

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月 10日現在

機関番号：13903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23760715

研究課題名（和文）ソフトマテリアル界面の分子モデリングと水処理プロセスへの応用

研究課題名（英文）Molecular modeling for interfaces of soft materials for its application to water treatment processes

研究代表者

南雲 亮 (NAGUMO RYO)

名古屋工業大学・工学研究科・助教

研究者番号：20552003

研究成果の概要（和文）：ソフトマテリアル界面と生体分子の親和性を評価するため、両者に働く相互作用エネルギーを計算化学的なアプローチによって予測した。主な検討対象には両性イオン性や非イオン性の生体適合性マテリアルを選定し、生体分子がマテリアル界面に接近する際のマイクロ相互作用を算出した。その結果、両者の親和性と相互作用エネルギー変化に明確な相関関係が存在することが判明し、ソフトマテリアルの生体適合性が理論計算によって簡便に予測できる可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：The affinities between a biomolecule and an interface of a soft material were evaluated by calculating interaction energy acting on them. Computational chemistry approaches were used to assess these profiles for a biomolecules approaching a zwitterionic or nonionic biocompatible material surface. Our evaluations demonstrate that the minimum values for interaction energy profiles are directly correlated with their affinities, suggesting that the biocompatibility of soft materials can be conveniently estimated from our theoretical calculations.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：化学工学・物理化学

科研費の分科・細目：プロセス工学、化工物性・移動操作・単位操作

キーワード：生体適合性、相互作用エネルギー、ファウリング、分子動力学法、水処理膜

## 1. 研究開始当初の背景

ソフトマテリアルを医療デバイスに応用することを考えると、生体内に埋め込む際に生じる免疫・炎症反応を可能な限り抑止しなければならない。こうした一連の生体防御反応は、生体内タンパク質の素材表面への吸着現象によって誘発されるため、タンパク質吸着を極限まで抑止できるソフトマテリアルこそが理想的な素材と考えられる。よって種々のマテリアルのタンパク質吸着特性をコンビナトリアルに予測することが可能となれば、医療デバイスの研究開発を飛躍的に効率化できる。そのため、ソフトマテリアル

とタンパク質に代表される生体分子の間に働く相互作用を解明するアプローチは、近年の重要な研究課題となっている。

## 2. 研究の目的

本研究は、計算化学手法を応用することで、ソフトマテリアルのタンパク質吸着特性を簡便に理論予測するアプローチを構築し、その妥当性を検証することを目指す。

## 3. 研究の方法

(1) タンパク質のマテリアル表面への吸着エネルギー推算

まず、吸着エネルギーを簡便な計算アプローチで推算するための予備検討を実施した。既往の研究では、この吸着エネルギーを、溶媒和自由エネルギー変化 $\Delta G$ と van der Waals 相互作用エネルギーの和によって推算している (D. R. Du et al., J. Biomater. Sci. Polymer Edn, 3(1991), p. 127)。このうち van der Waals 相互作用については、経験的なポテンシャルから予測できる。その一方、 $\Delta G$  については、溶媒を水から1-オクタノールに置換する際の自由エネルギー変化とみなすことで、

$$\Delta G = -2.303RT \log P \quad (1)$$

と近似できる。この式で  $R$  は気体定数、 $T$  は温度、 $\log P$  は1-オクタノール/水の分配係数である。 $\log P$  がフラグメント法 (D. J. Abraham et al., Proteins: Structure, Function, Genet., 2(1987), p. 130) によって予測できることを考えれば、(1)式によって $\Delta G$ を予測できるため、吸着エネルギーも推算できる。

本研究は、マテリアル表面としてはホスホベタイン系に分類されるリン酸コリン修飾の自己組織化単分子膜(PC-SAM)のほか、カルボキシベタイン系の自己組織化単分子膜(CB-SAM)、スルホベタイン系の自己組織化単分子膜(SB-SAM)の3種類を採用し、比較対照のためにポリビニルアルコール(PVA)とグラファイト表面も検証した。また吸着タンパク質にはリゾチーム(LYZ)、ユビキチン(UBQ)、インターロイキン(IL)、フィブリン(FBR)、インスリン(INS)の5種類を採用した。以上を検討対象として、タンパク質の表面吸着エネルギーを上記の方法から推算した。

## (2) 分子動力学法によるマテリアル表面近傍の相互作用エネルギー計算

タンパク質を構成するアミノ酸残基は主に20種類であるが、これらは親疎水性と酸塩基性の観点から、以下に示す4つのカテゴリーに分類される。

- ①親水性かつ中性
- ②親水性かつ酸性
- ③親水性かつ塩基性
- ④疎水性

本研究は、各カテゴリーから1つずつのアミノ酸残基を選定し、これら4種類のアミノ酸残基が水溶液中においてソフトマテリアルの素材モノマーに接近する際の相互作用エネルギー変化を、分子動力学 (MD) 法から理論計算することを目指した。上記のカテゴリー①に分類されるアミノ酸残基としてはグリシン (Gly) を、カテゴリー②に分類される残基としてはアスパラギン酸 (Asp) を、カテゴリー③に分類される残基としてはリ

シン (Lys) を、カテゴリー④に分類される残基としてはフェニルアラニン (Phe) を採用した。

一方、ソフトマテリアルの計算対象としては、コンタクトレンズの素材としても幅広く用いられている非イオン性のポリ(2-ヒドロキシエチルメタクリレート) (PHEMA) の構成モノマーを採用した。さらに比較対照のため、ポリビニルアルコールをモデル化した仮想的なビニルアルコール (VA) 三量体と、芳香族アミド系の素材モノマーについても検証した。

これらの素材モノマーに対して、アミノ酸残基が水溶液中で接近する際の相互作用エネルギー曲線を算出することで、ソフトマテリアルのタンパク質吸着特性を簡便に予測できるかどうかを検証した。

具体的な計算方法ならびに計算条件を以下に示す。まず、アミノ酸残基と素材モノマーの計2分子に加え、512個の水分子を計算モデル内に配置して、その密度が $1.0 \text{ g/cm}^3$ となるよう、MD法による構造緩和計算を実行した。その結果、得られた立方体セルの一边は約 $25 \text{ \AA}$ となった。このセルを用いてMD計算を実行し、アミノ酸残基と素材モノマー間の相互作用エネルギーを算出した。その模式図を以下の図1に示す。

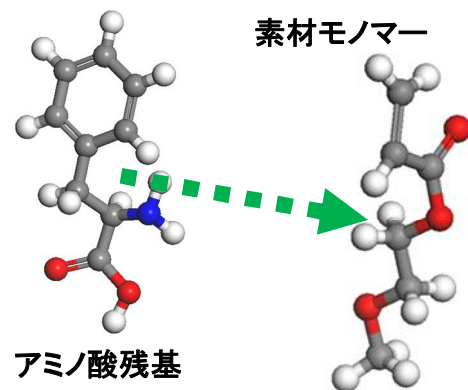


図1. アミノ酸残基が水溶液中の素材モノマーに接近する際の模式図

なお、実際のエネルギー計算に際しては、アミノ酸残基と素材モノマーの重心間距離を固定した。その距離の最大値は $1.2 \text{ nm}$ に設定し、 $0.01\text{-}0.1 \text{ nm}$ 刻みで両者を近づけながらMD計算を逐次的に実行することで、分子間に働く相互作用エネルギープロファイルを算出できる。得られるプロファイルを模式的に図2に示す。これにより、分子の重心間距離が $1.2 \text{ nm}$ の場合における相互作用エネルギーを基準とする時の、プロファイル極小点における相互作用エネルギー変化 $\Delta E$ が予測できる。なお、計算時間は1ナノ秒から10ナノ秒の間で設定し、MD計算における時

間ステップは0.5フェムト秒もしくは1.0フェムト秒と設定した。設定温度は、全ての計算において293 Kとした。

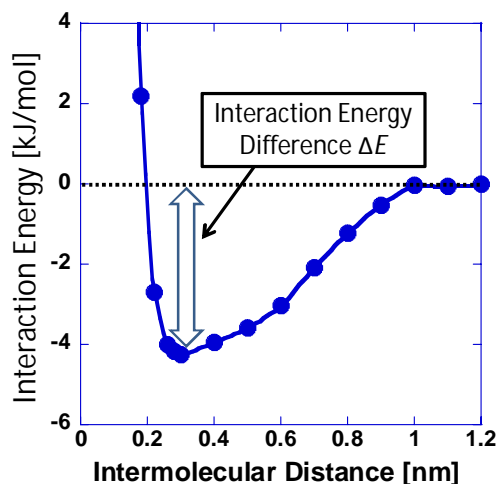


図2. アミノ酸残基が水溶液中の素材モノマーに接近する際の相互作用エネルギー曲線

#### 4. 研究成果

(1) タンパク質のマテリアル表面への吸着エネルギー推算

まずは3.(1)に既述の推算法を採用し、吸着エネルギーを算出した。その結果を以下の図3に示す。

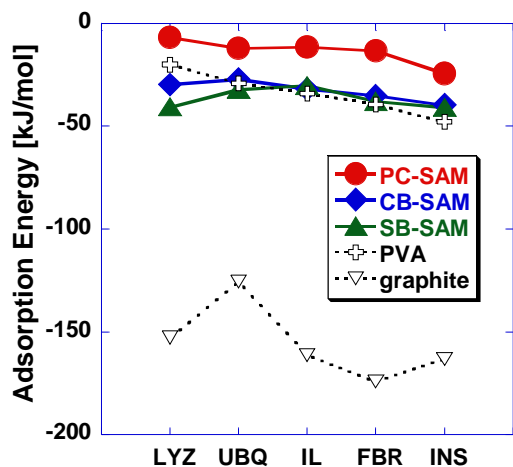


図3. 各種タンパク質のマテリアル表面への吸着エネルギー

本図では、縦軸の吸着エネルギーが高い値を示すほど、表面近傍のタンパク質はエネルギー的に不安定になるため、その表面に対する吸着現象を抑制できることを意味する。それに対して吸着エネルギーが低い値を示すほど、接近タンパク質はエネルギー的に安定となり、吸着を誘起してしまう。

以上を踏まえると、本図は、タンパク質の種類に依らず、PC-SAM表面がタンパク質の吸着を高度に抑止できることを熱力学的に示

している。一方、疎水性のグラファイト表面は、タンパク質の吸着を顕著に促進してしまうことも確認できる。

(2) 分子動力学法による生体適合性マテリアル表面近傍の相互作用エネルギー計算

まず、4種類のアミノ酸残基が水溶液中で HEMA モノマーに接近する際の相互作用エネルギー曲線を解析し、相互作用エネルギー変化  $\Delta E$  の値を算出した。その結果、4種類すべての残基に対して、 $\Delta E$  の値は  $-0.5$  kJ/mol 未満となった。さらに Phe 残基の  $\Delta E$  が最も低く、次いで Gly、Asp、Lys の順となることが判明した。従って、これら4種類のアミノ酸残基の中で最も疎水的である Phe 残基が、HEMA モノマーに対して最も安定的に接近することが確認された。これらの結果は、図4および図5のように模式的に解釈できる。

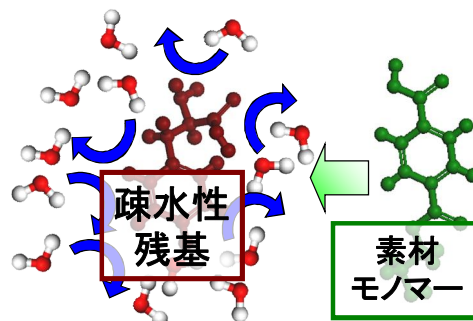


図4. 疎水性アミノ酸残基と素材モノマーが水溶液中で接近する際の模式図

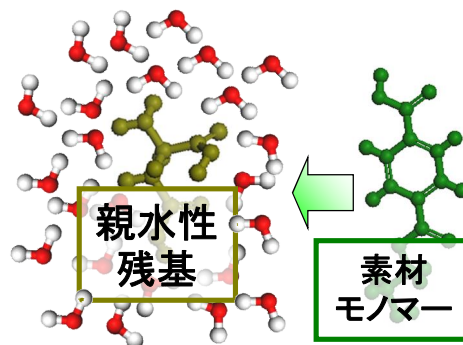


図5. 親水性アミノ酸残基と素材モノマーが水溶液中で接近する際の模式図

まず、図4に示すように疎水性のアミノ酸残基と素材モノマーが接近する場合を考える。アミノ酸残基の近傍で水分子は安定的には存在せず、その位置は他の水分子と頻繁に入れ替わる。これにより、素材モノマーと疎水性アミノ酸残基は互いに、容易に接近することができる。それに対して、図5に示すように親水性のアミノ酸残基と素材モノマーが接近する場合には、アミノ酸残基の近傍で無数の水分子が緻密な水和構造を形成して

おり、素材モノマーとアミノ酸残基が接近する際の障壁となるため、両者は容易には接近しない。こうした挙動の差が、疎水性残基と親水性残基における相互作用エネルギー変化 $\Delta E$ の絶対値の差として反映されるものと推察される。

(3) 分子動力学法による汎用マテリアル表面近傍の相互作用エネルギー計算

続いて、PHEMA 表面との比較・検証を実施すべく、水溶液中の Phe 残基が芳香族アミド系の素材モノマーに接近する際の $\Delta E$ と、VA 三量体に接近する際の $\Delta E$ を算出した。その結果、芳香族アミド系の素材モノマーでは $-4.2$  kJ/mol、VA 三量体では $-2.7$  kJ/mol という値を示した。よって芳香族アミドおよび VA 三量体ともに、 $\Delta E$ の絶対値が HEMA モノマーよりも1桁程度大きくなることが判明した。この相違は、Phe 残基が芳香族アミド系の素材モノマーや VA 三量体の近傍において、エネルギー的により安定な状態で存在できることを示している。4. (2)の結果を合わせて考えると、HEMA モノマーは、これらの素材モノマーとは異なり、アミノ酸残基に接近しても容易に離れることが示唆される。

以上の結果は、芳香族アミド系や PVA のマテリアル表面には生体分子が容易に吸着する一方、PHEMA 表面はタンパク質吸着を高度に抑止できることを熱力学的に裏づけるものとなっている。

(4) マテリアル表面の親疎水性とタンパク質吸着特性の相関性検証

マテリアル表面の親疎水性を表す指標の1つに、水の接触角が挙げられる。既往の測定結果によると、PVA と PHEMA における接触角には大きな相違が認められない(たとえば Y. Uyama et al., J. Colloid Interface Sci., 141(1991), p. 275 および M. Morra et al., J. Colloid Interface Sci., 149(1992), p. 84)。それにもかかわらず、本研究の推算結果からは、HEMA モノマーと VA 三量体の両者において $\Delta E$ の絶対値が顕著に異なることが明らかとなった。この結果は、マテリアル間の親疎水性の相違では、タンパク質の吸着抑止の可否を説明できないことを端的に示している。

(5) 結論

以上より、本研究の相互作用エネルギー計算法が、タンパク質の吸着を高度に抑止できるマテリアル表面や、生体分子を吸着しない水処理膜の新素材を開発する上で、重要な役割を担うことが期待できる。

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2件)

① Ryo Nagumo, Kazuki Akamatsu, Ryuji Miura, Ai Suzuki, Nozomu Hatakeyama, Hiromitsu Takaba, Akira Miyamoto, Computational chemistry study on the microscopic interactions between biomolecules and hydrophilic polymeric materials, Journal of Chemical Engineering of Japan, 査読有, DOI: 10.1252/jcej.12we212.

② Ryo Nagumo, Kazuki Akamatsu, Ryuji Miura, Ai Suzuki, Hiroyuki Tsuboi, Nozomu Hatakeyama, Hiromitsu Takaba, Akira Miyamoto, A theoretical design of surface modifiers for suppression of membrane fouling: Potential of poly(2-methoxyethyl acrylate), Journal of Chemical Engineering of Japan, 査読有, 2012, 45(8), p.568-570.

[学会発表] (計7件)

① 南雲 亮, 高羽 洋充、水処理膜のファウリング制御に向けた計算化学的アプローチの応用、膜シンポジウム2012、2012年11月7日、神戸大学

② 南雲 亮, 伊藤 辰徳、三浦 隆治、鈴木 愛、坪井 秀行、畠山 望、高羽 洋充、宮本 明、ポリマー膜表面近傍における水分子のマイクロダイナミクス解析、化学工学会第77年会、2012年3月16日、工学院大学

③ 南雲 亮, 三浦 隆治、鈴木 愛、坪井 秀行、畠山 望、高羽 洋充、宮本 明、ポリマーバイオマテリアルのタンパク質吸着制御に向けた計算化学手法の応用、第33回日本バイオマテリアル学会大会、2011年11月22日、京都テルサ

④ 南雲 亮, 伊藤 辰徳、三浦 隆治、鈴木 愛、坪井 秀行、畠山 望、高羽 洋充、宮本 明、ペタイン系高分子マテリアル表面におけるタンパク質吸着現象の分子動力学シミュレーション、第33回日本バイオマテリアル学会大会、2011年11月22日、京都テルサ

⑤ 南雲 亮, 三浦 隆治、鈴木 愛、坪井 秀行、畠山 望、高羽 洋充、宮本 明、計算化学手法による医用高分子材料の耐バイオフィアウリング性能解析、第60回高分子討論会、2011年9月29日、岡山大学

⑥ 南雲 亮, 三浦 隆治、鈴木 愛、坪井 秀行、畠山 望、高羽 洋充、宮本 明、生体適合性ポリマーの表面修飾による膜ファウリ

ング抑止機構の計算化学的解析、化学工学  
会第43回秋季大会、2011年9月15  
日、名古屋工業大学

⑦高羽 洋充、伊藤 辰徳、南雲 亮、三浦 隆  
治、鈴木 愛、坪井 秀行、畠山 望、宮本 明、  
新規粗視化ポテンシャルによるベタイン  
型マテリアル表面へのタンパク質吸着に  
関する動力学シミュレーション、化学工学  
会第43回秋季大会、2011年9月15  
日、名古屋工業大学

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

南雲 亮 (NAGUMO RYO)  
名古屋工業大学・工学研究科・助教  
研究者番号：20552003

### (2)研究分担者

( )

研究者番号：

### (3)連携研究者

( )

研究者番号：