

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24655157

研究課題名(和文)糖鎖高分子ナノ微粒子によるバイオセンシング材料の開発

研究課題名(英文)Glycopolymer Nanoparticles for Biosensing

研究代表者

三浦 佳子 (Miura, Yoshiko)

九州大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：00335069

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：糖鎖高分子を主体とするナノゲル粒子の合成を行い、糖認識タンパク質、細胞成長因子などのタンパク質との結合について検討した。ナノゲル粒子については三次元構造を持つ、多価糖鎖構造を持つため、ターゲットタンパク質を強く認識した。この認識を利用して、糖鎖高分子ナノゲルを用いたバイオセンシングを検討したところ、抗体に匹敵する結合定数を示した。構造色バイオセンサーを用いたところ、ナノモルレベルでの検出を達成できることがわかった。硫酸化糖を用いたナノゲル粒子の場合には、硫酸化糖を認識するターゲットタンパク質を強く認識することがわかった。また、このターゲットタンパク質は、細胞中でも強く認識することがわかった。

研究成果の概要(英文)：The glycopolymer nanogel were synthesized, and the molecular recognition ability was investigated with proteins such as sugar recognition protein (lectin) and cell growth factors. Since the glycopolymer nanogel particles have three dimensional molecular recognition space, the glycopolymer nanogel particles showed the strong and specific recognition to the target proteins. We utilized the molecular recognition ability of glyconanoparticle for biosensing, and found the glycopolymer nanoparticles showed the strong and specific recognition ability in the structural color biosensor like antigen. On the other hand, the sulfated glyconanoparticles showed the specific molecular recognition ability to cell growth factor. The glyconanoparticles also showed the strong and specific recognition to the target protein in the cell.

研究分野：化学

科研費の分科・細目：生体関連化学

キーワード：糖鎖 高分子 ナノゲル粒子 バイオセンサー レクチン 細胞成長因子

1. 研究開始当初の背景

生理活性糖鎖の分子認識が種々の生体機能に関わっていることが明らかとなり、注目をあつめてきた。申請者は、このことに着目して、糖鎖と高分子を結合させた、糖鎖高分子について検討を行ってきた。これまでに、種々の生理活性糖鎖(マンノース、ガラクトース、グルコサミン)やグリコサミノグリカンモデルの硫酸化糖に着目して糖鎖高分子の合成と利用を行ってきた。特に硫酸化糖を用いることで、これまでに各種の病原体に対して結合する糖鎖高分子の合成を実現していた。しかしながら一方で、糖鎖高分子が線上的高分子であるため、特異性の確保を行うことができなかった。

2. 研究の目的

そこで本研究では、ナノゲルを用いて、ゲルの内部に3次元場となる分子認識場を持つ微粒子を利用した材料の創製を行ってきた。糖鎖高分子ナノゲルを用いることで、抗体の代わりとなるような、ナノゲル粒子の創製を目指した。特にナノゲル粒子を用いたバイオ計測を目指して検討を行った。

3. 研究の方法

マンノース、及び各種の硫酸化糖をアクリルアミドモノマーにした上で、N-イソプロピルアクリルアミドを主体としたナノゲル粒子の合成に用いた。糖鎖モノマーを含む、ナノゲル粒子について、各種の糖認識タンパク質や、ヘパリンなどのグリコサミノグリカン結合タンパク質を加えて、結合能の測定を行った。また、これらの糖鎖高分子ナノゲルを用いて、バイオ計測を検討した。また、細胞中でのタンパク質の捕捉について測定を行った。

4. 研究成果

マンノースを有する糖鎖高分子ナノゲル粒子については、糖認識タンパク質である、コンカナバリンAに対して強く特異的な分子認識能を発揮した。このように、強く特異的な分子認識能については、バイオセンサーに応用可能で、構造色バイオセンサーに応用して、抗体の様にセンシングに用いることができた。

また、硫酸化糖の合成をN-アセチルグルコサミンについては、位置特異的な硫酸化モノマーの合成及び高分子ナノゲル粒子の合成を行った。こうした硫酸化糖鎖高分子ナノゲルについては、アルツハイマー病関連タンパク質、酵素の阻害効果を発揮し、細胞成長因子についても結合することがわかった。

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)

1. Yuhei Terada, Tatsuro Endo,

Hirokazu Seto, Hideaki Hisamoto, Yoshiko Miura, "Signal amplified two-dimensional photonic crystal biosensor immobilized with glycol-nanoparticles" J. Mat. Chem. B. in press.

2. Hirokazu Seto, Seiji Kamba, Yuichi Ogawa, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, "Novel Detection Technique for Particulate Matter in Air using Metal Mesh Device Sensor, Chem. Lett. 2014, 43,408-410.

3. Yuri Nishimura, Hiroki Shudo, Hirokazu Seto, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, "Syntheses of sulfated glycopolymers and analyses of their BACE-1 inhibitory activity" Bioorg. Med. Chem. Lett. 2013, 23, 6390-6395.

4. Masaki Takara, Masayuki Toyoshima, Hirokazu Seto, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, "Polymer-Modified Gold Nanoparticles via RAFT Polymerization: Detailed Study for a Biosensing Application" Polym. Chem. 2014, 5, 931-939.

5. Yutaro Ogata, Hirokazu Seto, Tatsuya Murakami, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, "Affinity Separation of Lectins Using Porous Membranes Immobilized with Glycopolymer Brushes Containing Mannose or N-Acetyl-D-Glucosamine" Membranes, 2013, 3, 169-181.

6. Hirokazu Seto, Chie Yamashita, Seiji Kamba, Takashi Kondo, Makoto Hasegawa, Mitsuhiro Matsuno, Yuichi Ogawa, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, "Biotinylation of Silicon and Nickel Surfaces and Detection of

- Streptavidin as Biosensor”, *Langmuir*, 2013, 29, 9457-9463.
7. Hirokazu Seto, Takato Morii, Tamami Yoneda, Tatsuya Murakami, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, “Preparation of Palladium-loaded Polymer Nanoparticles with Catalytic Activity for Hydrogenation and Suzuki Coupling Reactions”, *Chem. Lett.* 2013, 42, 301-303.
 8. Yoshiko Miura, Shunsuke Onogi, Tomohiro Fukuda, “Syntheses and Biological Ability of Sulfo-Glycendendrimer via Click Chemistry”, *Molecules*, 2012, 17, 11877-11896.
 9. Hirokazu Seto, Chie Yamashita, Tatsuya Murakami, Takeshi Hasegawa, Yoshiko Miura, “Surface Modification of Siliceous Materials Using Maleimidation and Various Functional Polymers Synthesized by Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer Polymerization,” *ACS Applied Materials and Interfaces*, 2012, 4, 5125-5133.
 10. Tomohiro Fukuda, Masaki Kawamura, Hikaru Mizuno, Yoshiko Miura, “Glycosaminoglycan Model Polymers with Poly(γ -glutamate) Backbone to Inhibit Aggregation of β -Amyloid Peptide” *Polymer Journal*, 2012, 45, 359-362.
 11. Yasuhiro Maeda, Akira Matsumoto, Yoshiko Miura, Yuji Miyahara, “Preparation of alpha-Mannoside hydrogel and electrical detection of saccharide-protein interactions using the smart gel-modified gate field effect transistor” *Nano Res Lett*, 2012, 7, 108.
 12. Hirokazu Seto, Yutaro Ogata, Tatsuya Murakami, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, “Selective Protein Separation using Siliceous Materials with a Trimetoxysilane-Containing Glycopolymer” *ACS Applied Materials and Interfaces*, 2012, 4, 411-417.
 13. 三浦佳子、坂本祥吾、福田知博、由井伸彦、“硫酸化糖鎖高分子によるグリコサミノグリカンモデルポリマーの合成とアミロイド阻止機能” *高分子論文集*, 2012, 69, 47-53.
- (雑誌論文)(計15件)
1. 三浦佳子、西村優里、中村直志、“硫酸化糖鎖高分子ライブラリーによる生体機能分子の開発”、日本化学会年会、2014年3月、名古屋大学
 2. Yoshiko Miura, Hirokazu Seto, Seiji Kamba, Takashi Kondo, Yuichi Ogawa, “Preparation of Metal Mesh Device Sensor for Detection of Particular Matters in Air”, *MRS Fall Meeting*, 2013年12月 ボストン、アメリカ
 3. Yoshiko Miura, “Glyco-Interface for Biosensing”, *The 4th Asian Symposium on Advanced Materials - Chemistry, Physics & Biomedicine of Functional and Novel Materials*, 2013年10月、台湾
 4. 三浦佳子、西村優里、瀬戸弘一、“硫酸化糖鎖の高分子によるライブラリー化と機能評価”、日本糖質学会、2013年8月、大阪
 5. 田中知成、井上玄理、福本浩之、石浜秀樹、三浦佳子、“保護基フリー合成法による遊離オリゴ糖のモノマー化および糖鎖高分子化”、日本糖質学会、

- 2013年8月、大阪
6. 三浦 佳子, 星野 友, 瀬戸 弘一, 糖鎖高分子グラフト膜によるタンパク質分離材料, 日本糖質学会 2013年8月、大阪
 7. 中村直志, 瀬戸 弘一, 星野 友, 三浦 佳子, “硫酸化糖を含有する糖鎖高分子の応用”, 化学工学会学生発表会, 2014年3月、大阪
 8. 長尾 匡憲, 瀬戸 弘一, 星野 友, 三浦 佳子, インフルエンザウイルスと相互作用する糖鎖高分子の開発およびそれをういたウイルス検出感度の向上, 化学工学会学生発表会, 2014年3月、大阪
 9. 澁谷 誠, 瀬戸 弘一, 星野 友, 三浦 佳子, “グライコモノリスの作製および生体分子分離への応用”, 化学工学会学生発表会, 2014年3月、大阪
 10. 三浦 佳子, “Glycopolymer Interface for Bio-Functional Materials”, Collaborative Conference on 3D & Materials Research, 2013年6月 Jeju Korea
 11. 米田玉弥, 森井崇人, 瀬戸 弘一, 星野 友, 三浦 佳子, “Pd を担持させたナノゲルによるリアクターの検討”, 第50回化学関連支部合同九州大会, 2013年7月、北九州国際会議場
 12. 寺田侑平, 瀬戸 弘一, 星野 友, 三浦 佳子, “糖鎖高分子ナノゲル粒子を用いた構造色バイオセンサー”, 第50回化学関連支部合同九州大会, 2013年7月、北九州国際会議場
 13. 國府島由紀, 小川浩平, 瀬戸 弘一, 星野 友, 三浦 佳子, “デンドリマー修飾表面における大腸菌吸着への影響”, 第50回化学関連支部合同九州大会, 2013年7月、北九州国際会議場
 14. 米田 玉弥, 森井 崇人, 瀬戸 弘一, 星野 友, 三浦 佳子, “Pd を担持させたナノゲル固定化膜リアクターの触媒活性の検討”, 化学工学会, 2013年9月、岡山大学
 15. 瀬戸 弘一, 神波 誠治, 小林孝志, 長谷川慎, 小川雄一, 星野 友, 三浦 佳子, “糖鎖高分子固定化金属メッシュデバイスセンサーによるタンパク質の検出”, 化学工学会, 2013年9月、岡山大学
 16. 國府島 由紀, Kohei ogawa, 瀬戸 弘一, 星野 友, 三浦 佳子, “デンドリマー固定基板の作製および生体分子吸着性の評価”, 化学工学会秋季大会, 2013年9月、岡山大学
 17. 瀬戸 弘一, 國府島 由紀, 星野 友, 三浦 佳子, “樹状高分子をプラットフォームとした生体分子が吸着する表面および吸着しない表面”, 高分子討論会, 2013年9月、金沢大学
 18. 三浦 佳子, Introductory Remarks, 高分子討論会, 2013年9月、金沢大学
 19. 高良 政己, 星野 友, 三浦 佳子, “アクリルアミド型糖鎖高分子の立体規則性制御” 高分子討論会, 2013年9月、金沢大学
 20. 三浦 佳子, 國府島 由紀, 瀬戸 弘一, 星野 友, “Molecular Recognition of Proteins and Bacteria on the Dendrimer Interface” 高分子学会, 2013年5月、京都国際会議場
 21. Yuhei Terada, Tatsuro Endo, Hirokazu Seto, Yu Hoshino, Yoshiko Miura, “Structural-color Biosensor Immobilized with Sugar-incorporating Nanoparticles” 高分子学会, 2013年5月、京都国際会議場
 22. 福田 知博, 松本 絵里乃, 三浦

- 佳子,“末端修飾 PAMAM デンドリマー固定化膜の調製”,高分子学会,2013年5月、京都国際会議場
23. 三浦 佳子,“硫酸化糖鎖高分子によるアミロイド の凝集性の制御”第31回日本糖質学会,2012年9月、鹿児島
24. 三浦 佳子,“高分子を利用した生理活性糖鎖の再構築と機能材料への応用”,日本化学会,2013年3月、立命館大学、滋賀
25. 寺田 侑平,瀬戸 弘一,星野 友,三浦 佳子,“糖鎖高分子ナノ粒子を用いた構造色バイオセンサーの開発”,化学工学会学生発表会,2013年3月、北九州市立大学
26. 米田 玉弥,森井 崇人,瀬戸 弘一,星野 友,三浦 佳子,“Pdを担持させたナノ粒子による固定化触媒とリアクターの検討”,化学工学会学生発表会,2013年3月、北九州市立大学
27. 國府島 由紀,小川 浩平,瀬戸 弘一,星野 友,三浦 佳子,“大腸菌接着制御デンドリマー修飾表面の作製”,化学工学会学生発表会,2013年3月、北九州市立大学
28. 森井 崇人,米田 玉弥,瀬戸 弘一,星野 友,三浦 佳子,“高分子担体の相状態に伴う触媒能の評価”,化学工学会第78回年会,2013年3月、大阪大学
29. 瀬戸 弘一,神波 誠治,近藤 孝志,長谷川 慎,小川 雄一,星野 友,三浦 佳子,“ビオチン薄膜による表面改質および生体分子認識機能の評価”,化学工学会第78回年会,2013年3月、大阪大学
30. 國府島 由紀,小川 浩平,瀬戸 弘一,星野 友,三浦 佳子,“大腸菌接着制御するデンドリマー修飾基板の作製”,化学工学会第78回年会,2013年3月、大阪大学
31. Hirokazu Seto, Masaki Takara, Yu Hoshino, Yoshiko Miura,“Surface Modification of Siliceous Materials Using Maleimidation and Glycopolymer Synthesized by Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer Polymerization”, 2012 MRS Fall Meeting,2012年11月,ボストン、アメリカ
32. Yoshiko Miura, Tomohiro Fukuda,“Morphology Control of Alzheimer Amyloid β Peptide (1-42) on the Multivalent Sulfonated Sugar Interface”, 2012 MRS Fall Meeting,2012年11月,ボストン、アメリカ
33. Masaki Takara, Yu Hoshino, Yoshiko Miura,“Biosensing-application with Glycopolymer-substituted Gold Nanoparticles”, 2012 MRS Fall Meeting,2012年11月,ボストン、アメリカ
34. 杉本雅志・武井孝行・星野友・三浦佳子,“糖結合デンドリマーを用いた選択的細胞接着界面の開発”,第49回化学関連支部合同九州大会,2012年6月、北九州国際会議場
35. 緒方裕太郎・瀬戸弘一・三浦佳子,“糖含有高密度ポリマーブラシを用いたタンパク質分離材料への応用”,第49回化学関連支部合同九州大会,2012年6月、北九州国際会議場
36. Yoshiko Miura, Hirokazu Seto, Yutaro Ogata, Yu Hoshino,Protein Separation with Glycopolymer Modified Siliceous Materials,IUMRS-ICEMS 2012年9

- 月、横浜
37. 瀬戸弘一、星野友、三浦佳子, “材料表面に付与して生体分子認識能への糖鎖高分子コンフォメーションの影響”, 第44回化学工学会秋季大会, 2012年9月、東北大学
38. 福田 知博・松本 絵里乃・三浦 佳子, “PAMAM デンドリマー固定化膜の調製とその機能”, 第61回高分子討論会, 2012年9月
39. 三浦 佳子, 糖を用いた分子認識性高分子の展開, 第61回高分子討論会, 2012年9月、名古屋工業大学
40. 三浦 佳子・瀬戸 弘一・首藤 央樹・西村 優里・星野 友, “硫酸化糖鎖高分子によるタンパク質の機能制御の検討”, 第61回高分子学会, 2012年6月横浜
41. 三浦 佳子・瀬戸 弘一・緒方 裕太郎・星野 友, 糖鎖高分子によるタンパク質分離材料の創製, バイオ高分子シンポジウム, 2012年6月、横浜
42. Yoshiko Miura,, ”Glycosaminoglycan Model Polymer”, The Second Asian Chemical Biology Conference, 2012.07.03.

〔学会発表〕(計42件)
 Yoshiko Miura, Hirokazu Seto, Tomohiro Fukuda, “Molecular Recognition of Glycopolymer Interface”, InTech, An Integrated View of the Molecular Recognition and Toxinology - From Analytical Procedures to Biomedical Applications, Chapter 18, pp455-480.

〔図書〕(計1件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称:
 発明者:
 権利者:
 種類:
 番号:
 出願年月日:
 国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:
 発明者:
 権利者:
 種類:
 番号:
 取得年月日:
 国内外の別:

〔その他〕
 ホームページ等

6. 研究組織
 (1) 研究代表者
 三浦 佳子

研究者番号: 00335069

(2) 研究分担者 ()

研究者番号:

(3) 連携研究者 ()

研究者番号: