

整理番号	H - J -	報告者氏名	岡田 洋平
------	---------	-------	-------

研究課題名

生体分子の“フィッシュアウト”が可能な多機能磁性ナノ粒子材料の開発

<代表研究者> 機関名：東京農工大学大学院工学研究院 職名：助教 氏名：岡田 洋平

<共同研究者> 機関名： 職名： 氏名：  
 機関名： 職名： 氏名：  
 機関名： 職名： 氏名：  
 機関名： 職名： 氏名：

<研究内容・成果等の要約>

生体分子の構造や機能を高精度で解析するためには、天然に存在するものを高純度で分離することが求められる。しかしながら、ほとんどの場合において生体分子は天然に極微量でしか存在していないため、標的とする成分のみを選択的に取り出し、これを濃縮する技術が必要不可欠となる。生化学研究で広く用いられている抗原-抗体反応は、抗体によって抗原が極めて特異的に認識されるため、様々な化合物群が混在する生体試料の中であっても目的とする抗原と選択的に結合することができる。例えば抗体を取り付けた磁気ビーズを用いることで、生体試料の中から狙った抗原だけを磁気分離することができる。標的とする生体分子に併せて抗原を発現させることで、様々な成分が混在した試料中から目的とするものだけを磁石で“釣り上げる”ことが可能となる。しかしながら生体分子の構造や機能を解析するためには、回収した磁気ビーズから切り出さなければならない。一般的に抗原-抗体の相互作用は特異性が高い反面、一度結合してしまえばこれを取り外すことは極めて困難である。そこで本研究では、標的とする生体分子だけを選択的に“キャッチ”し、これを自由に“リリース”することができる多機能磁性ナノ粒子を設計・合成することを目的とした。

本研究ではまず、市販されている酸化鉄ナノ粒子の分散性・磁気特性などを体系的に調べることで、適切なプラットフォームの選定を行った。その結果、共沈法によって非常に再現良く 10 nm 程度の一次粒子径を有する  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  のナノ粒子を合成できることが確認された。これらの粒子をオレイン酸で被覆することにより、トルエンなどの低極性有機溶媒中で安定に分散するコロイドを調整することができた。また、シクロヘキサンとメタノールを組み合わせた二相溶媒系を利用することで吸着基の“強弱”を判定することにより、カルボン酸よりもカテコール、カテコールよりもホスホン酸が酸化鉄ナノ粒子に対して優れた吸着基となり得ることが見出された。酸化物を始めとする無機ナノ粒子に対しては様々な官能基が吸着基となり得ることが広く知られているものの、吸着の“優劣”を明らかにした研究は例が少ない。今回確立された手法によって、酸化鉄に限らず様々なナノ粒子材料に対する官能基の吸着基としての性能を調べるのが可能となった。これは有機-無機ハイブリッド材料を設計する上で非常に重要な知見となる。以上のように、本研究で明らかとなった吸着基の序列を活かして、今後はオーダーメイドに磁性ナノ粒子材料を設計・合成することができるようになることを期待される。

<研究発表（口頭、ポスター、誌上別）>

口頭発表

日本農芸化学会 2018 年度大会  
岡田洋平, 菅井正枝, 千葉一裕  
水素結合によって誘起されるベンズアルデヒド型蛍光色素

The 98th CSJ Annual Meeting  
Okada, Y.  
Redox Tag-Assisted Radical Cation Diels-Alder Reactions

粉体工学会 2018 年度春期研究発表会  
上坂温子, 前田尚也, 岡田洋平, 神谷秀博  
柔軟な分散性を有するコロイドナノ粒子の一段階合成

233rd ECS Meeting  
Okada, Y.; Ozaki, A.; Yamaguchi, Y.; Chiba, K.  
Umpolung Diels-Alder Reactions By Electrocatalysis

233rd ECS Meeting  
Okada, Y.; Maeta, N.; Nakayama, K.; Kamiya, H.  
TiO<sub>2</sub> Photocatalysis in the Aromatic "Redox Tag"-Guided Intermolecular Formal [2 + 2] Cycloadditions

化学工学会第 50 回秋季大会  
山下翔平, 浅間仁美, 小池菜摘, 岡田洋平, 神谷秀博  
二相溶媒系を利用したナノ粒子界面の配位子交換現象の解析

化学工学会第 50 回秋季大会  
中村達哉, 浅田佳祐, 前田尚也, 石川晃大, 岡田洋平, 神谷秀博  
材料応用に向けたナノ粒子の凝集分散制御

ISOR-13  
Okada, Y.; Maeta, N.; Nakayama, K.; Kamiya, H.  
Olefin Cross-Couplings Enabled by TiO<sub>2</sub> Photocatalysis

ポスター発表

Beilstein Organic Chemistry Symposium 2018  
Okada, Y.; Maeta, N.; Nakayama, K.; Kamiya, H.  
TiO<sub>2</sub> Photocatalysis in the Aromatic "Redox Tag"-Guided Intermolecular Formal [2 + 2] Cycloadditions

ICCCI 2018  
Asama, H.; Yamashita, S.; Okada, Y.; Kamiya, H.  
Ordering molecular bindings at the surface enabled by phase transfer of nanoparticles via ligand exchange processes

## &lt;研究の目的、経過、結果、考察（5000字程度、中間報告は2000字程度）&gt;

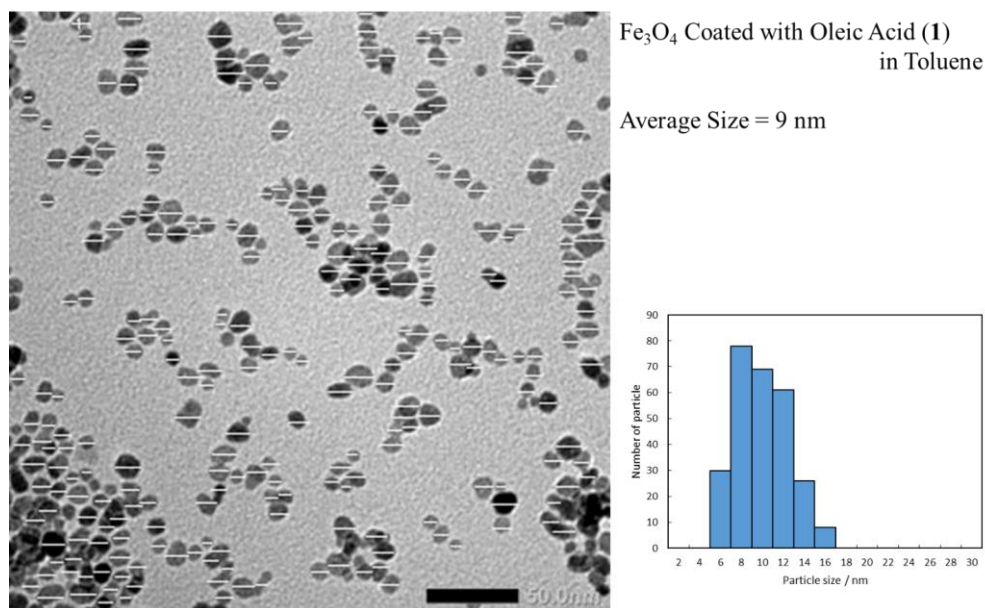
近年、有機化学的手法を駆使して生命現象を解明することを目的とした“ケミカルバイオロジー”が当該領域における一大潮流となっている。従来の有機化学が扱ってきた化合物が分子量 500 程度までの低分子であったのに対して、核酸やタンパク質、そして糖鎖などの生体分子の多くは高分子であり、これらを化学合成することは事実上不可能である。最近ではこれらの生体高分子を小型化した“中分子”を用いる研究も広く展開されているものの、化学合成は依然として困難である。そこで生体分子の構造や機能を高精度で解析するためには、まずは天然に存在するものを高純度で分離することが求められる。しかしながら、ほとんどの場合において生体分子は天然に極微量でしか存在していないため、標的とする成分のみを選択的に取り出し、これを濃縮する技術が必要不可欠となる。

生化学研究で広く用いられている抗原-抗体反応は、抗体によって抗原が極めて特異的に認識されるため、様々な化合物群が混在する生体試料の中であっても目的とする抗原と選択的に結合することができる。例えば抗体を取り付けた磁気ビーズを用いることで、生体試料の中から狙った抗原だけを磁気分離することができる。標的とする生体分子に併せて抗原を発現させることで、様々な成分が混在した試料中から目的とするものだけを磁石で“釣り上げる”ことが可能となる。しかしながら生体分子の構造や機能を解析するためには、回収した磁気ビーズから切り出さなければならない。一般的に抗原-抗体の相互作用は特異性が高い反面、一度結合してしまうとこれを取り外すことは極めて困難である。ビオチン-アビジン間での相互作用もまた非常に選択的かつ強固であることが知られているものの、一度結合してしまうとこれらを切り離すことが困難である。したがってこのような目的を達成するためには、標的とする生体分子をいかに“キャッチ”するだけでなく、いかに“リリース”するかについても考えなければいけない。そこで本研究では、標的とする生体分子だけを選択的に“キャッチ”し、これを自由に“リリース”することができる多機能磁性ナノ粒子材料を設計・合成することを目的とした。

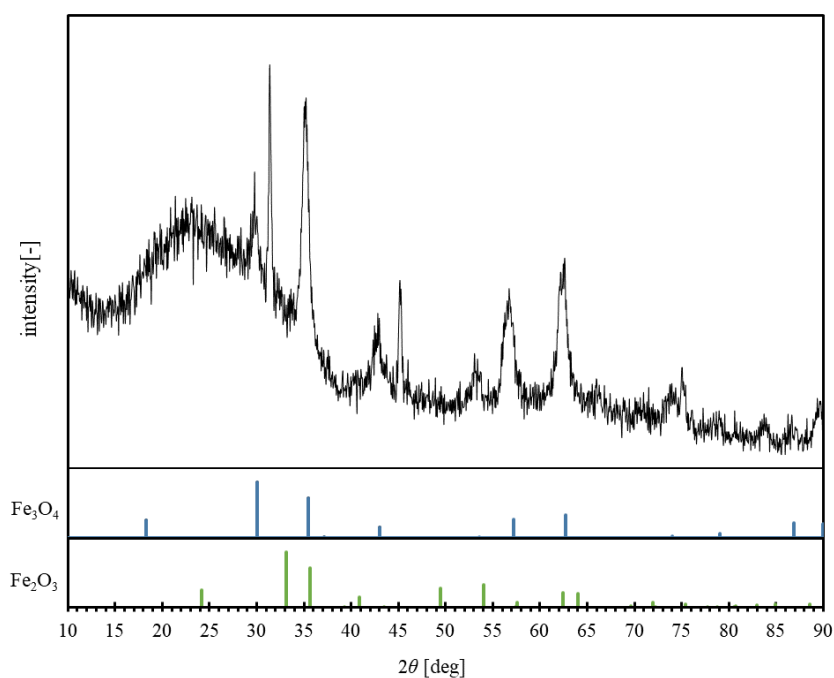
有機化合物と無機化合物ではお互いに持ち得る特性が異なるため、両者の機能を併せ持つためには互いに繋ぎ合わせるのが最も直接的な手法となる。このようにして作られる材料は一般に有機-無機ハイブリッドと呼ばれる。特に本研究でターゲットとしている材料については、磁性を発現する無機ナノ粒子をコアとして、その表面に特定の機能を有する有機リガンドを取り付けることで作ることができる。両者の合成には全く違う反応条件や分析手法が用いられることから、無機ナノ粒子は無機ナノ粒子で、有機リガンドは有機リガンドで予め合成した上で、最終段階で両者を繋ぎ合わせることが好ましい。しかしながら一般に有機化合物と無機化合物は互いに親和性が乏しく、両者を繋ぎ合わせるためには工夫が必要となる。加えて有機物と無機物の界面を直接“観る”ことは極めて困難であり、従来の手法は経験的なものが多い。例えばケイ素は有機物と無機物の中間的な電気陰性度を有しており、両者を繋ぎ合わせる上で有効であることが知られている。カルボン酸やアミンなどの特定の官能基もまた、金属酸化物の表面へと吸着することが知られている。これらの官能基は吸着基と呼ばれ、有機-無機ハイブリッド材料を創出する際にも重要であるものの、どのような材料に対してどのような吸着基が“優れ”ているのか、性能に序列を付けている例はほとんど知られていない。今回のような機能性磁性ナノ粒子材料においては、リガンドそのものは粒子に強く吸着していることが望まれる。

磁性ナノ粒子としては、生体への安全性やコストの面から、 $\text{Fe}_2\text{O}_3$ や $\text{Fe}_3\text{O}_4$ などの酸化鉄が広く用いられている。そこで本研究ではまず、市販されている酸化鉄ナノ粒子の分散性・磁気特性などを体系的に調べることで、適切なプラットフォームの選定を行った。程度の差こそあるものの、いずれのナノ粒子も十分な磁気特性を示したものの、溶媒中での良好な分散性は得られなかった。ナノ粒子は極めて大きな比表面積を示すことから表面修飾に適した材料である一方、著しく高い付着凝集性を示すことが知られている。マイクロあるいはミリサイズの塊へと凝集してしまった場合、一次粒子そのものは小さなナノサイズであったとしても、その大きな比表面積を活かすことができない。したがって、本研究では溶液中で高度に分散安定化させることが可能な磁性ナノ粒子の設計・合成を行った。

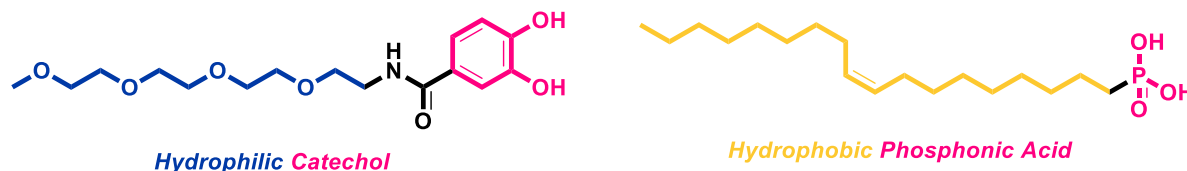
本研究では、実験室で容易に大量合成が可能な共沈法を用いて、 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ のナノ粒子を合成した。これは硫酸鉄と塩化鉄の混合水溶液中で pH をコントロールすることでナノ粒子を合成する手法である。温度や攪拌効率、pH をコントロールするために加えるアンモニア水の量や滴下速度などを検討することで、安定した品質でナノ粒子を合成することが可能となった。その後の化学反応のために得られた粒子を有機溶媒中へ抽出する必要があることからここへオレイン酸を添加し、粒子を疎水化することを試みた。オレイン酸が有するカルボキシル基は、酸化鉄を始めとする様々な金属酸化物表面に強い共有結合を形成することが知られている。その結果、合成した磁性ナノ粒子を水中からトルエン層に効率的に抽出出来ることを見出された。下記の通り、得られたナノ粒子は動的光散乱 (DLS) 法および透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察において一次粒子径が 10 nm 程度の球形粒子であることが確認された。



また、以下に示す X 線回折 (XRD) のパターンより、得られた磁性ナノ粒子の主成分が  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  であることも確認している。



得られた疎水性ナノ粒子はいずれもオレイン酸でキャップされているため、このままでは目的とするリガンドを取り付けることができない。異なる吸着基を有するリガンド間での交換反応（リガンドエクスチェンジ）によって目的とするリガンドを粒子に取り付ける手法が広く用いられているものの、吸着基としての“優劣”が定量的に議論されているケースは極めて少ない。そこで酸化鉄ナノ粒子に対する吸着基に序列を付けるために、以下に示すようなリガンドを設計・合成した。これらのリガンドは“高極性のカテコール”および“低極性のホスホン酸”と見なすことができる。



すなわち、オレイン酸で被覆された粒子に対して高極性のカテコールを添加し、仮にナノ粒子が高極性になれば、カルボン酸がカテコールでエクスチェンジされたことが示唆される。逆にこのようにして得られた高極性のナノ粒子に低極性のホスホン酸を添加して再びナノ粒子が低極性になれば、それはカテコールがホスホン酸で交換可能であることが示唆される。このようなリガンド交換現象をシクロヘキサンとメタノールからなる二相溶媒中で実施し、酸化鉄ナノ粒子がどちらの相に局在するかを観察することによってナノ粒子の極性を調べた。その結果、酸化鉄ナノ粒子に対してカルボン酸はカテコールで交換でき、そしてカテコールをホスホン酸で交換できることが示された。一方で、“高極性のホスホン酸”および“低極性のカテコール”を合成して同様の実験を行ったところ、カルボン酸をホスホン酸で交換することはできるものの、ホスホン酸をカテコールで交換することはできないということが確認された。したがって、酸化鉄ナノ粒子に対する吸着基の“優劣”は、ホスホン酸>カテコール>カルボン酸であることが明らかとなった。同様の手法において粒子の材質やリガンドの分子構造を変化させることで、吸着基の性能を体系的に知ることができる。

以上のように、今回の研究においてキャッチ&リリース能を有する目的のリガンドを設計・合成する上で極めて重要な知見を得ることができた。共沈法とリガンドエクスチェンジを組み合わせることで、オーダーメイドな磁性ナノ粒子材料の創出が可能になることが期待できる。

#### 参考文献

Direct Ordering of Anchoring Events at the Surface of Iron Oxide Nanoparticles Enabled by A Stepwise Phase-Transfer Strategy.

Okada, Y.\*; Asama, H.; Koike, N.; Yamashita, S.; Maeta, N.; Uesaka, A.; Kamiya, H.  
*ChemistrySelect* **2018**, *3*, 8458–8461.

Direct Monitoring of Molecular Events at the Surface: One-Step Access to Flexibly Stable Colloidal Ag Nanoparticles.

Maeta, N.; Kamiya, H.; Okada, Y.\*  
*Langmuir* **2018**, *34*, 5495–5504.

TiO<sub>2</sub> Photocatalysis in Aromatic “Redox Tag”-Guided Intermolecular Formal [2 + 2] Cycloadditions.

Okada, Y.\*; Maeta, N.; Nakayama, K.; Kamiya, H.  
*J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 4948–4962.

Understanding the Colloidal Stability of Nanoparticle-Ligand Complexes: Design, Synthesis, and Structure-Function Relationship Studies of Amphiphilic Small-Molecule Ligands.

Okada, Y.\*; Ishikawa, K.; Maeta, N.; Kamiya, H.  
*Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 1853–1858.