

Title	レクチンとの多価相互作用に及ぼすリガンド導入ポリ ロタキサンの会合挙動の解析
Author(s)	町田, 和也
Citation	
Issue Date	2003-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	none
URL	http://hdl.handle.net/10119/3006
Rights	
Description	Supervisor: 由井 伸彦, 材料科学研究科, 修士

【緒言】当研究室では、多数のシクロデキストリン(CD)空洞部を貫通したポリエチレングリコール(PEG)鎖の両末端に嵩高い生分解性基を導入した生体内分解性ポリロタキサン(PRX)に種々のリガンドや官能基を導入し、レセプターとの多価相互作用における超分子構造の効果を評価している。本研究では、分子量の異なる PRX にモデルリガンド(ビオチン)導入数を変化させた結合体を合成し、この結合体の会合状態とレセプターとの多価相互作用との関連を明らかにすることを目的として、ビオチン-ポリロタキサン(Biotin-PRX)結合体の光散乱測定とストレプトアビジン(SA)をモデルタンパク質とした表面プラズモン共鳴(SPR)より測定を行った。

【実験】合成：既報に従い分子量の異なるポリロタキサン(PEG : M_n =4000~50000)中の α -CD ヒドロキシル基にカルボキシ基を導入したカルボキシルエチルエーテルポリロタキサン(CEE-PRX)を合成した。続いて窒素雰囲気下、ジメチルスルホキシド中にて、導入数を種々変化させたビオチン-ポリロタキサン(Biotin-CEE-PRX)結合体(Fig. 1)を得た。光散乱及び HPLC 測定：光散乱検出器(miniDAWN)を装備した高速液体クロマトグラフィー(HPLC)装置を使用し、ビオチン導入数変化時の Biotin-CEE-PRX 結合体の分子量及び会合数を算出した。SPR 測定²⁾：生体分子間相互作用解析装置(IAsys)を使用し、Biotin-CEE-PRX 結合体と SA との相互作用を観測した。

【結果と考察】¹H NMR 測定から、合成した Biotin-CEE-PRX 結合体中のビオチン導入率を、仕込み量により任意に制御できることを確認した。ビオチン導入数を 30~250 の間で変化させた Biotin-CEE-PRX 結合体(軸分子 PEG: M_n =35,000)では、ビオチン導入数が増大するに従い高分子側にピークが観測されるようになった (Fig. 2)。一方、分子中のビオチン導入数が同程度である Biotin-CEE-Dextran 結合体(Dextran: M_n =40,000)では同じ濃度でもかかわらず、高分子側にピークは見られなかった(結果省略)。これらの結果から、ポリロタキサンの超分子構造によってビオチン部位が緩衝溶液中に露出しやすくなり、結果的に分子間会合したものと考えられた。そこで、この会合体と考えられるピークの重量平均分子量を算出したところ、 $\sim 1.0 \times 10^6$ g/mol であった。このことは Biotin-CEE-PRX 結合体が約 5 分子会合していることになる。SPR 測定の結果から、この会合体添加時に SA の認識に伴うレスポンスの上昇が見られた。よって、ポリロタキサンの超分子構造は会合した状態でも SA と多価相互作用性を保持できると結論した。

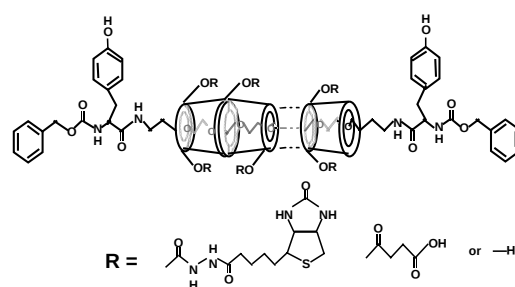


Fig. 1 Chemical structure of Biotin-CEE-PRX conjugate

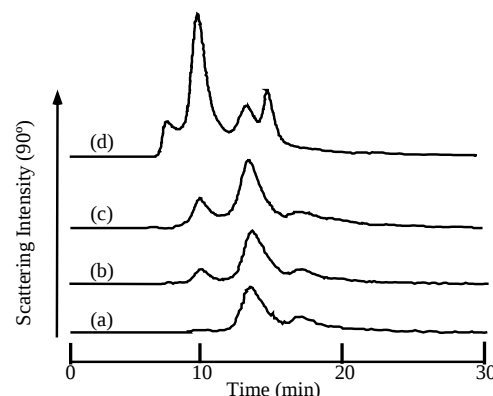


Fig. 2 GPC charts of Biotin-CEE-PRX conjugates as a function of retention time ; the number of biotin per PRX molecule is (a) 30, (b) 60, (c) 120 and (d) 250. Concentration of the sample is 10.0 mg/mL

【参考文献】 1) T. Ooya, N. Yui, *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, 16, 289 (1999)

2) T. Ooya, N. Yui, *Crit. J. Control. Release.*, 74, 219 (2002)

Keywords ポリロタキサン、会合挙動、多価相互作用

Copyright © 2003 by Kazuya Machida