

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
分担研究報告書

「革新的医療機器開発を加速する規制環境整備に関する研究」

研究分担者 石原 一彦 東京大学大学院工学系研究科・教授

研究要旨

タンパク質吸着現象には、材料表面における水分子のネットワーク構造(水和構造)と材料表面近傍で働く分子間相互作用(表面相互作用)が強く関与する。本研究では、材料表面におけるこれら二つの特性がタンパク質吸着挙動に果たす役割を定量的に解析することを目的とする。このような微細な特性を正確に解析するために、構造が明確であると同時に、広範囲にわたり界面科学的特性を制御できる高密度ポリマーブラシ構造を、ポリマー表面のモデルとして一貫して使用する。表面特異的な水和構造を解析するため、マイクロオーダーのシリカ粒子を用いてナノオーダーの微小空間を構築し、そこに封入された水分子の特性を核磁気共鳴法により高い時間分解能で評価する方法論の確立を行った。これにより、シリカ粒子表面を覆ったポリマーブラシ層の特性に強く影響されたナノ間隙水の磁気緩和時間や自己拡散係数を定量的に評価した。また、分子間もしくは表面相互作用力を解析するため、様々な分子を固定化したプローブと材料表面間にナニュートンオーダーで働く相互作用力を原子間力顕微鏡(AFM)のフォースカーブ測定により定量する方法論の確立を行った。これにより、様々な分子と材料表面間に働く相互作用力が、タンパク質吸着挙動に与える影響について評価した。このような解析を通してタンパク質吸着挙動を正確に理解することで、医療機器開発に関する規制環境の整備に貢献する。

A．研究目的

バイオマテリアルが生体環境と接した際に誘起される細胞レベルの初期生体反応の多くに吸着タンパク質層の特性が関連している。つまり、材料表面における生体反応を高度に規定し、医療機器開発に関する規制環境を整備するためには、タンパク質吸着過程を正確に把握することが必要不可欠である。材料表面の吸着タンパク質層は、タンパク質が材料表面と直接相互作用して形成される単層吸着層と、単層吸着層を形成するタンパク質の変性等を引き金として起こる多層吸着層から形成される。このよ

うなタンパク質吸着層の成り立ちから、タンパク質吸着過程を正確に理解するためには、材料表面における吸着タンパク質の量、組成、分布、コンフォメーション、配向などの静的な特性評価はもとより、タンパク質の競争的吸着や吸着後の変性過程などに関わる動的な特性の解析が重要である。しかしながら、タンパク質吸着の動的特性は、静的特性の経時的変化として解析されることが多く、水を媒体として作用し、タンパク質の溶存状態での高次構造の維持、材料表面へのタンパク質吸着や吸着タンパク質のコンフォメーション変化に大きな影響を

与える分子間相互作用の観点からは明確にされていない。

そこで本研究では、材料表面における水分子のネットワーク構造(水和構造)と材料表面近傍で働く分子間相互作用(表面相互作用力)が、タンパク質吸着挙動に与える影響を定量的に解析することを目的とする。

材料表面における水和構造や表面相互作用力は非常に微細である。つまり、これらを定量的に分析するためには構造明確な表面が必要不可欠である。本研究では、構造が明確であると同時に、広範囲にわたり界面科学的特性を制御できる高密度ポリマーブラシ構造を、ポリマー表面のモデルとして一貫して使用する。

表面特異的な水和構造を解析するため、マイクロオーダーのシリカ粒子を用いてナノオーダーの微小空間を構築し、そこに封入された水分子の特性を核磁気共鳴法により高い時間分解能で評価する方法論の確立を行った。これにより、シリカ粒子表面を覆ったポリマーブラシ層の特性に強く影響されたナノ間隙水の磁気緩和時間や自己拡散係数を定量的に評価した。また、分子間もしくは表面相互作用力を解析するため、現在界面科学の研究分野で大きな発展を遂げているコロイドプローブ科学に着目し、様々な分子を固定化したプローブと材料表面間にナニュートンオーダーで働く相互作用力を原子間力顕微鏡(AFM)のフォースカーブ測定により定量する方法論の確立を行った。これにより、様々な分子と材料表面間に働く相互作用力が、タンパク質吸着挙動に与える影響について評価した。

B . 研究方法

1. ポリマーブラシ表面の構築

シリコン基板、シリカ粒子(直径：2、10 または 20 μm)および金表面に原子移動ラジカル重合(ATRP)の開始基を固定した後、表面開始型 ATRP (SI-ATRP)法を用いて、図 1 に示すポリマーブラシ構造を構築した。ポリマーブラシ構造を構築する際のモノマー濃度とフリー重合開始剤の比を制御することで、種々の分子量を有するグラフト鎖からなるポリマー層を表面に構築した。ここで、双性イオン性モノマーとして、2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) (ホスホベタイン型)、*N*-methacryloyloxyethyl *N,N*-dimethyl ammonium- α -*N*-methyl carboxylate (CBMA) (カルボキシベタイン型)および [2-(methacryloyloxy) ethyl] dimethyl-(3-sulfopropyl) ammonium hydroxide (SBMA) (スルホベタイン型)を、非電解質親水性モノマーとして 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) (ヒドロキシル基)および oligo(ethylene glycol) methyl ether methacrylate (mOEGMA) (オリゴエチレングリコール鎖)を、カチオン性モノマーとして、2-trimethylammoniumethyl methacrylate (TMAEMA) (トリメチルアンモニウム基)を、アニオン性モノマーとして、3-sulfopropyl methacrylate (SPMA) (スルホプロピル基)を、疎水性モノマーとして、*n*-butyl methacrylate (BMA) (ブチル基)をそれぞれ用いた。

作製したポリマーブラシ表面の物理化学的な構造を X 線光電子分光(XPS)測定、原子間力顕微鏡(AFM)および分光エリブソメーターにより評価した。水中の表面特性評

価として、動的接触角測定および表面ゼータ電位測定(10 mmol/L の NaCl 水溶液中)を行った。

2. 水和構造解析

様々な膜厚のポリマーブラシ構造を構築したシリカ粒子(直径: 2 または 10 μm)を NMR 管に詰め、脱気した純水を加え、ポリマーブラシ層を水和させた。サンプルによっては 3500 rpm で 10 分間遠心し、シリカ粒子を充填させた。このように調製した NMR チューブを NMR 装置に設置し、37°C に保持した後、サンプルに含まれる水分子のスピン - 格子緩和時間(T1)および自己拡散係数(D)を測定した。

3. ポリマーブラシ表面近傍の表面相互作用力測定

図 1 に示したポリマーブラシ層のうち、poly(MPC)、poly(TMAEMA)、poly(SPMA) および poly(BMA) ブラシ表面を構築した直径 20 μm のシリカ粒子をプローブレスカンチレバーの先端に手動で固定化した。カンチレバー先端に存在するポリマーブラシ層と同じポリマーブラシ層をシリコン基板表面に構築し、様々な塩濃度の水環境下において両者の間に生じるフォースカーブ曲線を取得した。

4. タンパク質吸着量の定量

水晶振動子マイクロバランス(QCM-D)を用いて、ポリマーブラシ表面に対するタンパク質吸着量を定量した。ポリマーブラシ層を構築した金センサー基板を QCM-D 装置に設置後、リン酸緩衝生理食塩水(PBS、pH 7.4)を用いてベースラインを測定した。

45 mg/mL の濃度に調製されたウシ血清アルブミン(BSA)の PBS 溶液を 30 分間接触させた後、センサー表面を PBS で洗浄した。タンパク質溶液との接触前後の振動数変化をタンパク質吸着量とし、「タンパク質吸着量(ng/cm^2) = 17.7 x 振動数変化(Hz)」の変換式を用いて定量的にタンパク質吸着量を評価した。

5. 官能基との直接的な相互作用

3 に示した方法により、プローブレスカンチレバーの先端に直径が 20 μm の未修飾シリカ粒子を手動で固定化し、そこに接着層としてクロムを 3.0 nm、続いて金薄膜を 27 nm スパッタした。同カンチレバー表面に、11-mercapto-undecanoic acid、11-amino-1-undecanethiol (hydrochloride)、および 1-dodecanethiol のエタノール溶液(1.0 mmol/L)を用いて、それぞれカルボキシル基、アミノ基およびメチル基末端の自己組織化単分子(SAM)膜を形成した。室温の PBS 中におけるフォースカーブ測定により、各ポリマーブラシ表面に対する離脱時のフォースカーブを取得した。

6. タンパク質との直接的 / 間接的な相互作用評価

各ポリマーブラシ表面に関して、タンパク質との直接的 / 間接的な相互作用を評価した。タンパク質として、ウシ血清アルブミン(BSA)およびニワトリ卵白由来リゾチーム(Lys)を使用し、これらのタンパク質を化学的に固定化したカンチレバー(曲率半径: 50 nm)を作製した。室温の PBS 中におけるフォースカーブ測定により、各ポリ

マーブラシ表面に対する接近および離脱時のフォースカーブを取得した。

(倫理面への配慮)

本研究は、合成高分子やタンパク質を使用するものであるため、倫理面に関して特段の配慮は不要であると判断した。

C. 研究結果およびD. 考察

1. ポリマーブラシ表面の構造および特性

得られたポリマーブラシ表面の XPS チャートに、各モノマーユニットに特異的な元素ピークが検出された。また、ポリマーブラシ表面は乾燥状態で比較的小さい凹凸構造であり、表面粗さの指標である RMS 値は 1.0 nm 以下であった。表 1 に示すように、エリプソメトリーによる乾燥膜厚解析から、各ポリマーブラシ表面のグラフト密度はすべて 0.10 chains/nm² 以上であった。グラフト密度とポリマー鎖の断面積から概算した表面被覆率は、すべての表面において 30% を超え、非常に高い値とあった。これらの結果は、作製されたポリマーブラシ基板が高密度領域にあることを示した。

表 1 には、膜厚が 5.0 nm 程度の各ポリマーブラシ表面の動的接触角および表面電位も併記した。Poly(BMA)を除くポリマーブラシ基板の後退接触角は低い値を示し、水中で高い親水性を示すことがわかった。表面電位に関しては、カチオン性の poly(TMAEMA)ブラシ層が 40 mV を超える表面電位を示し、アニオン性の poly(SPMA)ブラシ層は強い負電荷を持つ表面であった。一方、非イオン性およびスルホベタイン構造のポリマーブラシ表面が -10 mV 程度と多少アニオン性であった。弱

酸 - 弱塩基の組み合わせからなるホスホベタインやカルボキシベタイン構造を有するポリマーブラシ表面はほぼ中性であった。

このように、高密度ポリマーブラシ層により、均一な構造を有し、ポリマー鎖の配置がナノメートルオーダーで明確である表面を構築した。また、様々な化学構造を有するグラフト鎖を配置することで、濡れ性や表面電位などに代表される界面科学的な表面特性を広範囲に制御した。

2. 水和構造解析

図 2 に膜厚が 5.0 nm 程度のポリマーブラシ層近傍の水分子の自己拡散定数を示す。水分子の運動性に対応する自己拡散係数は、カチオン性の poly(TMAEMA)ブラシ表面およびアニオン性の poly(SPMA)ブラシ表面のイオン性ポリマーブラシ表面で非常に小さい値となった。つまり、これらの表面では水分子がポリマー鎖と強く相互作用し、その運動性が抑制されていることが示唆された。非イオン性の poly(HEMA)ブラシ表面の水分子は、今回のポリマーブラシ表面の中で最大の自己拡散係数を示した。ここで、poly(HEMA)ブラシ表面は、そのポリマー鎖が非水溶性であるという点で他の水溶性ポリマーブラシ表面と異なる。このため、poly(HMEA)ブラシ近傍の水和様式は他と異なると考えられる。水溶性ポリマーブラシ表面の中で、オリゴエチレングリコール鎖を有する poly(mOEGMA)ブラシ表面や双性イオン性のポリマーブラシ表面の水分子は、大きな自己拡散定数を有しており、水分子が高い運動性を有することがわかった。これは適度な水素結合性水和やイオン性水和、疎水性水和が影響を与えてい

ると考えられる。

間隙に封入された水は、ポリマーブラシ層内部の水、ポリマーブラシ層最表面付近の水、およびポリマーブラシ層と相互作用していない水からなると考えられる。重合度が 50 から 200 の範囲で作製したポリマーブラシ層の厚さは 5 から 20 nm 程度であるが、直径が 10 μm のシリカ粒子が形成する間隙のサイズは最大で 800 nm である。これは、間隙内に封入された水分子の大部分が表面に存在するポリマー鎖と相互作用しない自由水であることを意味する。このため、現状では 3500 ms 程度の T1 値を有する純水の影響を強く受け、T1 値が大きく見積もられる可能性がある。このような事態を解決するため、シリカ粒子の直径を変化させたり、遠心を利用しシリカ粒子のパッキングを密にしたり、またはブラシ層の厚さを変化させたりするなどの改変が今後必要であると考えられる。

3. ポリマーブラシ表面近傍の表面相互作用力測定

図 3 に、純水およびイオン強度が異なる PBS (1.5 mmol/L および 150 mmol/L) 中において、同種のポリマーブラシ表面の接近時のフォースカーブを示す。ただし、poly(BMA)表面に関しては、接近時および離脱時のフォースカーブを示す。カチオン性の側鎖を有する poly(TMAEMA) ブラシ表面およびアニオン性の側鎖を有する poly(SPMA) ブラシ表面では、純水中において 100 nm 以上の距離から強い斥力が観測され、溶液のイオン強度の増加に伴い斥力の強さと伝播距離が低下した。これは、これらの斥力が主として静電的な力、つまり

静電的相互作用に由来するものであることを示している。また、疎水性の側鎖を有する poly(BMA) ブラシ表面では、純水中において接近時には力が観測されなかったが、接触後、離脱時のみに強い引力が観測された。この引力は水中で疎水性表面間に働く疎水性相互作用に起因するものであると考えられる。また、図 4 に示す離脱時のフォースカーブから、カチオン性の側鎖を有する poly(TMAEMA) ブラシ表面およびアニオン性の側鎖を有する poly(SPMA) 表面には、poly(BMA) ブラシ層で検出された離脱時の強い引力が検出されなかった。一方、双性イオン性の側鎖を有する poly(MPC) ブラシ表面では、このような特徴を示すフォースカーブが観察されなかった。すなわち、静電的・疎水的な相互作用に由来する力は全く観測されなかった。

これらの結果から、カチオン性およびアニオン性ポリマーブラシ表面には、静電的相互作用のみが、疎水性ポリマーブラシ表面には疎水性相互作用のみが働き、双性イオン性ポリマーブラシ表面にはこのような相互作用が全く働いていないことが明らかとなった。

4. タンパク質吸着量

図 5 に、ポリマーブラシ表面への BSA の吸着量の定量結果を示す。双性イオン型ポリマーブラシ表面には 20 から 40 ng/cm^2 程度のタンパク質が吸着した。非イオン型ポリマーブラシ表面の中で、poly(HEMA) ブラシ表面には 80 ng/cm^2 程度のタンパク質が吸着したが、poly(mOEGMA) ブラシ表面は 20 ng/cm^2 程度のタンパク質吸着量であった。BSA の理論単層吸着量は 270

ng/cm²程度である。このことから、双性イオン性および非イオン性ポリマーブラシ表面は BSA の吸着が単層以下に抑制されたことがわかった。一方、イオン性ポリマーブラシ表面のタンパク質吸着量は、アニオン性の側鎖を有する poly(SPMA)ブラシ表面で 290 ng/cm²程度であり、カチオン性の側鎖を有する poly(TMAEMA)ブラシ表面で 1200 ng/cm²に達した。つまりアニオン性表面には単層の、カチオン性表面には多層のタンパク質吸着層が形成された。BSA が生理条件下で負に帯電していることから、カチオン性ポリマーブラシ表面との静電的な相互作用により多層吸着層が形成されたと考えられる。

5. タンパク質との直接的 / 間接的な相互作用評価

図 6 にポリマーブラシ表面とタンパク質との間の代表的なフォースカーブを、図 7 に離脱時のフォースカーブから得られる直接的相互作用力を示す。ここでは、生理条件下でそれぞれ全体として、負の正味電荷を有するタンパク質である BSA に加えて、正の正味電荷を有する Lys を用いた。図 7 に示すように、ポリマーブラシ表面とタンパク質との相互作用は、その組み合わせにより大きく異なった。BSA との相互作用はカチオン性の側鎖を有する poly(TMAEMA)ブラシ表面で最大であった。これは、poly(TMAEMA)表面の正電荷と BSA の有する負電荷との間の静電的な引力に起因すると考えられる。また、アニオン性の側鎖を有する poly(SPMA)ブラシ表面に対する BSA の相互作用は小さかった。これは、負電荷同士の斥力に起因する

と考えられる。一方、正の正味電荷を有する Lys は、疎水性の側鎖およびアニオン性の電位を有する poly(BMA)ブラシ表面と強く相互作用した。しかしながら、Lys と poly(SPMA)との相互作用は非常に小さかった。この理由は現時点では明らかではないが、塩強度の強い PBS 中にて、溶液中に存在するイオンにより静電的な相互作用が遮蔽されていることが考えられる。タンパク質の正味電荷に関わらず、双性イオン性の側鎖を有する poly(MPC)ブラシ表面はタンパク質との相互作用が非常に小さかった。

双性イオン性および非イオン性ポリマーブラシ表面に関して、BSA の吸着量および吸着力の関係を図 8 に示す。図 8 より、タンパク質吸着力の減少に伴い、タンパク質吸着量が減少した。つまり、単層以下の吸着量は、表面とタンパク質との直接的な相互作用により決まることが示唆された。一方、多層吸着層が形成したイオン性表面は図 8 に示す相関から外れた。これは、吸着力が表面との直接的な相互作用を評価するのに対して、吸着量は表面に吸着したすべてのタンパク質を評価することに起因すると考えられる。これらに関してより詳細かつ系統的な解析を行うためには、タンパク質をあらかじめ吸着させた基板とタンパク質との相互作用解析などが必要不可欠である。

図 6 に示すフォースカーブのうち、接近時のフォースカーブに着目すると、ほとんどの組み合わせで、タンパク質とポリマーブラシ表面との間に引力を観測することはなかった。すなわち、これらの表面における静電的あるいは疎水的な相互作用はタンパク質を引き付ける駆動力としてではなく、

接触後の離脱を妨げる力として働いていることが明らかとなった。

6. ポリマーブラシ表面と官能基との直接的相互作用

様々な官能基により修飾されたプローブを用いてフォースカーブ測定を行い、ポリマーブラシ表面と官能基との間に働く相互作用を定量的に評価した(図 9)。選択した官能基はカルボキシル(COOH)基、アミノ(NH₂)基およびメチル(CH₃)基であり、これらはタンパク質中に多く存在する代表的な官能基であると同時に、それぞれアニオン性、カチオン性および疎水性の特性を有するため、静電的相互作用や疎水性相互作用の指標になると考えられる。双性イオン性の側鎖を有する poly(MPC) ブラシ表面はいずれの官能基との相互作用も極めて小さかった。この結果から、poly(MPC) ブラシ表面では静電的相互作用や疎水性相互作用に由来する力がほとんど働かないことが示唆される。また、水中の気泡の接触角および表面電位から、これらの表面が水環境下において高い親水性かつ電気的に中性を有する表面であったこととも一致する。カチオン性の側鎖を有する poly(TMAEMA) ブラシ表面はカルボキシル基との特に強い相互作用を示した。これは、poly(TMAEMA)の側鎖に存在する正電荷と、解離したカルボキシル基(COO⁻)の負電荷との間に強い静電的引力が働いていることを示す。疎水性の側鎖を有する poly(BMA) ブラシ表面はメチル基およびアミノ基との強い相互作用を示した。メチル基との強い相互作用は、水中において働く疎水性相互作用に由来すると考えられる。同時に表 1 に示したように、

poly(BMA) ブラシ表面はアニオン性であったため、プロトン化したアミノ基(NH₃⁺)の正の電荷との間の静電的相互作用に由来する力が働いたと考えられる。一方で、アニオン性の側鎖を有する poly(SPMA) ブラシ表面は PBS 中ではいずれの官能基との相互作用も示さなかった。しかしながら、純水中においては poly(SPMA) ブラシ表面とアミノ基との強い相互作用が観測された。このため、poly(SPMA) 表面では、塩強度の強い PBS 中において、静電的相互作用が静電遮蔽の効果を受けているものと考えられる。以上のように、様々な官能基で修飾されたプローブを用いたフォースカーブ測定により、ポリマーブラシ表面に働く分子間相互作用の一部を定量的に明らかとした。

バイオマテリアル表面における官能基レベルの相互作用が、タンパク質との相互作用に与える影響を定量的に評価することは、タンパク質吸着挙動のさらなる理解へと繋がる。図 10 に、ポリマーブラシ表面におけるタンパク質の相互作用と官能基との相互作用の総和との関係を示す。図 10 より、官能基との相互作用の総和が小さいポリマーブラシ表面と大きいポリマーブラシ表面に分けることができる。官能基との相互作用の総和が小さいポリマーブラシ表面は、タンパク質の正味電荷によらず、タンパク質との相互作用が小さいことが示された。一方、官能基との相互作用の総和が大きいポリマーブラシ表面では、同等の総和であってもポリマーブラシ表面とタンパク質との組み合わせにより、その関係が大きく変化した。つまり、負電荷の乖離カルボキシル(COO⁻)基と強く相互作用する poly(TMAEMA) ブラシ表面は、負の正味電

荷を有する BSA と強く相互作用し、疎水性のメチル基および正電荷のプロトン化アミノ(NH₃⁺)基と強く相互作用する poly(BMA) ブラシ表面は、正の正味電荷を有する Lys と相互作用した。これは、突出した相互作用を有する官能基との相互作用が、タンパク質との相互作用を決定することを示唆する結果である。このような結果から、タンパク質との非特異的な相互作用を排除するためには、官能基レベルの相互作用を回避する必要があることが示された。

E . 結論

構造明確かつ広範囲にわたる表面特性を有するポリマーブラシ構造を用いることで、表面特異的な水和構造および表面相互作用力がタンパク質吸着挙動に与える影響を解析した。イオン性のポリマーブラシ表面には静電的相互作用のみが、疎水性のポリマーブラシ表面には疎水性相互作用のみが働き、双性イオン性ポリマーブラシ表面にはこのような相互作用が働いていないことが明らかとなった。加えて、イオン性ポリマーブラシ表面近傍の水分子はその運動性が著しく抑制されていることがわかった。表面に働く相互作用は、タンパク質を引き付ける駆動力としてではなく、接触後の離脱を妨げる力として働いていることが明らかとなった。また、官能基レベルの相互作用が、タンパク質との相互作用に直結していることがわかった。さらに、タンパク質と表面との間に働く相互作用がタンパク質の吸着量と相関することが示された。以上より、タンパク質の離脱時の分子間相互作用を誘起しない表面の設計がタンパク質吸着の抑制に重要であることが定量的に明らかとなった。

F . 研究発表

1. 論文発表

○Kazuomi Inoue, Yuuki Inoue, Kazuhiko Ishihara, "Effects of dynamics of water molecules at hydrophilic polymer brush surfaces on protein adsorption behavior", *Trans. Mater. Res. Soc. Jpn.* 37(3) 333-336 (2012).

○Sho Sakata, Yuuki Inoue, Kazuhiko Ishihara, "Quantitative Evaluation of Interaction Force between Functional Groups in Protein and Polymer Brush Surfaces", *Langmuir*, 30, 2745-2751, (2014) ([dx.doi.org/10.1021/la404981k](https://doi.org/10.1021/la404981k)).

○Sho Sakata, Yuuki Inoue, Kazuhiko Ishihara, "Nano-scale Molecular Interaction Force Measurement for Analysis of Protein Adsorption on the Surfaces", *Trans. Mat. Res. Soc. Japan* 39[2] 185-188 (2014).

○Sho Sakata, Yuuki Inoue, Kazuhiko Ishihara, "Molecular Interaction Forces Generated during the Protein Adsorption to Well-defined Polymer Brush Surfaces", *Langmuir*, in press (2015) ([dx.doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b00351](https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b00351)).

2. 学会発表

○Sho Sakata, Yuuki Inoue, Kazuhiko Ishihara, "Interaction forces related to protein adsorption on polymer brush surfaces", *The Society For Biomaterials 2013 Annual Meeting and Exposition: Biomaterials Revolution, Boston, USA, 2013/4/10-13.*

○坂田翔、井上祐貴、石原一彦、「種々の力が作用するポリマーブラシ表面へのタンパク質の吸着挙動」、第 62 回高分子学会年次大会、京都、2013/5/29-31.

○坂田翔、井上祐貴、石原一彦、「タンパク質非吸着を実現する表面相互作用力の定量解析」、第 62 回高分子討論会、金沢、2013/9/11-13.

○Sho Sakata, Yuuki Inoue, Kazuhiko Ishihara, "Nano-force Analysis for Understanding Protein-Materials Interactions", 2nd International Symposium on Nanomedicine Molecular Science 2013, Tokyo, Japan, 2013/10/8-10.

○井上祐貴、坂田翔、石原一彦、「タンパク質吸着の AFM ナノフォース解析」、第 35 回バイオマテリアル学会大会、東京、2013/11/25-26.

○坂田翔、井上祐貴、石原一彦、「タンパク質吸着の理解を目指したナノスケールの相互作用力解析手法の確立」、第 23 回日本 MRS 年次大会、横浜、2013/12/9-11.

○Sho Sakata, Yuuki Inoue, Kazuhiko Ishihara, "Surface Interaction Forces Governing Protein Adsorption Analyzed by Direct Force Measurement", The Society For Biomaterials 2014 Annual Meeting and Exposition: Pioneering the Future of Biomaterials, Denver, USA, 2014/4/16-19.

○坂田翔、井上祐貴、石原一彦、「表面で観測される力の解析に基づくタンパク質非吸着表面の創製」、第 63 回高分子学会年次大会、名古屋、2014/5/28-30.

○坂田翔、井上祐貴、石原一彦、「タンパ

ク質吸着における分子間相互作用力の役割」、第 43 回医用高分子シンポジウム、東京、2014/7/28-29.

○坂田翔、井上祐貴、石原一彦、「ポリマー表面における分子間相互作用力の精密解析とタンパク質吸着プロセスの理解」、第 63 回高分子討論会、長崎、2014/9/24-26.

○坂田翔、井上祐貴、石原一彦、「種々の分子間相互作用力に基づくタンパク質吸着プロセスの理解」、第 36 回バイオマテリアル学会大会、東京、2014/11/17-18.

○井上祐貴、石原一彦、「マテリアル表面近傍の水和構造がタンパク質との相互作用に与える影響」、第 36 回バイオマテリアル学会大会、東京、2014/11/17-18.

○Sho Sakata, Yuuki Inoue, Kazuhiko Ishihara, "Analysis of protein adsorption force generated at polymer surfaces for designing non-biofouling surfaces", The 10th International Polymer Conference, Tsukuba, Japan, 2014/12/2-5.

○Kazuhiko Ishihara, Sho Sakata, Yuuki Inoue, "Nanoforce measurements for understanding protein adsorption at the biocompatible surface", 8th International Symposium on Nanomedicine, Matsuyama, Japan, 2014/12/4-6.

○坂田翔、井上祐貴、石原一彦、「タンパク質吸着プロセスの理解を目指した分子間相互作用力の解析」、第 24 回日本 MRS 年次大会、横浜、2014/12/10-12.

G . 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録

なし

なし

3.その他

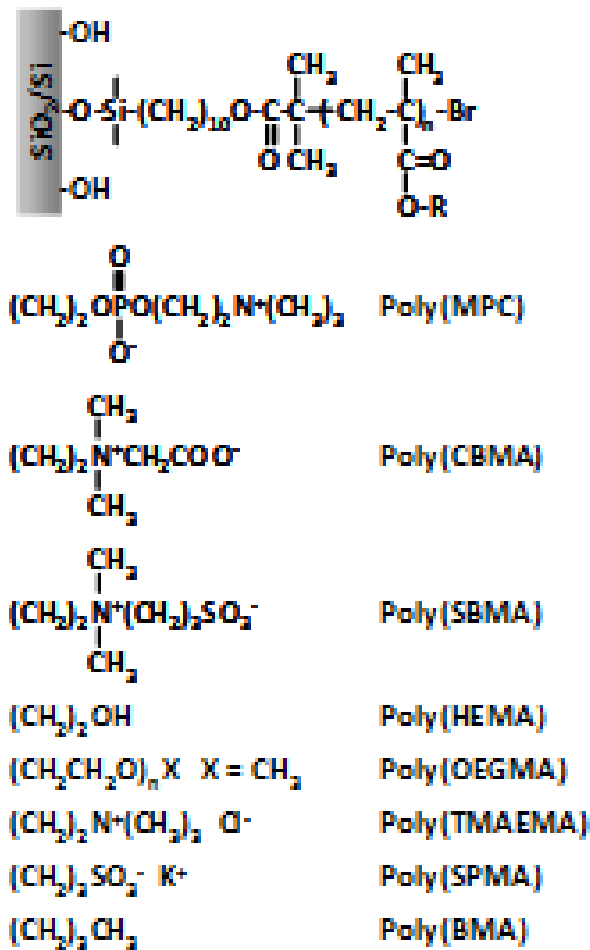


図1. ポリマーブラシ層の化学構造.

表1. ポリマーブラシ層の構造と特性.

Polymer	Graft density (chains/nm ²)	Surface coverage	DCA (°)			ζ-potential (mV)
			θ_{adv}	θ_{rec}	θ_{hys}	
Poly(MPC)	0.26	39%	21	17	4	-3.6
Poly(CBMA)	0.67	74%	22	16	6	-1.8
Poly(SBMA)	0.48	69%	23	17	6	-7.8
Poly(HEMA)	0.79	59%	65	24	41	-4.4
Poly(mOEGMA)	0.36	65%	50	37	13	-3.5
Poly(TMAEMA)	0.31	37%	62	19	43	45
Poly(SPMA)	0.47	70%	30	28	2	-74
Poly(BMA)	0.75	62%	90	70	20	-37

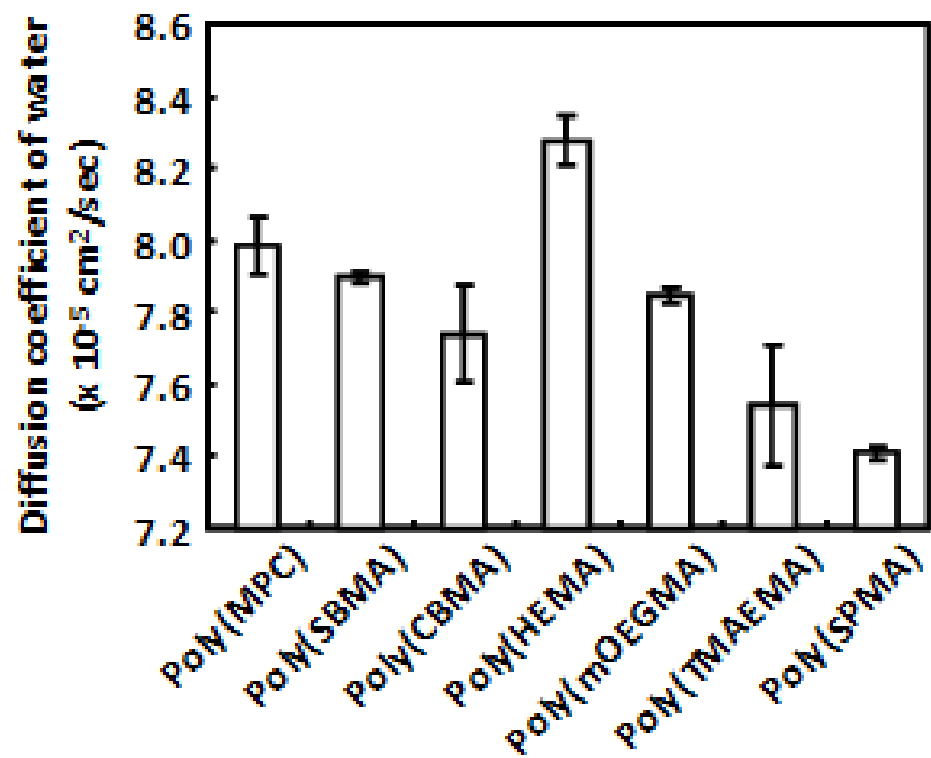


図2. ポリマーブラシ表面における水分子の自己拡散係数.

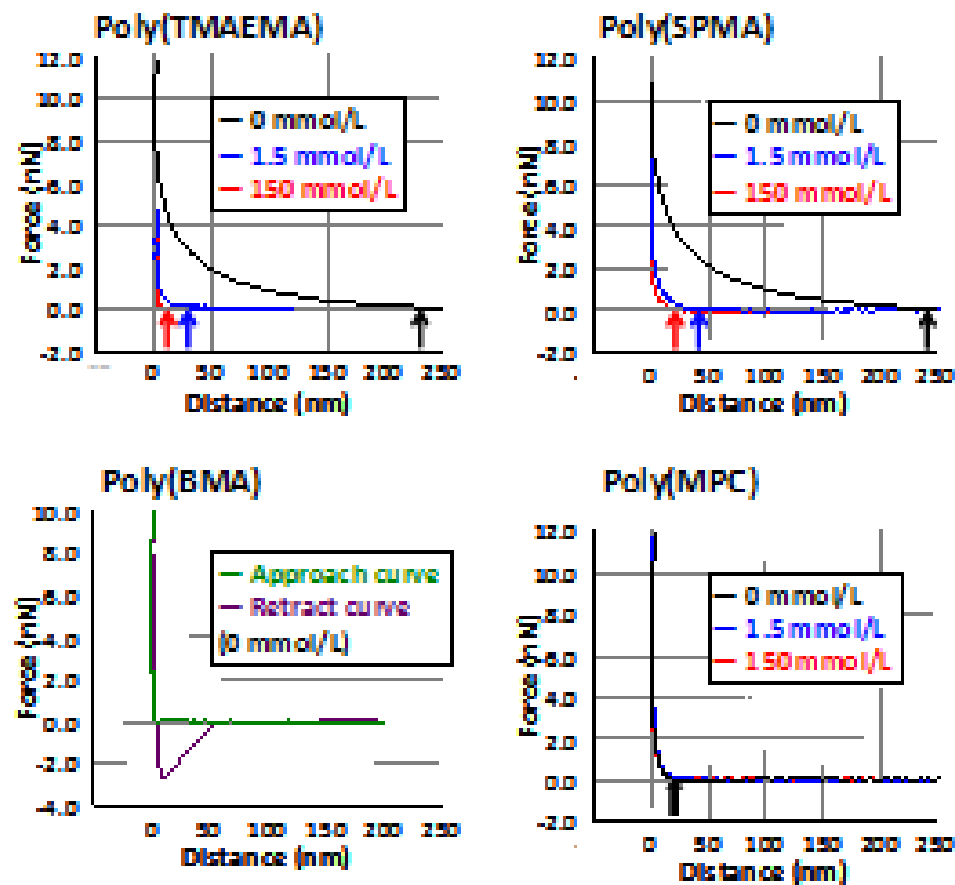


図3. 同種ポリマーブラシ表面同士の接近時のフォースカーブ。ただし、poly(BMA)においては、接近および離脱の際のフォースカーブを示す。

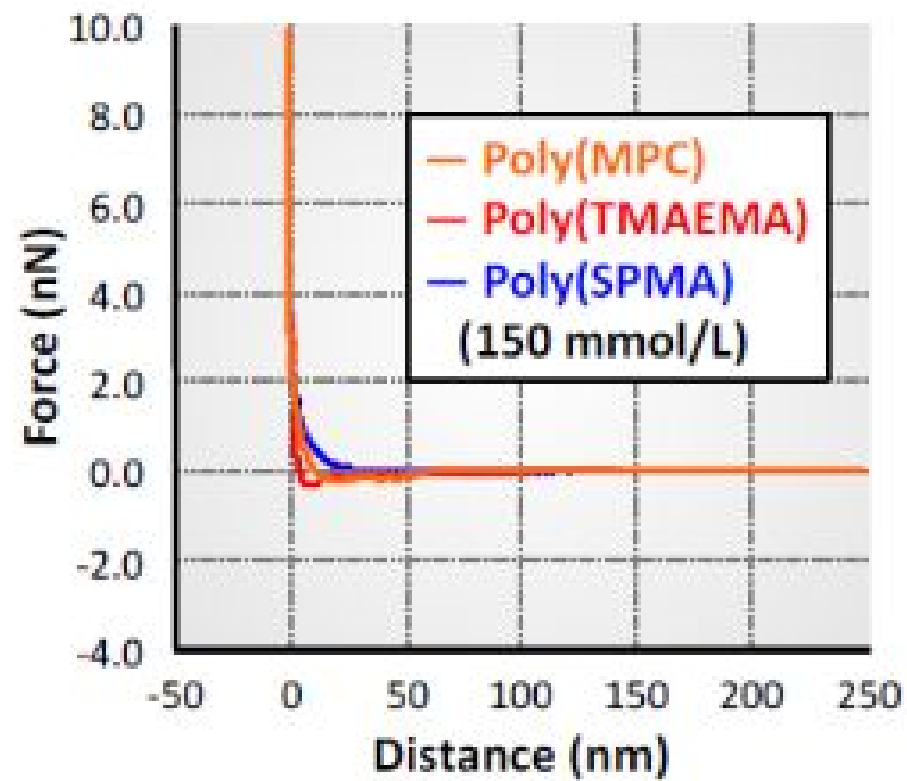


図4. 同種ポリマーブラシ表面同士の離脱時のフォースカーブ.

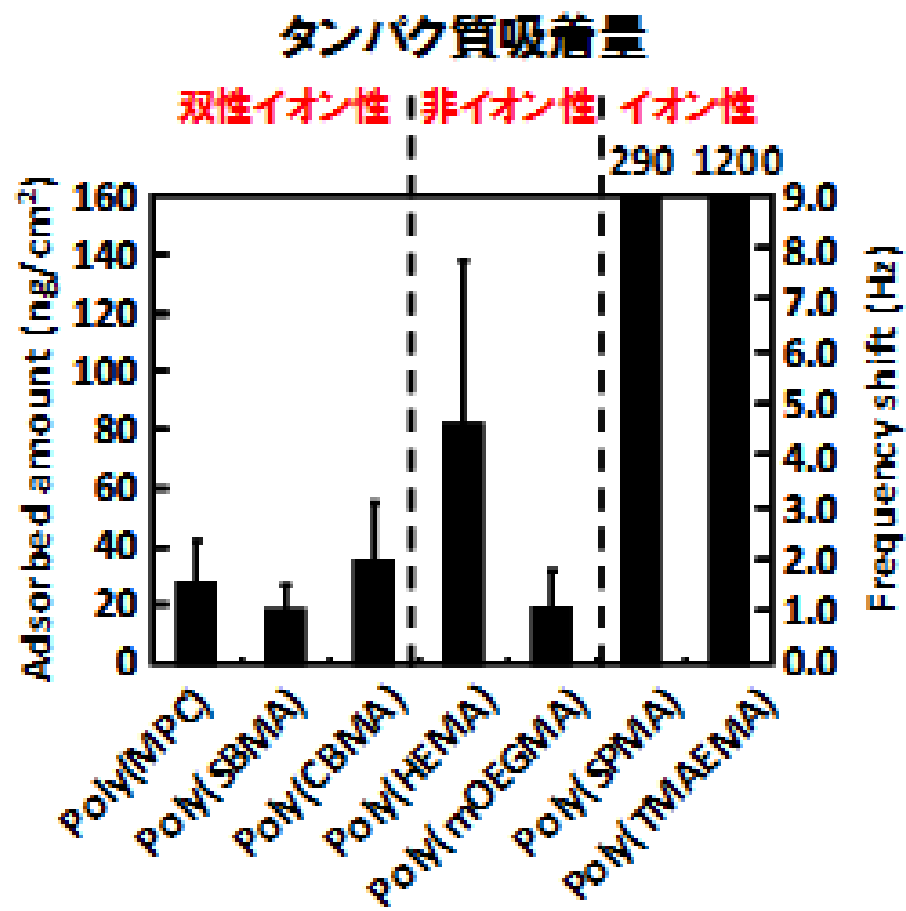


図5. 種々のポリマーブラシ表面へタンパク質吸着量.

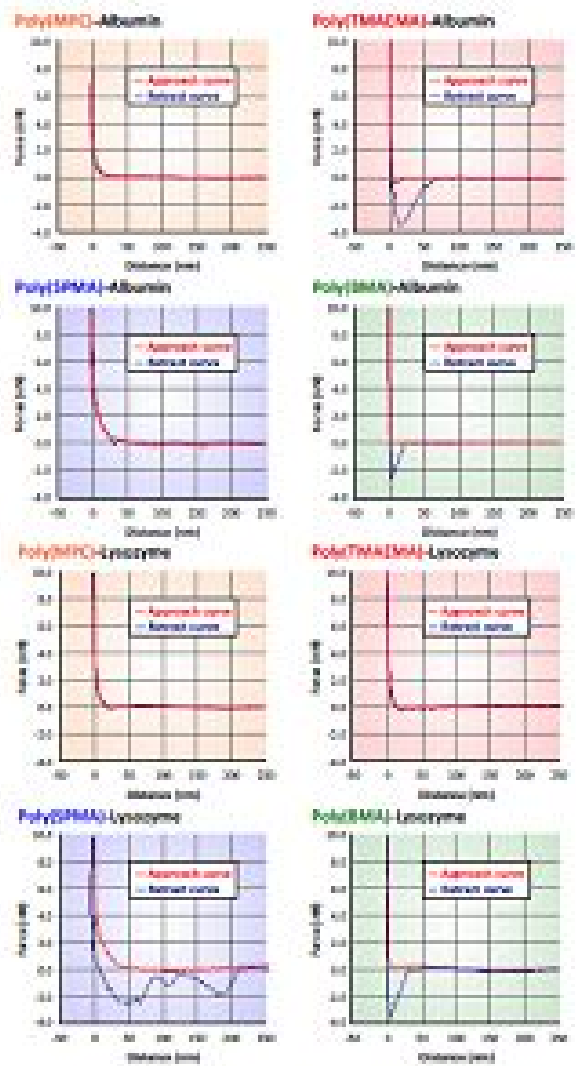


図6. 各ポリマーブラシ層とタンパク質との間のフォースカーブ。

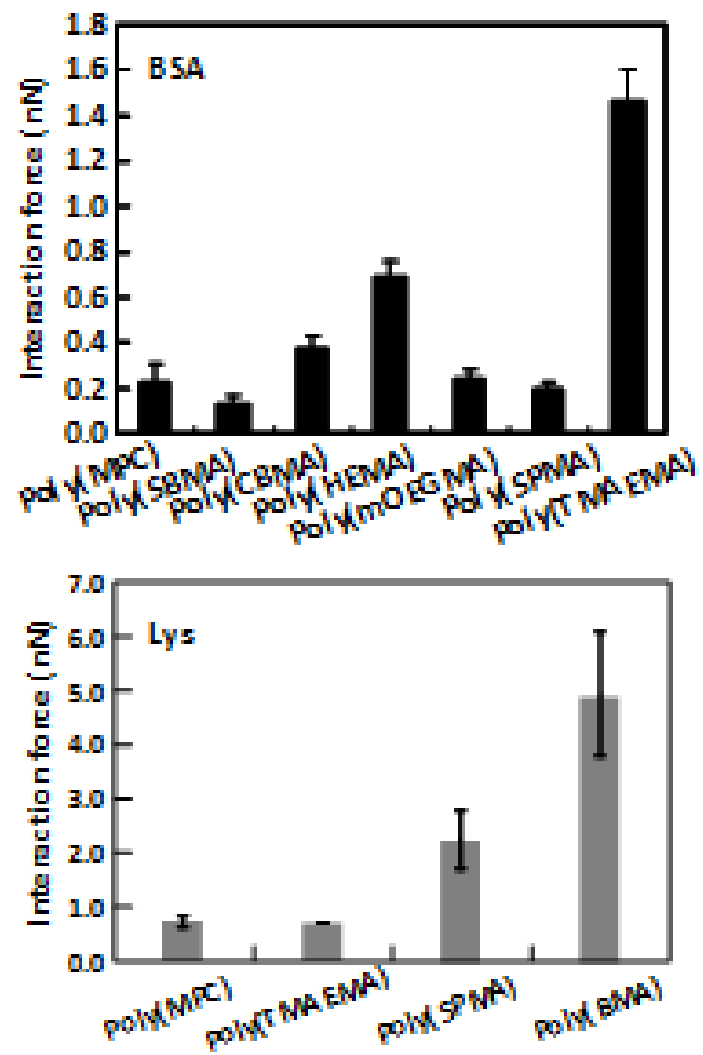


図7. 各ポリマーブラシ層とタンパク質との間のフォースカーブ.

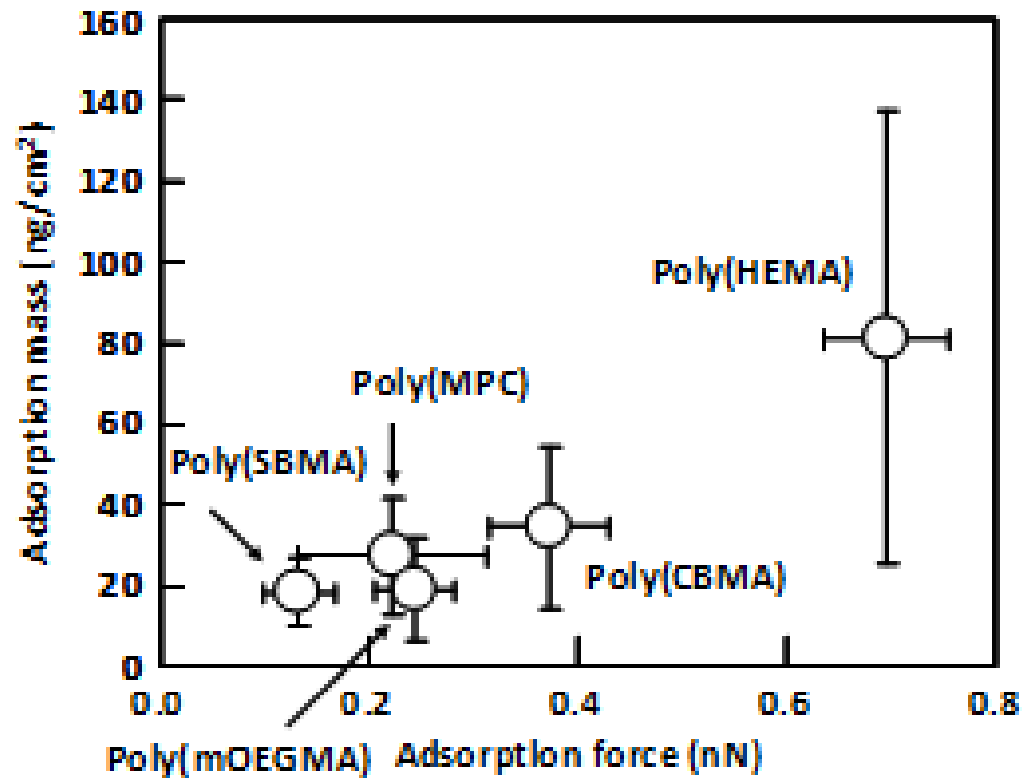


図8. 双性イオン性および非イオン性ポリマーブラシ表面におけるタンパク質吸着量とタンパク質吸着力との関係.

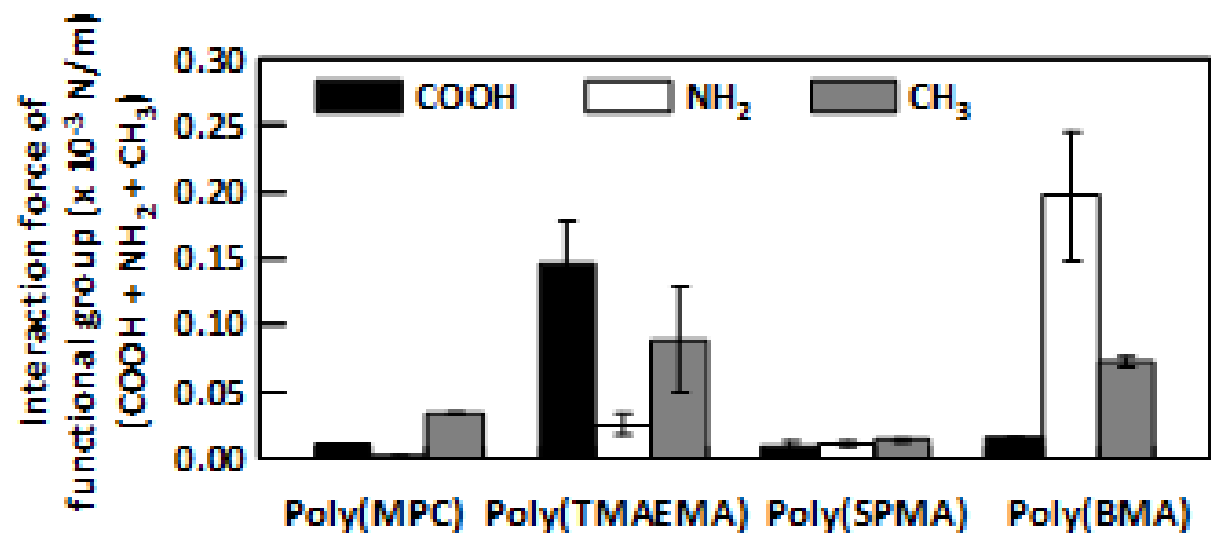


図9. ポリマーブラシ表面に対する官能基の相互作用.

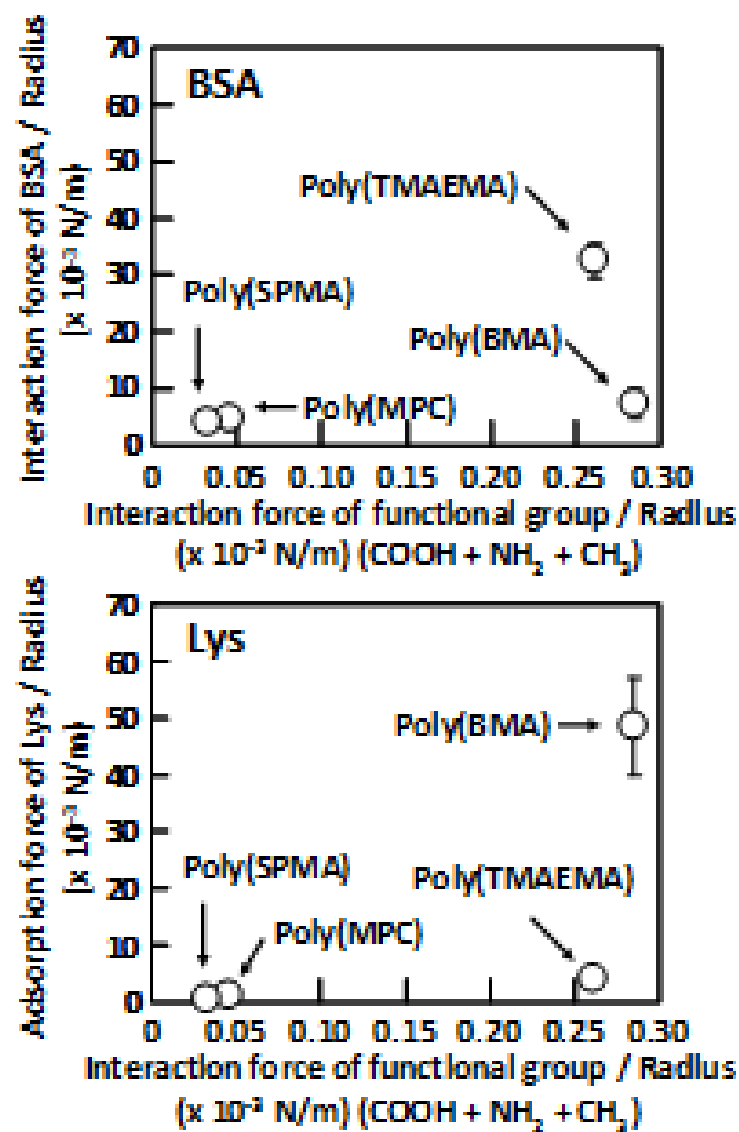


図10. 各ポリマーブラシ表面におけるタンパク質との相互作用と官能基との相互作用の関係。