

平成 16 年 9 月 8 日

氏名 森作 俊紀



21 世紀 COE プログラム

拠点：大学院工学系研究科

応用化学専攻、化学システム工学専攻、  
化学生命工学専攻、マテリアル工学専攻

“化学を基盤とするヒューマンマテリアル創成”

平成16年度リサーチ・アシスタント報告書

ふりがな 氏 名	もりさく としのり 森作 俊紀	生 年 月 日
所属機関名	東京大学大学院 工学系研究科 マテリアル工学専攻	
所在地	〒 113-8656 文京区本郷 7-3-1 工学部 4 号館 電話 03-5841-8648	
申請時点での 学年	博士課程 2 年	
研究題目	材料界面の水の構造制御による新規バイオマテリアルの分子設計	
指導教官の所属・氏名	東京大学大学院工学系研究科マテリアル工学専攻 石原 一彦 教授 高井 まどか 講師	

## I 研究の成果 (1000字程度)

(図表も含めて分かりやすく記入のこと)

近年、分子生物学の発展・ポストゲノム時代の到来に伴い、バイオマテリアルの研究対象が遺伝子やタンパク質に移行しており、分子レベルのバイオ技術に対応可能な材料の開発が求められている。本研究では、そのような材料の分子設計の新しい概念として、材料界面の水の構造に着目した。生体中において、タンパク質、細胞などは固有の水の構造をもち、結合水(分子・イオンなどに水和した水)・中間水(結合水と自由水の界面に存在する水)・自由水(運動性が高い水)の存在量・分子運動性が生体反応の制御や機能発現に関係する。よって、材料界面の水の構造制御は、材料と生体成分との相互作用を分子レベルで制御可能にする。

現在、生体組織に近い特性をもつハイドロゲルに注目し、非特異的なタンパク質吸着を完全に抑制可能なハイドロゲルを、材料界面の水の構造の観点から分子設計している。このようなゲルの開発は、微小領域アクチュエーター、タンパク質 1 分子計測デバイスなどに有効である。初めに、分子設計の指標として、リン脂質極性基構造を有する 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(MPC)(Fig. 1)を用いて合成された MPC ハイドロゲルの水の構造を評価した。MPC ポリマー表面は、2-ハイドロキシエチルメタクリレート(HEMA)(Fig. 2)や n-ブチルメタクリレート表面に比べて、非特異的なタンパク質吸着を抑制する。よって、MPC ハイドロゲルの水の構造は、目的とするゲルの分子設計の指標として有効である。

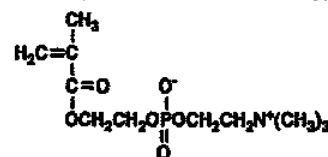


Figure 1. Chemical structure of MPC.

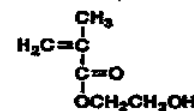


Figure 2. Chemical structure of HEMA.

用いた MPC ハイドロゲルの平衡含水率(EWC)は 92%であり、ソフトコンタクトレンズの材料である HEMA ハイドロゲル(EWC:45%)と比較した。材料界面の水の構造を解析する上で、濡れた状態の材料界面の水の構造を評価することは困難であり、測定手法の開発が望まれている。そこで現在、ハイドロゲル内の水全体の平均的な構造を  $^1\text{H}$  バルス NMR 法によるスピンスピン緩和時間( $T_2$ )測定によって評価している。CPMG 法が  $T_2$  測定に使用され、CPMG 法によって得られる時間に対するシグナル強度( $M(t)$ )の減衰は、各成分に対する指数関数( $F_i \exp(-t/T_{2i})$ )( $F_i$ : i 番目の成分の割合,  $T_{2i}$ : i 番目の成分の  $T_2$ )の和で表される。 $F_i$ ,  $T_{2i}$  は、非線形最小 2 乗法で算出され、測定温度は 30°C、積算回数は 16 回とした。

Fig. 3 に MPC ハイドロゲルの  $T_2$  減衰曲線を示す。MPC ハイドロゲルの減衰曲線は、 $T_2$  の短い成分(A)、長い成分(B)の 2 つに分離された。各成分の帰属のために、MPC ハイドロゲルを乾燥させ、含水率を 80, 70, 58, 49, 45%に調整したハイドロゲルでも測定を行った。その結果、それらの含水率でも 2 成分に分離され、含水率の増加(ポリマー濃度の減少)に伴って、各成分の  $T_2$  は減少した。また、含水率の増加に伴って、成分 A の割合の減少、成分 B の割合の増加から、成分 A は MPC ポリマー鎖(結合水も含む)、成分 B は水に帰属された。さらに、 $T_2$  が大きいことは分子運動性が高いことを表しており、成分 B は、運動性の高い水、すなわち自由水に帰属された。一方、HEMA ハイドロゲルの  $T_2$  減衰曲線を Fig. 4 に示す。HEMA ハイドロゲルの場合も 2 成分に分離された。同様に、HEMA ハイドロゲルを乾燥させ、含水率を 40, 30, 20%に調整したハイドロゲルでも測定を行った。その結果、含水率 40%以下では  $T_2$

減衰曲線は  $T_2$  の短い成分の 1 成分のみであった。これは、含水率 40% 以下ではすべての水がポリマー鎖に水和しており、自由水が存在しないことを表している。また、2 成分に分離された HEMA ハイドロゲル(含水率: 45%)の成分 A はポリマー鎖と結合水を、成分 B は自由水を表している。次に、MPC ハイドロゲルと HEMA ハイドロゲルの  $T_2$  値と各成分の割合を比較した (Table 1)。その結果、次の 2 つのことが見出された。一つは、含水率が同じ MPC ハイドロゲルと HEMA ハイドロゲル(45%)との自由水の割合(成分 B の割合)を比較した結果、MPC ハイドロゲルは HEMA ハイドロゲルに比べて、自由水の割合が約 12 倍であった。この結果は、ハイドロゲル中の自由水の割合は、含水率に関係するのではなく、ポリマー鎖の極性基構造に起因することが示している。つまり、MPC のホスホリルコリン基構造が高い割合の自由水を維持していることが見出された。もう一つは、MPC ハイドロゲル(含水率 92%)の自由水の  $T_2$  値と純水(バルク水)の  $T_2$  値を比較した結果、ほとんど同じ値だった。MPC ハイドロゲル中の水の大部分はバルク水であることが見出された。MPC と HEMA との極性基構造を比較すると、ホスホリルコリン基末端は トリメチルアンモニウム基構造をとっており、疎水性水和をしている。よって、ホスホリルコリン基末端周囲の水分子とトリメチルアンモニウム基との相互作用は弱く、周囲の水分子はクラスレート構造をとり構造化している。しかし、トリメチルアンモニウム基周囲では、構造化の程度が小さく、周囲の水分子の運動性はバルク水に近いと考えられる。一方、HEMA はヒドロキシル基構造をとっており、周囲の水分子と強い相互作用をしている。その結果、水分子の運動性が低下し、結合水の相が形成され、自由水の割合が小さくなった。

今後、種々のポリマー鎖の極性基構造、極性基周囲の水の構造、そしてハイドロゲル表面のタンパク質吸着抑制効果との相関を議論し、タンパク質吸着抑制の因子の特定、そして完全に非特異的なタンパク質吸着を抑制するハイドロゲルの分子設計を行っていく。

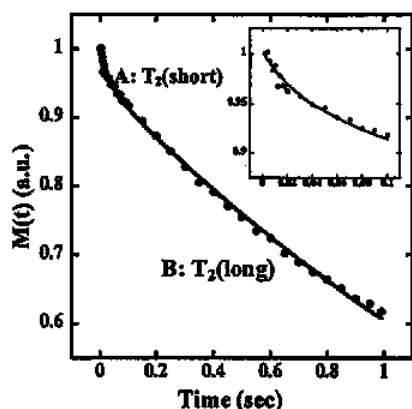


Figure 3.  $T_2$  decay curve for the MPC hydrogel.

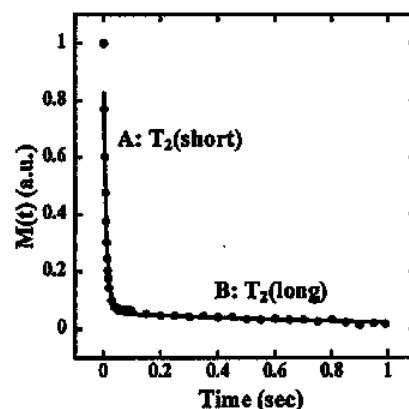


Figure 4.  $T_2$  decay curve for the HEMA hydrogel.

Table 1. MPC, HEMA hydrogel, 純水の  $T_2$  値と各成分の割合の比較

Hydrogel	Water content (%)	component A		component B	
		$T_2$ (msec)	fraction (%)	$T_2$ (sec)	fraction (%)
MPC	92% (EWC)	30.88	4.7	2.19	95.3
MPC	45.0%	10.52	29.4	0.63	70.6
HEMA	45% (EWC)	9.83	94.1	1.04	5.9
Distilled water	—	—	—	2.15	100

- II 学術雑誌等に発表した論文（掲載を決定されたものを含む。）  
共著の場合、申請者の役割を記載すること。  
（著者、題名、掲載誌名、年月、巻号、頁を記入）  
学術雑誌と学会等のプロシーディングなどを以下のように区別して記入すること

(1) 学術論文（査読あり）

- 1, Author: Toshinori Morisaku, Hiroharu Yui, Masanori Iwazumi, Yasuhiro Ikezoe,  
Masanori Fujinami and Tsuguo Sawada.  
Title: "Real-Time Observation for the Enzymatic Reaction of Phospholipid  
Membrane: Application of the Time-Resolved Quasi-Elastic  
Laser Scattering Method"  
Journal: Analytical Chemistry. 2004, 76, 2314-2320.
- 2, Author: Toshinori Morisaku, Hiroharu Yui, and Tsuguo Sawada.  
Title: " Development of a New Experimental System for Monitoring Biomembrane  
Reactions: Combination of Laser Spectroscopic Techniques and Biomembrane  
Models formed at an Oil/Water Interface"  
Journal: Analytical Science. Accepted.

(2) 学会等のプロシーディング

- 1, Author: Toshinori Morisaku, Takayuki Ikehara, Junji Watanabe,  
Madoka Takai and Kazuhiko Ishihara  
Title: " Molecular Design of Biocompatible Hydrogel Based On Molecular  
Mobility of Waters and Polymer Chains"  
American Chemical Society (ACS) 228th National Meeting. Polymer Division.  
平成 16 年 8 月 22 日～26 日, Philadelphia, U. S. A.  
Polymer Preprints. Accepted.

- III 学会において申請者が口頭発表もしくはポスター発表した論文  
(共同研究者(全員の氏名), 題名, 発表した学会名, 場所, 年月を記載)
- ① Toshinori Morisaku, Hiroharu Yui, Masanori Fujinami and Tsuguo Sawada.  
Analysis of Hydrolysis Reaction in Phospholipid Monolayer at Liquid/Liquid Interface  
by Time-Resolved Quasi Elastic Laser Scattering Method.  
IUPAC International Congress on Analytical Sciences 2001, Poster session.  
平成 13 年 8 月 6 日～10 日、Waseda Univ., Tokyo.
- ② 森作俊紀、由井宏治、藤浪真紀、澤田嗣郎  
時間分解準弾性レーザー散乱法を用いた液液界面リン脂質膜上反応の解析  
日本分析化学会第 50 年会、口頭発表。  
平成 13 年 11 月 23 日～25 日、熊本大学。
- ③ 森作俊紀、由井宏治、池添泰弘、藤浪真紀、澤田嗣郎  
時間分解準弾性レーザー散乱法を用いた液液界面リン脂質膜上反応のその場計測  
文部科学省科学研究費特定領域研究(B) 液液界面ナノ領域の化学  
第 1 回公開シンポジウム、ポスター発表。  
平成 13 年 12 月 14 日、15 日、大阪大学。
- ④ 森作俊紀、由井宏治、池添泰弘、藤浪真紀、澤田嗣郎  
時間分解準弾性レーザー散乱法を用いた油水界面におけるリン脂質膜上反応の直接  
観測  
文部科学省科学研究費特定領域研究(B) 液液界面ナノ領域の化学  
第 2 回公開シンポジウム、ポスター発表。  
平成 14 年 7 月 29 日、30 日、東北大学。
- ⑤ 森作俊紀、由井宏治、池添泰弘、藤浪真紀、澤田嗣郎  
時間分解準弾性レーザー散乱法を用いたリン脂質膜における酵素反応の研究  
第 64 回分析化学討論会、口頭発表。  
平成 15 年 5 月 24 日、25 日、高知大学。
- ⑥ 森作俊紀、池原飛之、渡邊順司、高井まどか、石原一彦  
分子運動解析に基づいた生体適合性ポリマーマテリアルの設計と創製  
第 53 回高分子学会年次大会、口頭発表。  
平成 16 年 5 月 25～27 日、神戸国際会議場
- ⑦ 森作俊紀、池原飛之、渡邊順司、高井まどか、石原一彦  
リン脂質極性基周囲の水の構造制御による新規バイオマテリアルの設計と創製  
東京大学 21 世紀 COE(化学・材料系) 合同シンポジウム、ポスター発表。  
平成 16 年 6 月 25、26 日、東京大学弥生講堂

- ⑧ Toshinori Morisaku, Takayuki Ikehara, Junji Watanabe, Madoka Takai  
and Kazuhiko Ishihara  
Molecular Design of Biocompatible Hydrogel Based On Molecular Mobility of Waters  
and Polymer Chains"  
American Chemical Society 228th National Meeting, Poster session of Polymer division.  
平成 16 年 8 月 22 日～26 日, Philadelphia, U. S. A.
- ⑨ 森作俊紀、池原飛之、渡邊順司、高井まどか、石原一彦  
リン脂質極性基周囲の水の構造制御によるポリマーハイドロゲルの設計  
第 53 回高分子討論会、口頭発表。平成 16 年 9 月 15～17 日、北海道大学
- ⑩ Toshinori Morisaku, Takayuki Ikehara, Junji Watanabe, Madoka Takai  
and Kazuhiko Ishihara  
Molecular design of biomaterials with attention to water state at material interface  
The 4th Asian International Symposium on Biomaterials, Poster Session.  
平成 16 年 11 月 17, 18 日, つくば国際会議場