学的諸量計測技術の確立

ペプチドの水和状態、液中分散状態、吸着に伴う構造変化など、吸着平衡定数等の計測技術の確立を行い、物理化学的因子を計測す

る手法の確立を行う。

(3) たんぱく質のアミノ酸配列と物理化学的因子の多変数因子解析

(2) の計測法によって物理化学的因子および構造因子を計測し、これらのデータを多変数因子として解析を行い、既知のたんぱく質に対し解析結果が妥当であるかを検証する。

(4) たんぱく質不活性表面の構築

(2), (1) で得られたたんぱく質の特性に関する基礎的な知見と作成した様々な表面で、たんぱく質不活性表面の構築を行う。

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 10 件)

[1] T. Ishizaki, N. Saito, O. Takai, “Correlation of Cell Adhesive Behaviors on Superhydrophobic, Superhydrophilic, and Micropatterned Superhydrophobic/Superhydrophilic Surfaces to Their Surface Chemistry”, *Langmuir*, **26**, 8147 (2010). 査読有り

[2] S. H. lee, N. Saito, O. Takai, “Self-Assembly of Human Plasma Fibrinogens on Binary Organosilane Monolayers with Micro domains”, *Appl. Sur. Sci.*, **255**, 7912 (2009). 査読有り

[3] Y. Miyahara, K. Mitamura, N. Saito, O. Takai, “Fabrication of microtemplates for the control of bacterial immobilization”, *Journal of Vacuum Science & Technology A*, **27**, 1183 (2009). 査読有り

〔学会発表〕 (計 12 件)

[1] 渡会冬樹, 金 淑眞, 稗田純子, 齋藤永宏, 高井 治, “親水・疎水性表面へのペプチドの吸着挙動”, 応用物理学会, (2010 年 3 月 17 日), 東海大学, 神奈川.

[2] F. Watarai, N. Saito, O. Takai, “Effect of Amino Acid Sequence on Peptide Adsorption at a Solid Surface”, 9th Academic Symposium of MRS-Japan 2009, (2009.12.09). Yokohama, Japan.

[3] H. Tatematsu, T. Fujima, T. Ishizaki, N. Saito, O. Takai, “Effect of Amino Acid Sequence on Peptide Adsorption at a Solid Surface”, 9th Academic Symposium of MRS-Japan 2009 (2009.12.09), Yokohama, Japan.

[4] N. Saito, J. Hieda, O. Takai: “Chemical Dynamics of Protein Adsorption and Desorption on Regulated Surfaces in Aqueous Solutions”

Spring 2009 National Meeting & Exposition. (2009.03.22). Salt Lake City, USA.

〔図書〕 (計 2 件)

[1] T. Ishizaki, K. Teshima, S.H. Lee, Y. Masuda, N. Saito, O. Takai, “Biomimetic Nanotechnology : Biomimetic and Bioinspired Nanomaterials”, Wiley, 303 -341 (2010).

[2] 石崎貴裕, 齋藤永宏, 高井 治, “撥水・撥油の技術と材料” 株式会社シーエムシー出版. 311 (2008)