

平成 16 年 3 月 5 日

氏名 宮川 淳



## 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 15 年度リサーチ・アシスタント報告書

ふりがな 氏名	みやがわ あつし 宮川 淳	生 年 月 日
所属機関名	東京大学 生産技術研究所	
所在地	東京都駒場区 4-6-1	
申請時点での 学 年	博士後期課程 1 年	
研究題目	体外循環による血中病原性微粒子除去システムの開発	
指導教官の所属・氏名	東京大学 生産技術研究所 畑中 研一	

## 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)

## (i) ペロ毒素を吸着する糖鎖高分子の合成

ラクトースとガラクトースを原料にして、グロボ三糖誘導体を構築した。グロボ三糖は、病原性大腸菌 O-157 が産生するペロ毒素に特異的に吸着することが知られている。アグリコン部分には、二重結合を持つヘキセニルアルコールを導入した。その後、二重結合の修飾を行い、Fig. 1 に示すような重合性官能基をアグリコンの末端に持つ重合性グロボ三糖誘導体(1)を合成した。また、中空糸材料に糖鎖高分子を固定化する際、その固定化を確認するために重合性蛍光ラベル(2)を合成し、さらに固定化の反応点となる重合性アミン(3)を合成した。これら(1)、(2)、(3)を用い、重合を行うことで、糖鎖高分子を得た。

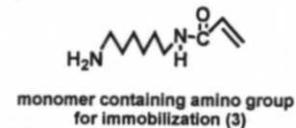
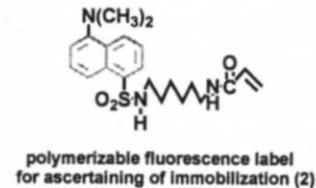
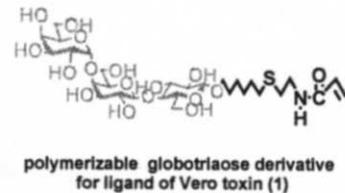


Fig.1 monomers

## (ii) 中空糸への固定化法の確立

現在、固定化酵素やアフィニティークロマトグラフィーなどの発展に伴い、様々な固定化方法がある。その固定化法の中で、①エポキシ基の導入による活性化を行い、固定化をする方法、②カルボキシメチル基の導入による活性化を行い、固定化する方法を用いることとした。水溶液中で行え、透析器を壊すことなく行える反応条件を検討した結果、カルボキシメチル基を導入することにより、効率的に糖鎖高分子の固定化を行えることが確認できた。Fig. 2 に示すように、糖鎖高分子が固定化されると UV を照射することで、蛍光ラベルにより発光する。

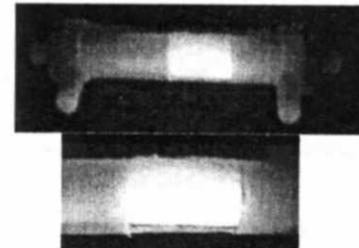


Fig. 2 Dialyzer immobilized glyco-polymers

## (iii) 病原性粒子除去装置の評価

ペロ毒素を特異的に吸着する糖鎖高分子を固定化した透析器の評価を行った。ペロ毒素濃度が  $4 \mu\text{g/mL}$  の 1% BSA-PBS(-) 溶液中を循環させ、逐次サンプリングを行い、溶液の毒性評価を行った。毒性評価方法は、96-well に前培養したペロ細胞に対し、サンプリング溶液を希釈したものを加え、72 時間培養し、WST-8 Cell Counting Kit を用いて、細胞の生存率を決定した。その結果、糖鎖高分子を固定化していない市販の透析器では、毒素の吸着は、全く見られなかったが、糖鎖高分子を固定化した透析器では、ほぼ 100% の細胞の生存を確認でき、毒素が 4 万分の 1 以上に希釈されていることが確認できた。故に、この病原性粒子除去装置は、効率的に毒素を吸着し、溶液中から毒素を除去できることが分かった。

氏 名  
宮川 淳

II (1) 学術雑誌等に発表した論文A (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)

- ① Maria Carmelita Z. Kasuya, Reuben Cusi, Oriie Ishihara, Atsushi Miyagawa, Kazuhiko Hashimoto, Toshinori Sato, Kenichi Hatanaka, Fluorous-tagged compound: a viable scaffold to prime oligosaccharide synthesis by cellular enzymes, *Biochemical and Biophysical Research communication*, in press

(役割: 化合物の合成、及び条件の設定に関与した)

- ② 畑中 研一、松岡 浩司、宮川 淳、病原性微粒子吸着性中空糸及び病原性微粒子除去装置、公開特許、特開 2003-135596

(役割: 実験のすべてを行い、新規高分子を構築した)

氏 名

宮川 淳

II (2) 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 宮川 淳、畑中 研一、糖鎖高分子を用いたベロ毒素除去装置の開発、高分子学会、名古屋、2003年5月28～30日
- ② 宮川 淳、渡邊 美帆、猪飼 桂、粕谷 マリア カルメリタ、西川 喜代孝、名取 泰博、畑中研一、病原性大腸菌 O-157 感染症治療への新たなるアプローチ、高分子学会、山口、2003年9月24～26日
- ③ Atsushi MIYAGAWA, Maria Carmelita Z. KASUYA, Koji MATSUOKA and Kenichi HATANAKA, Synthesis of Globotriose-Containing Polymer and Its Immobilization on Cellulose, THE FIRST INTERNATIONAL CONGRESS ON BIO-NANOINTERFACE, TOKYO, 2003/05/19-24
- ④ Atsushi MIYAGAWA, Maria Carmelita Z. KASUYA, Koji MATSUOKA and Kenichi HATANAKA, Dialyzer as Shiga toxin Eliminator using Glyco-Polymer, EAST ASIAN SYMPOSIUM ON POLYMERS FOR ADVANCED TECHNOLOGIES, TOKYO, 2003/09/8-12
- ⑤ Atsushi MIYAGAWA, Maria Carmelita Z. KASUYA, Koji MATSUOKA and Kenichi HATANAKA, DEVELOPMENT OF DIALYZER AS VEROTOXIN ELIMINATOR USING GLYCOCONJUGATE POLYMER, 12th European Carbohydrate Symposium, France, 2003/07/6-11