

平成 16年 9月 13日

氏名 伊藤 智美



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	いとう ともみ 伊藤 智美	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	〒113-86856 東京都 文京区 本郷 7-3-1 電話 03-5841-8648	
申請時点での 学年	博士課程 1年	
研究題目	生体反応応答性を有するポリマーナノ粒子の創製	
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教授 石原 一彦	

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)

ポリマーナノ粒子はサイズの小ささから高い運動性と大きな表面積を持つ利点があり、また粒子の対象となるものは細胞だけでなく、遺伝子やタンパク質にまでおよぶ。そのためポリマーナノ粒子に関する研究、粒子上への生体分子の導入に関する研究、刺激応答性を有する微粒子の研究が盛んに行われており、また医療分野においては、ポリマーナノ粒子を用いて診断薬、X線や核磁気共鳴の造影剤などに利用されている。さらにポリマーナノ粒子に抗体を固定することにより特異的かつ定量的な検査やバイオセンサーとしての活用、また薬剤を封入し目的部位へ送達させるキャリアとしての活用が可能である。しかしながら、ポリマーナノ粒子表面に2種類の生体分子を共固定し、一つ目の生体反応が二つ目の生体反応を誘起するようなポリマーナノ粒子はまだ開発されていない。本研究では、生体内において診断と治療の双方を同時に行うことができる生体内導入型診断・治療ナノマシンの開発を目指し、表面上で生体反応に応答して機能を発現するポリマーナノ粒子の創製を目的としている(Fig. 1)。このようなポリマーナノ粒子の開発は、患者に与える負担を軽減するだけでなく副作用のない治療が期待される。本報告では、生体反応に応答するためのポリマーナノ粒子の調製及び抗体の固定化について報告する。

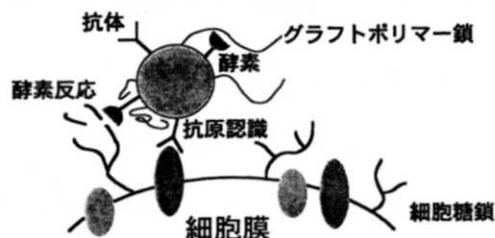


Fig. 1 Schematic representation of treated and diagnosable system using nanoparticles

生体膜類似表面を形成することができ、非特異的生体分子の吸着を抑制しつつ特定の生体分子を固定化できる、2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(MPC)、生体分子固定化ユニットとして

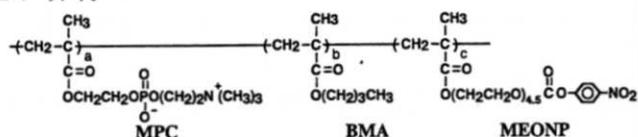


Fig. 2 Chemical structure of PMBN

活性エステルである p-ニトロフェニル基を持つモノマー、乳化剤として界面活性能を持たせるために疎水性のアルキルメタクリレートを利用し、ラジカル重合により水溶性三元リン脂質ポリマー(Fig. 2)を合成した。ポリマーナノ粒子は、一般的に利用されている液中溶媒乾燥法により調製し、乳化する水媒体中のリン脂質ポリマー濃度を調節することにより、生成するポリマーナノ粒子(Fig. 3)の直径を200~250nm、表面電位を-5.0~0.0mV に制御した。得られたポリマーナノ粒子の表面分析を X 線

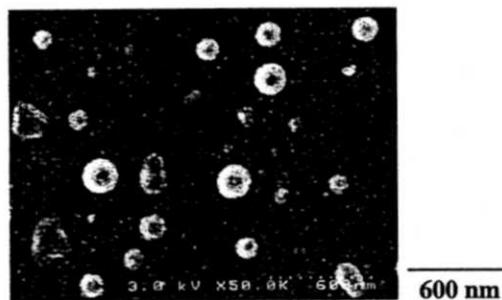


Fig. 3 SEM pictures of PMBN/PLA nanoparticles

光電子分光法により解析し、表面の官能基密度を決定する。

ポリマーナノ粒子に pH8 の条件下で FITC 標識された IgG を反応させた。蛍光測定の結果を Fig. 4 に示す。活性エステル基の存在するポリマーナノ粒子は蛍光強度を確認できた。ポリマーナノ粒子懸濁液に 0.5N NaOH 水溶液を添加し活性エステル基をなくしたポリマーナノ粒子は蛍光強度を確認できなかった。このことからポリマーナノ粒子に抗体を結合できたといえる。ポリマーナノ粒子 1mg/mL

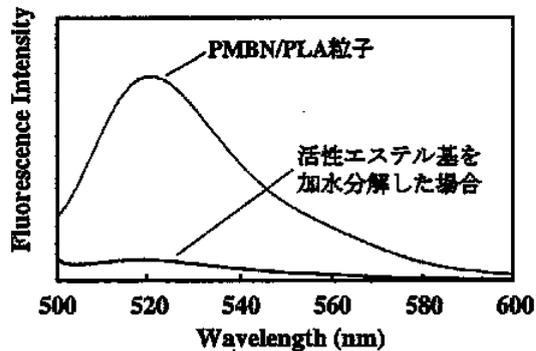


Fig. 4 Fluorescence intensity of IgG-conjugated nanoparticle

あたり 2.3 μ g の抗体が結合していた。さらに抗原を加え 550 nm における透過率を測定した結果(Fig. 4)、抗原を加えてない PMBN/PLA 粒子懸濁液と比較すると、抗体を結合させた PMBN/PLA 粒子懸濁液の透過率があがっていた。このことから PMBN/PLA 粒子に結合した抗体が抗原を認識し凝集反応が起こったと考えられる。以上より PMBN/PLA 粒子を用いてアルカリ条件下にて抗体を結合でき、PMBN/PLA 粒子に結合した抗体は活性を維持したままであることが示唆された。

今後は、ポリマーナノ粒子の構造、抗体の分子認識性、酵素活性発現の効率、グラフトポリマー鎖の応答性などの項目について検討していく。さらに抗原-抗体反応と、これをトリガーとした酵素反応が効果的に連携できるようなポリマーナノ粒子表面の修飾法に主点をおき研究する。最終的には一連のバイオ反応過程を、培養細胞を標的として行う。

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）

Name: Tomomi Ito, Yasuhiko Iwasaki, Tadashi Narita, Kazuhiko Ishihara

Theme: Controlled adhesion of human lymphocytes on electrically charged polymer surface having phosphorylcholine moiety

Journal: Science and Technology of Advanced Materials

Volume 4, Issue 2, Pages 99-104 2003

Name: Tomomi Ito, Yasuhiko Iwasaki, Tadashi Narita, Kazunari Akiyoshi
and Kazuhiko Ishihara

Theme: Cell separation in micro devices coated with electrically charged phospholipid polymers

Journal: Colloids and surfaces B : Biointerfaces (submitted)

(2) 学会等のプロシーディング

Taiwan-Japan Advanced Biomaterials Symposium

Taipei in October 4-5 2004

"Polymer nanoparticles covered with artificial cell membrane for nanobioengineering technology"

Kazuhiko Ishihara, Tomomi Ito, Madoka Takai and Junji Watanabe.

(3) その他（総説・本）

氏名 伊藤 智美

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)

○高分子学会年次大会

神戸 2004年5月 口頭発表

題目: 膜タンパク質に特異的に結合する MPC ポリマーナノ粒子の創製と細胞認識

伊藤智美, 渡邊順司, 高井まどか, 石原一彦, 岩崎泰彦

○高分子学会討論会

北海道 2002年9月 ポスター発表

題目: 分子コミュニケーション機能を有するポリマーナノ粒子

伊藤智美, 渡邊順司, 高井まどか, 石原一彦, 岩崎泰彦