

研究成果報告（概要）

1. 研究課題

和文 精密重合を基盤とした糖鎖高分子による抗体代替分子の開発
英文 Development of Artificial Antigen with well-defined Glycopolymers

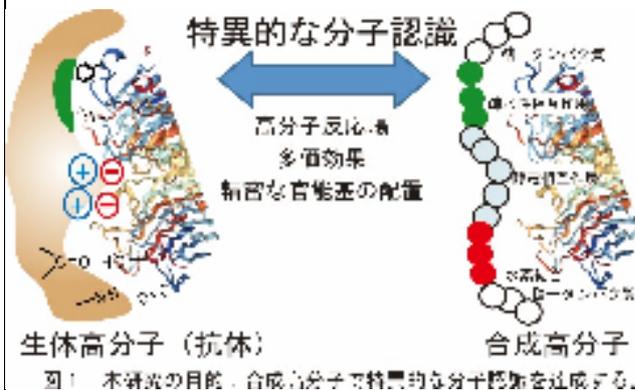
2. 申請者名(代表研究者)

氏名 三浦 佳子	ローマ字表記 Yoshiko Miura
所属大学・機関名 九州大学大学院工学研究院	英訳表記 Kyushu University, Faculty of Engineering
研究科専攻名・部課名等 化学工学部門	英訳表記 Department of Chemical Engineering
役職名 教授	英訳表記 Professor

3.研究について

○ 研究目的

21世紀に入り、抗体、タンパク質といった生体高分子からなる薬剤の開発が盛んになっている。生体高分子による薬剤の特徴は、ターゲットタンパク質全体を特異的に分子認識して補足することであり、ターゲットタンパク質の一部の構造（鍵穴）を狙った薬剤とは根本的に異なる。生体高分子薬剤の重要な点は、高分子が作る大きな反応場であり、低分子では達成し得ないものである（図1）。生体高分子薬剤では、弱い相互作用をターゲット特異的に集積することで、強く特異的な分子認識能を達成している。そのため、①高分子であること、②官能基の配置がターゲットに合わせて精密に制御されていることの2つが必要である。これまで、このような精密な分子は生体高分子でないといけないと信じられており、抗体やタンパク質の医薬が盛んに開発



されてきたが、合成高分子の医薬は基本的には考えられてこなかった。天然物のような精密な分子構造を持つ分子が、合成 DNA や合成ペプチドで報告されているが、汎用プラスチックと同じような化学構造を持つ合成高分子ではそのような試みはない。合成高分子では、これまで精密に分子の配置を制御することができなかったためでもある。

一方で、リビング重合では、ブロック重合という高分子のシーケンスを繋げて重合することができる。近年特に、リビングラジカル重合の手法が発展し、ペプチドのように複雑な並びを持つ高分子を合成することも可能になってきた。本研究では、リビングラジカル重合を駆使することで、ターゲットタンパク質に適した高分子を創製して、特異的に強く結合する分子の合成、設計を行い、疾病関連タンパク質を効果的に捉えて阻害することを目的にする。特に、タンパク質のリガンドである、糖鎖を側鎖に結合させた糖鎖高分子を用いて研究を遂行した。

○ 成果

1) 精密重合可能な糖鎖高分子の合成方法の確立

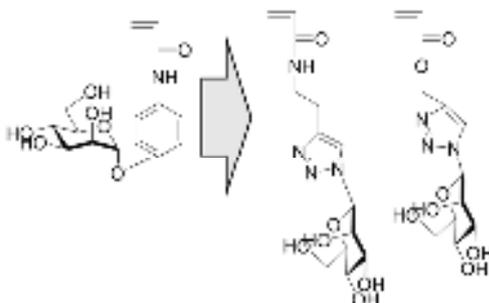


図2 糖鎖高分子モノマー

これまで申請者は、p-ニトロフェニル糖を起点として糖鎖モノマーを設計し、アクリルアミドフェニルを骨格としたモノマーの合成、重合を行ってきた。しかし、アクリルアミドフェニル骨格のモノマーの重合特性から、精密リビングラジカル重合に不適であった。共役性を減少させた糖鎖担持アクリルアミドモノマー、糖鎖担持メタクリレートモノマーを用いることで、リビングラジカル重合が効率的に行う事が可能になった（図2）。

2) ブロック重合体によるタンパク質への結合制御

御

ターゲットとして、糖鎖認識タンパク質である、コンカナバリンAを選び、このタンパク質に効率的に結合する高分子の設計を行った。コンカナバリンAは4量体タンパク質で、糖

(マンノース、グルコース) と結合する。マンノースの結合サイトは **6.5nm** ずつ離れており、その間は親水性アミノ酸で満たされている。そこで、糖鎖高分子の長さ、構造を制御して、糖鎖とタンパク質の結合を制御した。

マンノースを提示した糖鎖高分子については、高分子の分子鎖長を **25、50、100** 量体とした。コンカナバリン A との結合定数については、**25、50** 量体では 10^5 (M^{-1}) オーダーであるが、**100** 量体では 10^6 (M^{-1}) オーダーと大幅に向上した。糖鎖の結合サイトに対して、適切に糖鎖が配置できるように、**25** 量体を糖鎖、その間にバイオイナートなトリチレングリコール **50** 量体、その後 **25** 量体を結合させたような糖鎖高分子トリブロック共重合体、また **25** 量体の糖鎖、**50** 量体のトリエチレングリコールを結合させた高分子を合成した。糖鎖が末端2つのブロックに結合したトリブロック共重合体は糖鎖を効率的に利用しつつ、 10^6 (M^{-1}) オーダーの強い結合定数を示した。このように、高分子のモノマーの並び(シーケンス)を制御することで、タンパク質と高分子の結合性を制御できることがわかった。また、こうした分子設計においては、モンテカルロ法を利用した半経験的な計算によって、分子の大きさを計算、設計できることもわかった。

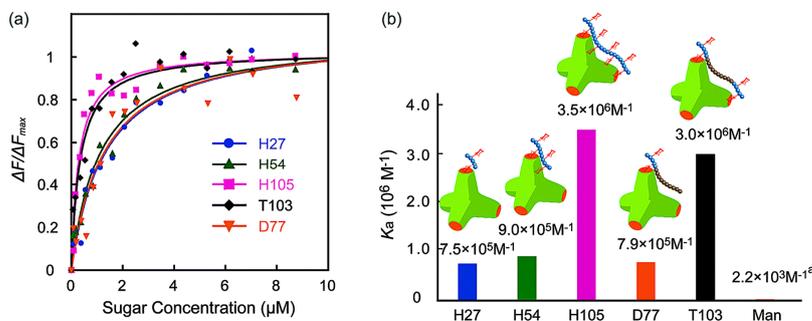


図3 糖鎖高分子の結合解析アッセイと結合定数

3) 連続的なマルチブロック重合による、タンパク質特異的な結合を發揮する分子の開発

2) ではブロック重合によって糖鎖の配置を制御して、タンパク質と効果的に結合する高分子の合成を行った。一方で、このブロック共重合体の合成は、ブロックコポリマーの重合、精製、再度の開始反応を繰り返して行うために、高収率でブロック共重合体を得ることはできなかった。そこで、アクリルアミドを主体としたモノマー、水溶性の可逆的付加開裂型の連鎖移動剤を用いることで、ワンポットでモノマーを追加することで、糖鎖、イナートモノマーのトリブロック、ペンタブロック重合体を高い収率で合成することができた。2) と同じように、糖鎖がコンカナバリン A に適切に結合する高分子では、強い分子認識能が観察された。

○ 今後の見通し

これまでの研究で、生体リガンドを付与した生体機能性高分子の設計が可能になった。高分子-タンパク質の相互作用を多点結合の制御によって実現した。これまでに実現した高分子では、糖鎖の配置を制御することでタンパク質との分子認識を制御していた。現在は、リガンドに加えて、タンパク質が持つ電荷や疎水性に適合する官能基もブロック重合体の中に取り入れて、リガンド-タンパク質相互作用、静電相互作用、疎水性相互作用などの種々の相互作用を取り入れて、より強く、より特異的にタンパク質に結合する分子の合成を行っている。また精密重合体を病原体である、インフルエンザウイルスの毒性中和に応用する。これらの研究は進行中で平成 30 年度中に完成予定である。