

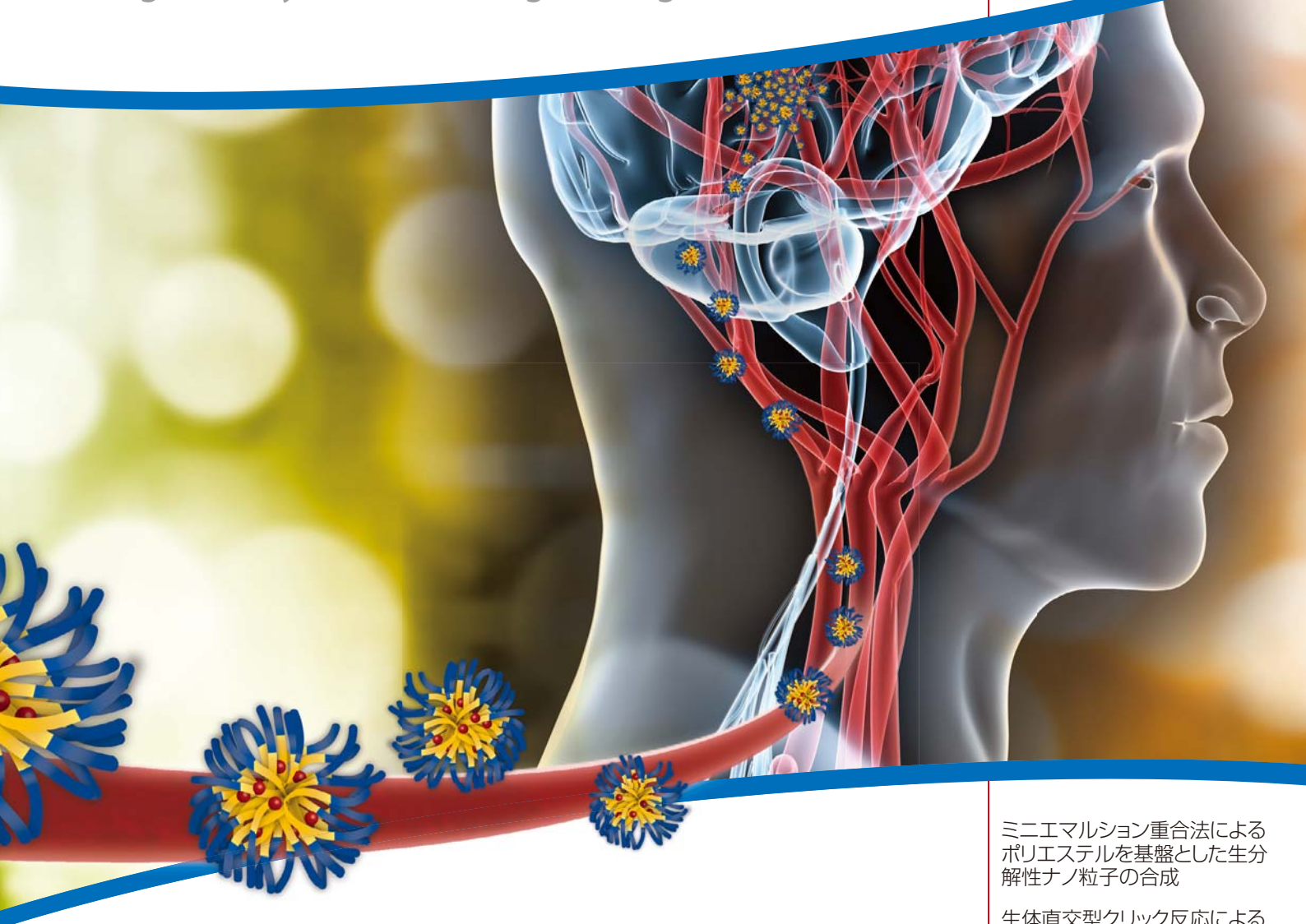
Material Matters™

Volume 7, Number 3

ALDRICH
Materials Science

薬物送達および組織工学用革新的高分子材料

Innovative Polymers Engineered for
Drug Delivery and Tissue Engineering



Targeting a better quality of life

ミニエマルション重合法による
ポリエステルを基盤とした生分
解性ナノ粒子の合成

生体直交型クリック反応による
汎用性の高い細胞培養足場の
作製

キトサンを基盤とした生体材料

生物医学研究に用いられる生
体適合性樹枝状ビルディング
ブロック

SIGMA-ALDRICH®

はじめに

2012 年の **Material Matters**™ 第 3 号では、薬物送達や組織工学用に設計された高分子材料を特集してお届けします。今回のテーマには、低分子有機化合物の送達から、生体材料、生体信号、さらにはハイブリッド足場材料（生体材料）にいたるまで幅広い応用が関連しています。これら各分野における数多くの目覚ましい進展の中から、特定の標的への送達を可能にし、組織工学におけるニーズを満たすために設計された、新規材料および技術に関する重要な研究領域を取り上げました。



Sebastian Grajales, Ph.D.
Aldrich Materials Science
Sigma-Aldrich Co. LLC

最初の記事では、Katharina Landfester 教授（Max Planck Institute for Polymer Research, ドイツ）に、ポリラクチド、ポリ（ラクチド-co-グリコリド）、およびポリカプロラクトンなどの生分解性ポリエステルをレビューしていただきます。さらに、薬物送達用高分子ナノ粒子の調製方法と、これらナノ粒子の分解プロセスについても解説していただきます。薬物送達では、材料選択とナノ粒子合成方法の両方が、さまざまな薬物の組み込みを制御し、徐放速度に影響を与えます。

2 番目の記事では、Kristi Anseth 教授（University of Colorado at Boulder, 米国）に、クリック反応を用いて調製したポリ（エチレングリコール）を基盤とした足場材料によって、疑似的な合成細胞外マトリックスを作製するための新規手法を紹介していただきます。官能基化ポリ（エチレングリコール）を用いることで、複雑な生体組織環境を創り出すことが可能です。また、クリック反応や逐次クリック反応を用いて機能性を導入すれば、生体組織で確認される細胞外マトリックス信号を再現できます。ヒドロゲルは、細胞送達担体として、あるいは組織工学において、大きな関心が寄せられており、細胞、タンパク質、DNA の存在下で作製できるため、組織培養の有用なモデル材料です。

3 番目の記事は、Jianbiao Ma 教授（Nankai University および Tianjin University of Technology, 中国）による、キトサンを基盤とする生体材料のレビューです。キトサンは、天然のバイオポリマーとして 2 番目に豊富なキチンから得られるもので、薬物送達や遺伝子送達、組織工学、血液透析膜など多くの生物医学的用途で研究されています。キトサンは特有の性質を有し、官能基化によって特定用途に合わせた誘導体を合成できるため、生物医学用途でのキトサンの利用について、関心が急速に高まっています。

最後の記事では、KTH Royal Institute of Technology（スウェーデン）の Michael Malkoch 教授と Karolinska Institutet（スウェーデン）の Andreas M. Nyström 教授に、bis-MPA（2,2-bis(methyloxy)propionic acid）を含むデンドリマーおよびデンドロンについてレビューしていただきます。この樹枝状物質は、分布が明確に定義された官能基を有しています。本稿では、デンドロンやデンドリマーの多くの応用の中から、薬物送達と表面修飾を中心に解説していただきます。クリック反応性官能基によって、これら材料の多用途性や用途に応じた材料設計が容易であることをご紹介いたします。

表紙について

薬物送達や組織工学における進歩は、医学分野にパラダイムシフトをもたらしています。これらの分野における技術革新は、高分子化学や材料科学、生物医学工学、表面科学、生物物理学、生物学などが関わる、学際的な領域における高分子生体材料研究によって可能となったものです。表紙には、薬物送達の例を描いたイラストを用いました。治療薬を含有する、表面が官能基化された高分子ミセルが、体内の標的腫瘍まで送達されていく様子を表しています。

Material Matters™

Vol. 7 No. 3

薬物送達および組織工学用 革新的高分子材料

ご注文：

最寄の試薬代理店にご注文ください。代理店がご不明の場合は、弊社カスタマーサービス sialjpcs@sial.com へお問合せください。

お問合せ：

価格、納期については、弊社カスタマーサービスまでお問合せください。日本語 Web サイト www.sigmaaldrich.com/japan でも、各製品の価格や国内在庫の有無などをご確認いただけます。製品に関する技術的なお問い合わせは、テクニカルサポート sialjpts@sial.com へお問合せください。

本カタログに掲載の製品及び情報は 2012 年 12 月現在の内容であり、掲載の品目、製品情報等は予告なく変更される場合がございます。予めご了承ください。

モバイル

QR コードを読み取ると、Material Matters バックナンバーの PDF をご覧いただけます。



or visit

aldrich.com/mscatalog-jp

目次

はじめに	2
表紙について	2
"Your Materials Matter"	3
ミニエマルジョン重合法によるポリエステルを基盤とした 生分解性ナノ粒子の合成	4
生体直交型クリック反応による 汎用性の高い細胞培養足場の作製	9
キトサンを基盤とした生体材料	17
生物医学研究に用いられる 生体適合性樹枝状ビルディングブロック	21

製品紹介ページ一覧

生分解性共重合体 (RESOMER®をはじめとする、生分解性共重合体やブロック共重合体)	6
生分解性ホモポリマー (生分解性 L-ラクチド、D,L-ラクチド、グリコリド、ジオキサノンポリマー)	8
ポリエチレングリコール (単官能性、二官能性ポリエチレングリコール)	13
キトサン (動物由来キトサンおよびホワイトマッシュルーム由来高純度キトサン)	20
デンドロン (bis-MPA ビルディングブロックをベースとしたデンドロンや PEG をコアとする bis-MPA デンドロン)	24

Your Materials Matter



Shashi Jasty

Shashi G. Jasty, Ph.D.
Director, Aldrich Materials Science

皆様からの新製品のご提案をお待ちしております。「こんな物質を探している」、「こんな製品があれば便利」といったお問い合わせやご要望はございませんか? sialjpts@sial.com までお気軽にお問い合わせください。

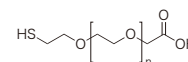
Wisconsin 大学 Madison 校の William Murphy 教授より、チオールとカルボン酸の両方の官能基を有する、数平均分子量 (M_n) が 3,500 g/mole のヘテロ二官能性 PEG (Aldrich 製造番号: **757837**) の製品化のご提案をいただきました。この官能基化 PEG は、バイオコンジュゲーションや薬物送達、PEG ヒドロゲル架橋剤、一般的な表面の官能基化などの用途に用いることができます。チオール化合物は、自己組織化単分子層 (SAM: self-assembled monolayer) 用として研究され、幹細胞と物質間の相互作用を得るための重要なツールとしての開発も進められています¹⁻²。この PEG 末端にあるチオール基は金基板表面に結合し、カルボン酸ペンダント基は細胞接着性ペプチドと結合することで、幹細胞の細胞接着環境を創り出すことができます¹⁻²。さらに、チオール官能基は、チオール-エンクリックケミストリーを用いた幅広い応用にも利用可能です³⁻⁶。

References

- (1) Koepsel, Justin T.; Murphy, William L. *Langmuir*, **2009**, 25(21), 12825-12834.
- (2) Hudalla, Gregory A.; Murphy, William L. *Langmuir*, **2010**, 26(9), 6449-56.
- (3) Posner, T. *Chem. Ber.*, **1905**, 38, 646-657.
- (4) Kharasch, M. S.; Read, A. T.; and Mayo, F. R. *Chem. Ind.*, **1938**, 57, 752.
- (5) Shih, Han; Lin, Chien-Chi. *Biomacromolecules*, **2012**, 13(7), 2003-2012.
- (6) Campos, Luis M.; Killips, Kato L.; Sakai, Ryosuke; Paulusse, Jos M. J.; Dameron, Denis; Drockenmuller, Eric; Messmore, Benjamin W.; Hawker, Craig J. *Macromolecules*, **2008**, 41(19), 7063-7070.

Poly(ethylene glycol) 2-mercaptoethyl ether acetic acid

thiol-PEG-carboxylate; mercaptopoly(ethylene glycol) carboxylic acid
[165729-81-7] $\text{HSC}_2\text{H}_4\text{O}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$



Reported applications include: bioconjugation, drug delivery, PEG hydrogel, crosslinker, and surface functionalization.

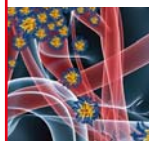
► average M_n 3,500

solid

PEG average M_n 3,400 ($n \sim 77$)

757837-500MG

500 mg



ミニエマルション重合法によるポリエステルを基盤とした生分解性ナノ粒子の合成



Anna Musyanovych and Katharina Landfester
Max Planck Institute for Polymer Research, Ackermannweg10, 55128 Mainz, Germany
Email: landfest@mpip-mainz.mpg.de

はじめに

ポリラクチド、ポリ(ラクチド-co-グリコリド)、ポリカプロラクトンなどの脂肪族ポリエステルやこれらの共重合体は、多様な合成生分解性高分子を代表する化合物で、医療用に広く研究されており、市販もされています¹。これらポリエステルは体内での利用に不可欠な優れた組織親和性と安全性を有し、米国食品医薬品局(FDA: Food and Drug Administration)と欧州医薬品庁(EMA: European Medicine Agency)により、薬物送達用デバイス、縫合糸、インプラントなどの多くの生物医学用途での使用が認められている高分子です。生分解性高分子ナノ粒子は、バイオアベイラビリティ(生物学的利用能)や生理活性、送達の制御を向上させるために、疎水性および親水性薬物を送達する担体として精力的に研究されています。本稿では、薬物送達で利用されているポリエステルを基盤としたさまざまな生分解性高分子について紹介し、生理化学的性質や、高分子ナノ粒子の合成に利用されている方法、さらには、これらの材料の分解プロセスについて述べます。

生分解性ポリエステル

ポリラクチドは再生可能資源に由来する熱可塑性生分解性ポリエステルで、その性質はモノマーの光学活性に左右されます。乳酸(またはラクチド)モノマーは、2つの光学異性体、つまりD体およびL体をとるキラル分子であり、「ポリラクチド」には、ポリ(L-ラクチド)(PLLA)、ポリ(D-ラクチド)(PDLA)、およびD体とL体の両方を含むポリ(D,L-ラクチド)(PDLLA)が存在します。PLLA含有率が>90%のポリラクチドが結晶となることが多いのに対し、PDLLAは、高分子鎖中に2つの異性体モノマーがランダムに含まれているためにアモルファス高分子となります。高い機械的性質が必要とされる場合(引張強度が50~70 MPa)には、アモルファスよりも半結晶性ポリラクチドの方が一般的に適した材料です。ポリラクチドのガラス転移温度(T_g)および融度(T_m)は、それぞれ50~65℃および175~180℃の範囲にあり、L-ラクチド含有率が高ければこれらの遷移温度は高くなります。

ポリ(ラクチド-co-グリコリド)(PLGA)はランダム共重合体で、ラクチドとグリコリドの比率を変えることで容易に物理的、機械的性質を調整することができます。PLGA共重合体の T_g は体温(37℃)よりも高く、そのため通常はガラス状の形状をとります。25~75%のラクチドからなるPLGAは、アモルファスで加水分解を受けやすいため、薬物送達用の有力な候補材料です。さらに、PLGAは細胞接着性と細胞増殖性に優れており、組織工学でも利用されています。最近、Danhierらによる総括的なレビューにおいて、PLGAを基盤とする生物医学用ナノ粒子について詳述されています²。修飾済みPLGAナノ粒子は血液脳関門を通過することができることから、中枢神経系への薬物送達に利用できる可能性をもっています。

ポリ(ϵ -カプロラクトン)(PCL)は半結晶性高分子で、引張強度が低く(約23 MPa)、低い T_g (約-60℃)と T_m (約55~60℃)を有しています。生条件下でPCLはポリラクチドよりもゆっくりと分解するため、長期埋め込み型デバイス作製の弾性材料として、組織工学用途で数多く用いられています^{3,4}。PCLを基盤とするナノ粒子は、制御された薬物送達システムでの利用についても広く研究されています⁵。

高分子ナノ粒子の合成方法

生分解性高分子からなるナノ粒子は、薬物送達用として大きな関心を集めています。DNAやタンパク質などの非常に多様な親水性および疎水性の薬物分子を生分解性高分子でカプセル化し、ナノ粒子の形態で特定の器官や細胞まで送達することができます⁶。過去数十年の間に、ポリエステルを基盤とする粒子(またはカプセル)の合成方法がいくつか発表されています。どの手法を選択するかは、主に、高分子の生理化学的性質(溶解度や分子量)や導入する生物活性物質の生理化学的性質(薬物の疎水性/親水性や、溶媒に対する反応性)によって決まります。現在、最もよく用いられている方法は、エマルション/溶媒蒸発法または拡散法、二重エマルション法、フラッシュナノ沈殿法、および塩析法であり、それぞれについて以下に解説します。

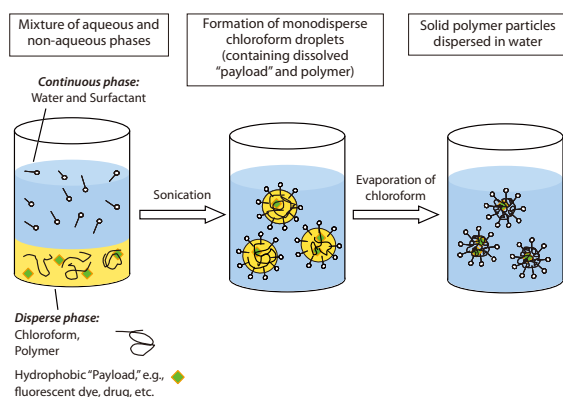
「エマルション/溶媒蒸発法」では、高分子と疎水性生体材料(薬物など)とを含有する少量の非極性有機溶媒(油相)を、安定剤を含む極性溶媒(水相)に添加して、水中油型エマルションを調製します⁷⁻⁹。最もよく用いられる安定剤は、ポリ(ビニルアルコール)、ポリソルベート(TWEEN®)、ポリ(アクリル酸)、ポロキサマー(またはPluronic®)、およびドデシル硫酸ナトリウムです。高温下または減圧下で有機溶媒を蒸発させることで、水相中に安定なナノ粒子が形成されます。「エマルション拡散法」では、油相は、若干の水溶性を持つ有機溶媒(酢酸エチル、炭酸プロピレンなど)に溶解させた高分子からなります¹⁰⁻¹¹。水中油型エマルションに一定量の水を添加すると、系の平衡が変化し、有機溶媒が油相粒子内部から水相へと拡散します。その結果、高分子の溶解度が低下し、粒子が形成されます。

別の手法として、「二重エマルション(水中油中水型)法」があります^{12,13}。二重エマルション法の主な利点は、親水性薬物を効率よくカプセル化できる点にあります。まず、水中に溶解させた薬物を高分子を含む有機溶媒に加えて、油中水型エマルションを作製します。ついで、少量のこのエマルションを、粒子を安定化させるためのPVAなどの乳化剤を含む異なる水相に加えます。有機溶媒を蒸発させることで、親水性薬物を含有した高分子ナノ粒子が得られます。「ナノ沈殿(または溶媒置換)法」では、ナノ粒子の作製に高分子の界面析出を利用します¹⁴。この方法では、高分子および疎油性薬物を水溶性有機溶媒(アセトンなどの半極性溶媒)に溶解させ、この溶液を安定剤を含む水溶液に加えます。溶媒拡散によって、水相と細かく分散した油滴との界面で高分子析出が起こり、固体粒子が形成されます。最後に、「塩析法」では、安定剤と高濃度の塩(塩化マグネシウム六水和物など)を含む水相と、アセトンやテトラヒドロフランなどの水溶性有機溶媒中に溶解させた高分子とで構成される、水中油型エマルションを調製します¹⁵。塩の濃度が高いため、水相への溶媒の拡散は起こりません。この水中油型エマルションに、大量の水を素早く添加すると、イオン強度が低下して水溶性有機溶媒が水相へ移動し、固体粒子が形成されます。この方法の

場合、利用する前に残存している塩と溶媒とを除去し、粒子を精製する必要があります。得られるナノ粒子／カプセルの大きさは、調製方法のみならず用いる高分子の分子量や親水性／疎水性の性質に大きく左右されます。

エマルション／溶媒蒸発法とミニエマルション法との組み合わせ

「エマルション／溶媒蒸発法」と「ミニエマルション法」とを組み合わせることで、サイズを制御し、粒度分布の狭い生分解性ナノ粒子を作製することができます^{16,17}。この方法では、高分子を含む非水溶性有機相と親水性安定剤を含む水相とを用いて乳化を行います。高いせん断力によって直径が約 50 ～ 500 nm の単分散ナノ液滴が形成され、ミニエマルションが得られます。続いて、この系から有機溶媒を蒸発させると球状のナノリアクター内に高分子が沈殿し、サイズの制御された固体粒子が形成されます。その合成方法をスキーム 1 に示します。



スキーム 1 水中油型ミニエマルジョン法による、生分解性ナノ粒子の合成

アニオン性ドデシル硫酸ナトリウム（SDS : sodium dodecyl sulfate）で安定化したナノ粒子の合成（スキーム 1）に用いた、5 種類の高分子を表 1 に示します。用いた高分子の分子量および種類が、ナノ粒子のサイズや粒度分布にもたらす影響について調べました。ナノ粒子は、72 mg の SDS と、0.3 g の高分子とを用いて調製しました。

表 1 ナノ粒子の調製に用いた生分解性高分子と、それぞれの分子量 (M_w)、略名、Aldrich 製品番号

Name	M_w (g/mol)	Abbrev.	Aldrich Prod. No.
Poly(L-lactide)	101,700	PLLA-1	93578
Poly(L-lactide)	67,400	PLLA-2	94829
Poly(ϵ -caprolactone)	115,000	PCL-1	440744
Poly(ϵ -caprolactone)	65,000	PCL-2	704105
Poly(D,L-lactide-co-glycolide) (RG 502)	15,000	PLGA	719889

これらの高分子を用いて調製したナノ粒子の直径の範囲は、76 ～ 165 nm でした。最も小さな粒子が得られたのは PLGA を用いた場合で、最も大きな粒子は PCL-2 を用いた際に得られました。安定剤として SDS を用いたこの方法では、分子量が高いほど大きな粒子が形成される傾向にありました（PLLA-1 : 121 nm、PLLA-2 : 106 nm）。高分子ナノ粒子の形態は、走査電子顕微鏡（SEM : scanning electron microscopy）を用いて確認し、すべての粒子は球状で、低い多分散性を示すことがわかりました。代表的な例として、PLLA-1 粒子を図 1 に示します。

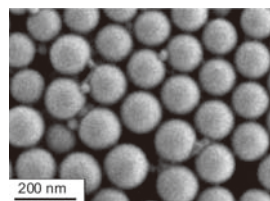


図 1 PLLA-1 の SEM 画像。球状で低い多分散性をもつことがわかります。

高分子粒子の担持効率は、疎水性蛍光色素マーカー（PMI : *N*-(2,6-diisopropylphenyl)-perylene-3,4-dicarboxylic diimide）をモデル化合物に用いて確認しました。高分子 1 g あたり 0.5 ～ 2.98 mg の PMI を含有する、一連の高分子ナノ粒子を調製しました。しかし、粒子の精製後、カプセル化した PMI の最終的な濃度は、用いた高分子の種類にかかわらず高分子 1 g あたり約 0.7 mg でした。ナノ粒子のもつ負の表面電荷を利用して、リン酸カルシウムのバイオミネラル化用テンプレートとしてこれらナノ粒子が用いられています¹⁸。

ナノ粒子の分解プロセス

脂肪族ポリエステル分解は、化学的な加水分解、微生物分解、酵素分解、熱分解などが、単独もしくは組み合わせられて進行します¹⁹。加水分解は水の吸収によって始まり、エステル結合の加水分解開裂が起こります。高分子の加水分解は、化学構造（結晶化度や疎水性など）や分子量および分子量分布純度、形態、加工方法、保管条件（温度、pH、塩の存在など）といったさまざまな要因の影響を受けます²⁰。ポリカプロラクトンは、少なくとも 2 つの段階を経て分解されます。第 1 の段階で、エステル結合の非酵素的なバルク加水分解が起こり、高分子鎖の炭素末端による自触媒作用を受けます。この段階では、PCL の形状と重量に変化は見られません。分子量が約 5,000 g/mol の単位まで PCL が分解されると、第 2 段階が始まります。この時点で鎖の切断速度は低下し、高分子マトリックスからのオリゴマーの拡散によって、重量は減少し続けます。PLGA 高分子は、乳酸とグリコール酸に分解され、二酸化炭素および水として体外へと排出されます。

PLLA-1、PLLA-2、PCL-1、PCL-2、および PLGA 粒子の分解を、重量平均分子量 (M_w) の減少速度から推測しました。ミニエマルション形成時における超音波処理（US : ultrasonication）が高分子の分解を引き起こすことを考慮し、超音波処理を行わずに調製した粒子の M_w も確認しました。保管期間に対する重量減少の相対値の変化を図 2 に示します。

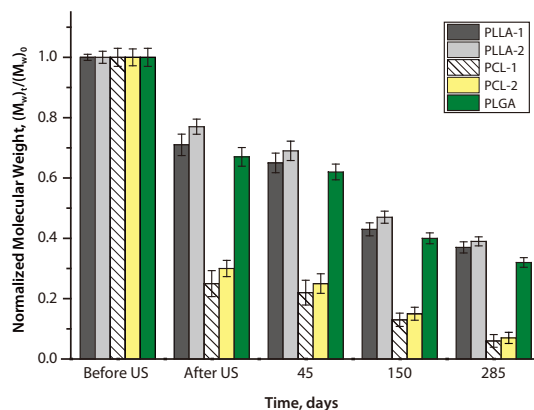


図 2 異なる種類と分子量の高分子を用いて測定した分子量の経時変化。超音波処理（US）の前および直後、ならびに US から 45 日後、150 日後、285 日後に分子量を測定しました。

超音波処理によってすべての粒子が分子量減少を示し、特に PCL は 70 ~ 75 wt.% の分子量減少を示しました。初期分子量の大きな高分子 (PLLA-1 および PCL-1) では、分子鎖長の短い高分子 (PLLA-2 および PCL-2) に比べて、超音波処理による減少が顕著にみられました。この重量減少率の違いは、超音波処理中に系に高いせん断力が生じたことにより、鎖の絡み合いをより多く含む高分子では熱分解が加速されたためであると考えられます。また、時間が経つにつれて分子量が急速に低下するのは、エステル結合のランダムな加水分解開裂の結果であり、アモルファス PLGA 粒子の分解速度が他の高分子に比べて僅かに速いのは、高い浸透性のためです。12 カ月以上経過したのち、PLLA、PCL、PLGA ナノ粒子の分子量はそれぞれ 51、78、54 wt.% 低下しましたが、分子量が低下したにもかかわらず、粒子サイズには大きな変化が認められませんでした。

結論

生分解性合成ポリエステルについては、これまでに膨大な数の研究が行われています。ポリエステルを基盤としたナノ粒子は、最も汎用性の高い有望な生体材料の 1 つであり、生物医学用途における特定の要件を満たすように合成することができます。高分子をナノ粒子として調製することで、親水性薬物、疎水性薬物、ワクチン、タンパク質、核酸のように、カプセル化する薬物の種類をコントロールできます²。ポリエステルベースのナノ粒子 (大きさは 50 ~ 500 nm の範囲) に、パクリタキセル、シスプラチン、ヒペリシンなどの抗がん剤をカプセル化することで薬物単独の場合と比較して、抗腫瘍効果は大きく向上します。この効果は、高分子材料が、カプセル化した薬物を酵素分解から効果的に保護するためであると考えられています。こうした保護効果に加えて、界面への薬物送達にナノ粒子を用いることもできます。例えば、ポリエステルベースのナ

ノ粒子は、組織工学で作製した人工血管に増殖因子を送達することが可能であり、PLGA ナノ粒子でコートしたステントは、血管壁に遺伝子や薬物を効果的に送達できます。さらに、高分子の組成や分子量を適切に選択すれば、カプセル化した薬物の分解速度や放出特性を広い範囲で調整することができます。粒子の形状、作製法、官能基化についての研究が進むことで新規の優れた生体材料が得られ、標的送達や治療診断 (theragnostics) における開発が今後も進展していくことでしょう。

References

- (1) Ulery, B.D., Nair, L.S., Laurencin, C.T., *J. Polym. Sci., B: Polym. Phys.*, **2011**, 49, 832.
- (2) Danhier, F., Ansorena, E., Silva, J.M., Coco, R., Le Breton, A., Préat, V., *J. Control. Release*, **2012**, 161, 505.
- (3) Zuo, Y., Yang, F., Wolke, J.G., Li, Y., Jansen, J.A., *Acta Biomater.*, **2010**, 6, 1238.
- (4) Jeong, S.J., Kim, S.H., Kim, Y.H., Jung, Y., Kwon, J.H., Kim, B.-S., Lee, Y.M., *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **2004**, 15, 645.
- (5) Aishwarya, S., Mahalakshmi, S., Sehgal, P.K., *J. Microencapsul.*, **2008**, 25, 298.
- (6) Soppimath, K.S., Aminabhavi, T.M., Kulkarni, A.R., Rudzinski, W.E., *J. Control. Release*, **2001**, 70, 1.
- (7) Desgouilles, S., Vauthier, C., Bazile, D., Vacus, J., Grossiord, J.-L., Veillard, M., Couvreur, P., *Langmuir*, **2003**, 19, 9504.
- (8) Lai, M.K., Tsiang, R.C.C., *J. Microencapsulation*, **2004**, 21, 307.
- (9) Liggins, R.T., Burt, H.M., *Int. J. Pharm.*, **2004**, 281, 103.
- (10) Hariharan, S., Bhardwaj, V., Bala, I., Sitterberg, J., Bakowsky, U., Ravi Kumar, M.N.V., *Pharm. Res.*, **2006**, 23, 184.
- (11) Messai, I., Delair, T., *Macromol. Chem. Phys.*, **2005**, 206, 1665.
- (12) Keegan, M.E., Falcone, J.L., Leung, T.C., Saltzman, W.M., *Macromolecules*, **2004**, 37, 9779.
- (13) Zambaux, M.F., Bonneaux, F., Gref, R., Moincent, P., Dellacherie, E., Alonso, M.J., Labrude, P., Vigneron, C., *J. Control. Release*, **1998**, 50, 31.
- (14) Paiphansiri, U., Tangboriboonrat, P., Landfester, K., *Macromol. Biosci.*, **2006**, 6, 33.
- (15) Allemann, E., Leroux, J.C., Gurny, R., Doelker, E., *Pharm. Res.*, **1993**, 10, 1732.
- (16) Musyanovych, A., Schmitz-Wienke, J., Mailänder, V., Walther, P., Landfester, K., *Macromol. Biosci.*, **2008**, 8, 127.
- (17) Urban, M., Musyanovych, A., Landfester, K., *Macromol. Chem. Phys.*, **2009**, 210, 961.
- (18) Ethirajan, A., Musyanovych, A., Chuvilin, A., Landfester, K., *Macromol. Chem. Phys.*, **2011**, 212, 915.
- (19) Hakkarainen, M., *Adv. Polym. Sci.*, **2002**, 157, 113.
- (20) Vert, M., Li, S., Garreau, H., *J. Control. Release*, **1991**, 16, 15.

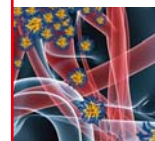
生分解性共重合体

生分解性ポリマーの最新製品リストは aldrich.com/biopoly をご覧ください。

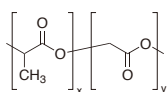
Well-defined Biodegradable Block Copolymers

Name	Structure	Molecular Weight	PDI	Degradation Time	Prod. No.
Poly(ethylene glycol) methyl ether-block-poly(D,L-lactide)-block-decane (PEG-PDLLA-decane)		PEG average M_n 2,000 PLA average M_n 2,000 average M_n 4,000 (total)	< 1.2	2-5 weeks	764736-1G
Poly(ethylene glycol) methyl ether-block-poly(D,L-lactide) (PEG-PDLLA)		PEG average M_n 2,000 PLA average M_n 2,000 average M_n 4,000 (total)	≤ 1.4	2-4 weeks	764779-1G
Poly(ethylene glycol) methyl ether-block-poly(lactide-co-glycolide) (PEG-PLGA)		PEG average M_n 5,000 PLGA average M_n 10,000 average M_n 15,000 (total)	< 1.6	1-4 weeks	765139-1G
		PEG average M_n 5,000 PLGA average M_n 55,000 average M_n 60,000 (total)	< 1.2	1-4 weeks	764752-1G
		PEG average M_n 2,000 PLGA average M_n 15,000 average M_n 17,000 (total)	≤ 1.6	1-4 weeks	764760-1G
		PEG average M_n 2,000 PLGA average M_n 4,000 average M_n 6,000 (total)	< 1.4	1-4 weeks	764825-1G

Name	Structure	Molecular Weight	PDI	Degradation Time	Prod. No.
Poly(lactide- <i>block</i> -poly(ethylene glycol))- <i>block</i> -poly(lactide) (PLA-PEG-PLA)		PEG average M_n 900 PLA average M_n 1,500 average M_n 3,900 (total)	< 1.2	<12 months	659630-1G
		PEG average M_n 10,000 PLA average M_n 1,000 average M_n 12,000 (total)	< 1.2	<12 months	659649-1G
Poly(lactide- <i>co</i> -glycolide)- <i>block</i> -poly(ethylene glycol)- <i>block</i> -poly(lactide- <i>co</i> -glycolide) (PLGA-PEG-PLGA)		PEG average M_n 1,000 PLGA average M_n 1,500 average M_n 4,000 (total)	≤ 1.2	1-2 weeks	764787-1G
		PEG average M_n 1,000 PLGA average M_n 1,500 average M_n 4,000 (total)	≤ 1.2	2-3 weeks	764817-1G
Poly(lactide- <i>co</i> -caprolactone)- <i>block</i> -poly(ethylene glycol)- <i>block</i> -poly(lactide- <i>co</i> -caprolactone) (PLCL-PEG-PLCL)		PEG average M_n 5,000 PLCL average M_n 6,000 average M_n 17,000 (total)	< 1.2	1-2 months	764833-1G



Poly(Lactide-*co*-Glycolide) Copolymers



Synonym(s)	End Group	Lactide:Glycolide (x:y)	Molecular Weight	Degradation Time	Prod. No.
RESOMER® RG 502 H	acid terminated	50 : 50	M_w 7,000-17,000	<3 months	719897-1G 719897-5G
RESOMER® RG 503 H	acid terminated	50 : 50	M_w 24,000-38,000	<3 months	719870-1G 719870-5G
RESOMER® RG 504 H	acid terminated	50 : 50	M_w 38,000-54,000	<3 months	719900-1G 719900-5G
RESOMER® RG 653 H	acid terminated	65 : 35	M_w 24,000-38,000	<5 months	719862-1G 719862-5G
RESOMER® RG 752 H	acid terminated	75 : 25	M_w 4,000-15,000	<6 months	719919-1G 719919-5G
RESOMER® RG 502	ester terminated	50 : 50	M_w 7,000-17,000	<3 months	719889-1G 719889-5G
RESOMER® RG 503	ester terminated	50 : 50	M_w 24,000-38,000	<3 months	739952-1G 739952-5G
RESOMER® RG 504	ester terminated	50 : 50	M_w 38,000-54,000	<3 months	739944-1G 739944-5G
RESOMER® RG 505	ester terminated	50 : 50	M_w 54,000-69,000	<3 months	739960-1G 739960-5G
RESOMER® RG 756 S	ester terminated	75 : 25	M_w 76,000-115,000	<6 months	719927-1G 719927-5G
PLGA	ester terminated	85 : 15	M_w 50,000-75,000	<6 months	430471-1G 430471-5G
RESOMER® RG 858 S	ester terminated	85 : 15	M_w 190,000-240,000	<9 months	739979-1G 739979-5G
PLGA	acrylate terminated	50 : 50	M_n 25,000	<3 months	764841-1G
PLGA 5 arm star with a glucose core	hydroxyl terminated	50 : 50	M_n 30,000	2-5 weeks	764868-1G
PLGA 5 arm star with a glucose core	hydroxyl terminated	50 : 50	M_n 50,000	3-6 weeks	764876-1G

生分解性ホモポリマー

生分解性ポリマーの最新製品リストは aldrich.com/biopoly をご覧ください。

Well-defined Biodegradable Polylactides

Name	Molecular Weight (M _n)	PDI	Degradation Time	Prod. No.
Poly(L-lactide)	5,000	< 1.2	>3 years	764590-5G
	10,000	< 1.2	>3 years	765112-5G
	20,000	< 1.2	>3 years	764698-5G
Poly(D,L-lactide)	5,000	< 1.2	<6 months	764612-5G
	10,000	< 1.2	<6 months	764620-5G
	20,000	< 1.2	<6 months	767344-5G

Poly(L-Lactide)s



Name	End Group	Molecular Weight	Degradation Time (years)	Prod. No.
RESOMER® L 206 S	ester terminated	-	>3	719854-5G 719854-25G
Poly(L-lactic acid)	ester terminated	M _n 50,000 M _w 67,000	>3	94829-1G-F 94829-5G-F
		M _n 59,000 M _w 101,000	>3	93578-5G-F
	ester terminated	M _n 99,000 M _w 152,000	>3	81273-10G
	ester terminated	M _n 103,000 M _w 259,000	>3	95468-1G-F 95468-5G-F

Poly(D,L-Lactide)s

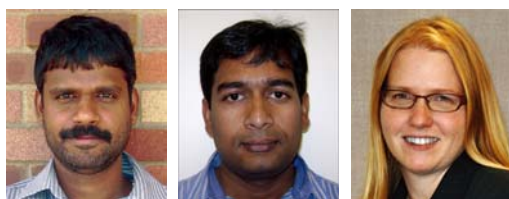


Name	End Group	Molecular Weight	Degradation Time (months)	Prod. No.
RESOMER® R 202 H	acid terminated	M _w 10,000-18,000	<6	719978-1G 719978-5G
RESOMER® R 203 H	acid terminated	M _w 18,000-24,000	<6	719943-1G 719943-5G
RESOMER® R 202 S	ester terminated	M _w 10,000-18,000	<6	719951-1G 719951-5G
RESOMER® R 203 S	ester terminated	M _w 18,000-28,000	<6	719935-1G 719935-5G

Other Biodegradable Homopolymers

Name	Structure	Inherent Viscosity (dL/g)	Degradation Time (months)	Prod. No.
Polyglycolide, PGA		1.1-1.7 (0.1 % (w/v) in hexafluoroisopropanol at 25 °C)	6-12	457620-1G 457620-5G 457620-10G
Poly(dioxanone), RESOMER® X 206 S		1.5-2.2 (0.1 % (w/v) in hexafluoroisopropanol at 30 °C)	<6	719846-1G 719846-5G

生体直交型クリック反応による汎用性の高い細胞培養足場の作製



^{1,2}Malar A. Azagarsamy, ¹Navakanth R. Gandavarapu, ^{1,2}Kristi S. Anseth*
¹Department of Chemical and Biological Engineering and ²the Howard Hughes Medical Institute, University of Colorado at Boulder, Boulder, CO 80303
 Email: Kristi.Anseth@colorado.edu

はじめに

生体組織における重要な複雑な細胞外環境を3次元的(3D)に再現できるような生物材料足場の開発は、組織工学や再生医療の分野において非常に重要なテーマです。このような疑似的な合成細胞外マトリックス(ECM: extracellular matrix)として広く研究開発されてきた材料の1つに、ヒドロゲルがあります。ヒドロゲルは、水分含有量や弾性率、輸送特性が高いために2Dや3D環境下での細胞培養に適しており、また、軟部組織環境のもつ機械的特性を模擬的に再現します¹⁻⁵。

基本的に、ヒドロゲルは、物理的、イオン性、共有結合性相互作用によって架橋結合を形成するような、幅広い種類の天然および非天然(合成)前駆体化合物から合成されます²。このような系で細胞を培養する場合、天然ポリマーから作製したヒドロゲルでは、数多くの生体信号(細胞接着性タンパク質や増殖因子、タンパク質分解ペプチドなど)が得られますが、高い再現性を保ちながら、最終的に得られる物質の物理化学的性質を柔軟に制御できない場合があります。一方、合成高分子から作製したヒドロゲルは、機械的特性や膨潤、分解特性などの重要な性質を正確に制御できる反面、細胞が認識できない化学を使用します。そのため、天然および合成由来材料の両方の利点を兼ね備えた、細胞送達用媒体や細胞培養系としてのゲルを合成するための研究開発が精力的に進められています。本稿では、ポリ(エチレングリコール)(PEG)を基盤とするヒドロゲルに関連した例をいくつかご紹介します。PEGヒドロゲルは2次元および3次元細胞培養で広く利用されており、ゲル特性の制御や細胞からの信号を取り込むためのさまざまな手法が検討されています³⁻⁵。より重要な点は、PEG材料が非特異的なタンパク質相互作用を最小限にすることであり、そのため、細胞が細胞外環境からの特定の信号をどのように受け取るのかについての理解が容易になります。

PEGヒドロゲル合成の化学および分子設計原理

PEGヒドロゲルは、通常は水性条件下で、直鎖状もしくは分岐/星型の高分子鎖を、共有結合的または非共有結合的に互いに架橋させて合成します。物理的に架橋したPEGとポリ(プロピレンオキシド)のブロック共重合体(Pluronic®など)は、37℃付近に調整された下限臨界溶解温度(LCST: lower critical solution temperature)をもつ、*in situ*生成ヒドロゲルとして幅広く用いられていますが⁶、このように非共有結合的に構築されたヒドロゲルの機械的性質には限界があります。これに代わるものとして、共有結合による架橋が、安定性の高いPEGヒドロゲルを作製するには必要不可欠です²。

細胞培養用に共有結合性架橋ネットワークを構築するには、架橋方法の細胞適合性にも留意する必要があります。この場合、(i)連鎖重合および(ii)逐次重合の2つの重合メカニズムが広く用いられています^{4,5}。末端官能基化PEGの連鎖重合は信頼性の高いシンプルなものですが⁴、結果として形成されるネットワーク構造は複雑で構造的に不均一であり、成長鎖長の分布が広く、分解は架橋点に限定されます。最近になって、制御されたより均一な高分子架橋ネットワークを実現すると同時に、生体信号を導入する簡便なルートを与えるものとして、PEGの逐次重合が広く用いられるようになってきました。通常、ゲルの形成には平均官能基数が2よりも大きい必要があります。逐次重合によるPEGヒドロゲルの場合、典型的には多官能性化合物系を二官能性化合物を用いて化学量論的に架橋させます。必要なメッシュサイズや架橋密度に応じて、これら化合物のどちらか一方または両方を用いてPEGヒドロゲルを得ることができます(図1)。3D細胞培養、組織再生を目的とするヒドロゲルの場合、細胞やタンパク質の存在下でゲルの形成が必要なが多いために、生理条件下で、高効率で毒性のない化学的架橋方法が不可欠です。このように複雑な条件が要求される課題の解決のために、バイオエンジニアリングの分野では、穏やかで特異的でありながらも生理的pHや温度条件で適切な反応速度をもつような、ヒドロゲル合成に適した逐次重合反応の探索が続けられています。

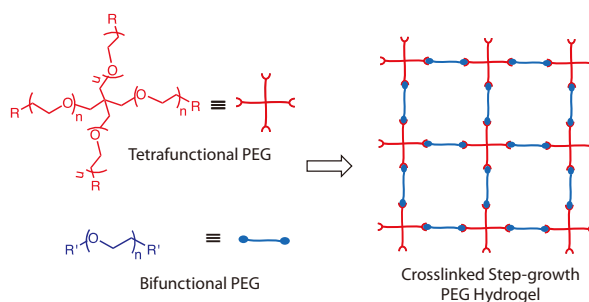


図1 4分岐PEG前駆体および直鎖状PEG前駆体の構造と、これらのPEG高分子を用いて形成された逐次重合ヒドロゲルの模式図

複雑かつ明確に定義された足場材料の合成におけるクリック反応の利用

生体材料分野に目覚ましい進歩をもたらしている最新の化学的手法の1つが、Sharplessらによって提唱された「クリックケミストリー」です。この反応は、水中を含むどのような条件下でも、高速、高選択性で高収率に2つの分子を互いに結合させることができます⁷。銅触媒を用いたアジド-アルキン付加環化反応(CuAAC: copper catalyzed azide-alkyne cycloaddition)がクリック反応の最初の例であり(図2A)、その後、マイケル付加反応(図2B)、光開始チオールエン反応(図2C)、Staudingerライゲーション反応、歪みで促進されるアジド-アルキン付加環化反応(SPAAC: strain promoted azide-alkyne cycloaddition)などのさまざまな化学反応が、クリックケミストリーの概念を満たすものとして知られています⁷⁻⁹。これら反応は、互いに直交性であるだけでなく生体系の官能基に対しても直交性であるため、バイオマテリアルの分野において、十分に制御され高度に規定された複雑な足場材料を作製するための優れた化学的手法として普及しています。

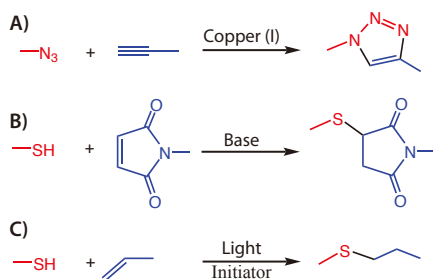


図2 代表的なクリック反応の例。A) 銅触媒を用いたアジド-アルキン付加環化反応、B) チオールとマレイミドによる塩基触媒を用いたマイケル付加反応、C) 光開始チオール-エンカップリング反応

ここまでは、PEG ヒドロゲルとクリックケミストリーについて紹介してきましたが、以降の節では、(i) 細胞培養用 PEG ヒドロゲルの作製におけるさまざまなクリック反応の利用と、(ii) 細胞機能を制御するためにいくつかのエピトープ（抗原決定基）によってこれらの材料を高い精度で官能基化する上で、クリック反応の直交性がどのように利用されているのか、について取り上げます。

マイケル付加反応

マイケル型付加反応は、穏やかな反応条件と適度な反応速度のため、細胞の存在下でヒドロゲル材料を作製するのに適したクリック反応です。このタイプの反応は図2Bに示したように、チオラートアニオン（マイケルドナー）が、 α, β -不飽和ケトン（マイケルアクセプター）の電子不足二重結合を求核攻撃することによって進行します。ヒドロゲルを形成するマイケルアクセプターとしては、ビニルスルホンや、マレイミド、アクリラートが広く用いられています。Hubbell らのグループ^{10,11}は、細胞培養用に4分岐 PEG テトラビニルスルホンとシステイン含有ペプチドを用いて逐次重合ヒドロゲルの作製に成功した、最初のグループの1つです（図3）。チオールのチオラートアニオンへの脱プロトン化がこれらの反応には重要であり、塩基が必要ですが、Hubbell らは単に溶液の pH を調整することでこの問題を回避しました。この合成ルートによって、追加の修飾反応を行わずにシステイン含有ペプチドの導入が可能となり、また、細胞接着性を制御する多くのエピトープペプチド（例えば、Arg-Gly-Asp-Ser (RGDS)、Ile-Lys-Val-Ala-Val (IKVAV)）のほか、細胞分泌プロテアーゼによって分解されるプラスミン感受性ペプチド架橋剤の導入も行われています。最近、Garcia ら¹²は、非常に低濃度の塩基を用いてマレイミド官能基化多分岐 PEG を速い反応速度でジチオールペプチド架橋剤と反応させることでヒドロゲルが得られることを報告しており、このヒドロゲルは細胞をカプセル化する上で有利であることも明らかになっています。

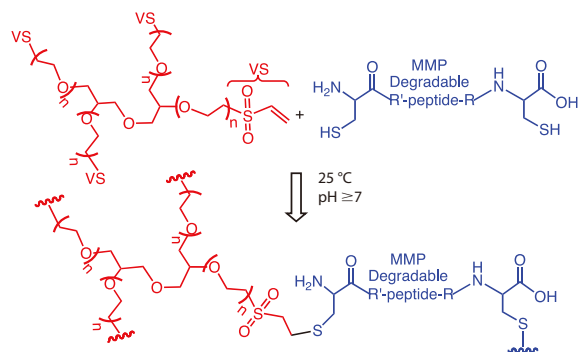


図3 マイケル付加反応を用いた、4分岐 PEG テトラビニルスルホンとシステイン末端官能基化 MMP 開裂ペプチドによる、逐次重合ヒドロゲルの合成

チオール-エン化学

マイケル付加反応（アニオン性）とは異なり、チオール-エン反応はラジカル機構によって進行し、電子不足または電子過剰の炭素-炭素二重結合（-エンと呼ばれる）のいずれかにチール（thiyl）ラジカルが付加します⁸。代表的なチオール-エン反応では（図4A）、(i) 開始ラジカルによるチオールからの水素原子の引き抜き、(ii) 生成したチールラジカルのアルケン官能基への付加による炭素ラジカルの生成、(iii) 他のチオールへの炭素ラジカルの連鎖移動と新たなアルケンへ伝播するチールラジカルの再生成が起こります。チールラジカルは、熱、光、レドックス重合開始剤によって生成させることができますが、細胞関連用途において特に適しているのは光重合開始剤で、細胞適合性をもつ光重合開始剤についてはすでに多くの例が報告されており⁸、また、空間的にも時間的にも反応を制御することが可能です。

光開始チオール-エン化学を用いたペプチド官能基化 PEG ヒドロゲルの合成について、最初に報告したのは我々のグループです¹³。ノルボルネン官能基化多分岐型 PEG とシステイン含有キモトリプシン開裂ペプチドとを、生理的 pH 条件下で PBS バッファ中にて、水溶性光重合開始剤として lithium phenyl-2,4,6-trimethylbenzoylphosphine (LAP) と 365 ~ 420 nm の光を用いて架橋し、PEG ヒドロゲルを合成しました（図4）。ゲル作製条件と得られたヒドロゲル系によって、高いレベルの細胞生存率（>95%）が得られました。さらに重要なことに、この化学反応は光に基づいているため、ゲルの特定部位で細胞接着性 RGDS のような細胞シグナルのフォトパターニングが可能で（図4）、その結果、細胞との相互作用や細胞形態を局所的に決定することができます。このように、細胞をカプセル化した後のヒドロゲル足場へチオール化細胞伝達化合物（チオール化タンパク質など）を容易に導入することで、細胞機能（分化など）を時間的および空間的に理解し操作できる可能性がもたらされます。また同様に、足場材料に特定の cell survival protein¹⁴ や細胞間相互作用を模倣するタンパク質¹⁵ を保持したチオール化親和性ペプチドの導入がチオール-アクリラート重合によって行われており、ECM のさらなる機能性を足場材料に組み込むことができるようになっています。

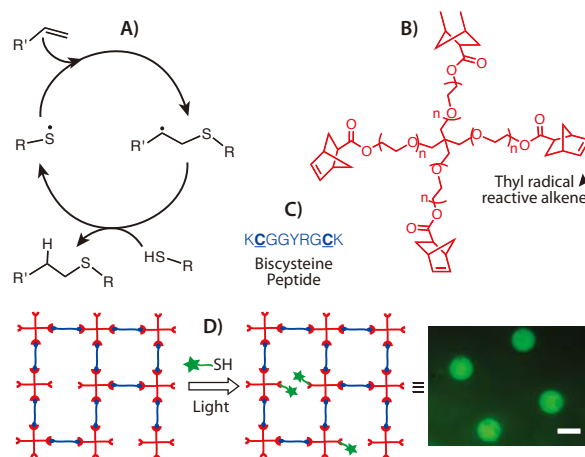


図4 チオール-エン光化学反応。A) チオール-エン反応の一般的なメカニズム、B) エンとして通常用いられる、4分岐 PEG テトラノルボルネンの構造、C) システイン含有キモトリプシン開裂ペプチド架橋剤、D) チオール-エン重合によって作製したネットワークのフォトパターニングを表す模式図。非化学量論的にネットワークを反応させた後、ヒドロゲル足場内の特定箇所にチオール化細胞接着性リガンドを結合させます。画像は、Alexafluor488 で標識した RGD のフォトパターニングから得られたものです。スケールバーは、500 μm 。

歪みで促進されるアジド - アルキン付加環化反応

さまざまなクリック反応の中で、材料科学から生体医科学までの広い分野で用いられているのは、銅 (I) 触媒を用いたアジド - アルキン付加環化反応 (CuAAC: copper (I) catalyzed azide-alkyne cycloaddition) によって 1,2,3-トリアゾールを形成させる反応 (図 2A) であり、アジドやアルキン、トリアゾールが、さまざまな反応条件やほとんどの生体系に対してほぼ不活性であるのがその理由です。このクリック反応が広く用いられるようになったのは、古典的な Huisgen 付加環化反応に銅 (I) 触媒が使われるようになって以降ですが、遷移金属の毒性のために生体系への利用は大きく制限されていました。特に細胞培養用途としては、CuAAC によって合成したヒドロゲルは細胞をカプセル化した足場ではなく単なる既製の細胞培養基材にすぎなかったものの^{16,17}、ヒドロゲル足場材料に逐次クリック反応 (次節を参照) 技術が用いられるようになるきっかけとなりました¹⁸。

CuAAC のこの制約を克服するために Bertozzi と共同研究者らは、シクロオクチンとアジドを用いることで、銅触媒を必要としない、歪みで促進されるアジド - アルキン付加環化反応 (SPAAC: strain-promoted azide-alkyne cycloaddition) を開発しています (図 5)。⁹ この反応は、細胞のカプセル化に適した理想的な生体直交型反応です。この銅を用いないクリックケミストリーの概念を用いて、4 分岐 PEG テトラアジドとジシクロオクチン末端マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP: matrix metalloproteinase) 分解ペプチド (図 6A) から PEG ヒドロゲルが合成されています^{19,20}。この場合、ゲルの架橋に分解性ペプチドを用いることで、細胞から分泌される MMP によるネットワークの分解や再構成が可能となります。一例として、電子吸引性フッ素とともに特徴的な構造的歪みを有していることから、gem-ジフルオロシクロオクチン (DIFO: difluorocyclooctyne)^{9,19} がより速い反応速度を得る目的で用いられています (図 5)。細胞の存在下、生理条件で 5 分以内にゲル化が起こります。

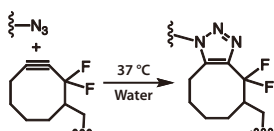


図 5 アジドとジフルオロシクロオクチンによる SPAAC によって銅触媒が不要となり、生理条件下で材料合成が可能となります。

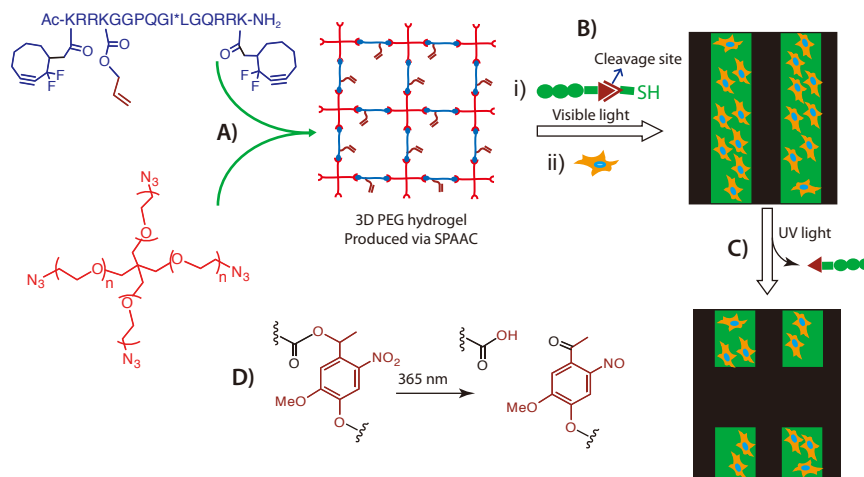


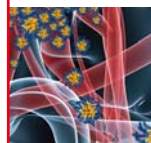
図 6 SPAAC ヒドロゲルの化学: **A)** 4 分岐 PEG テトラアジドとジシクロオクチン MMP 分解性ペプチドを用いた、SPAAC クリックケミストリーによる 3D 逐次重合ヒドロゲルの形成 (*は開裂サイトを示します)、**B)** SPAAC で作製したヒドロゲルのチオール - エンフォターニングと、その後の細胞接着、**C)** パターン化された信号の空間的除去と、それに伴う細胞脱離、**D)** ニトロベンジルエーテルの光開裂反応。

逐次クリック反応

多くの生物学的応用では、ある特定の時点において、もしくは空間的に規定された領域への機能性シグナルの導入が望まれることがしばしばあります。これらのシグナルには、生存シグナル (インテグリン結合分子など) や増殖因子 (サイトカインを捕捉する親和性リガンドなど)、細胞特異的な分解サイト (シグナルの発生や細胞運動を可能にする、MMP で切断されるリンカーなど) が考えられます。これらの導入に、逐次クリック反応の利用が検討されています。まず、クリックケミストリーによってゲルを作製し、続いて、さらにクリックケミストリーを用いることで時間的、空間的に制御しながらゲルを修飾します。チオールエン反応は光照射によって引き起こされるため、PEG ヒドロゲル細胞周辺環境へよく定義されかつ高精度でシグナルを導入する上で、強力で汎用性の高い手法です。

SPAAC とチオールエンクリック反応との間の直交性を利用した例として、我々の研究グループでは、SPAAC によって PEG ヒドロゲルを形成した後 (図 6A)、チオールエンクリック反応によって時間的、空間的な光パターンを作製しました。この場合、ペプチド架橋剤がアリールペンダント基を有するために (図 6A)、ゲル化後のフォトパターニングが可能です¹⁹。このヒドロゲルマトリクス内にカプセル化された細胞は、90% を超える細胞生存率を示しただけでなく、パターン化された生化学的信号にも応答します。例えば、ゲルのある特定の位置にあるパターン化 RGD ペプチドにおいて、細胞形態や細胞接着の空間的制御が可能です (図 6A)。同様に、開裂時に強い蛍光を発する、自己消光性ジフルオレセインコラゲナーゼ開裂ペプチドを光パターン化すると、コラゲナーゼ活性の高い領域 (つまり細胞周囲) においてより強い蛍光が認められ、細胞の局所的活性をリアルタイムで可視化することが可能です。

さらに、我々は直交性の光カップリング反応および光開裂反応を用いることで、生体関連信号の光可逆的なパターニングを行いました (図 6B および 6C)²¹。光開裂を行うために、ニトロベンジルエーテルリンカー²¹⁻²³ を含有するチオール化 RGD ペプチドを用いて、さまざまな波長の光によってカップリングおよび開裂の時間的、空間的な制御を行ったところ (図 6D)、ヒドロゲル中の特定箇所にあるヒト間葉系幹細胞 (hMSC: human mesenchymal stem cell) 群の細胞接着および脱離を、外部から操作することが可能になりました (図 6B および 6C)。このようにヒドロゲル足場上で生化学的信号を動的に制御できることで、再生医療における細胞デリバリーを目的とした、特定のシグナルおよび細胞を空間的に制御しながら放出できるだけでなく、特定かつ複数の信号を時間的、空間的に制御することによって、幹細胞の分化を調整できる可能性もあります。



結論

クリックケミストリーは、非常に簡便で汎用性を持ち、再生医療用途の複合材料足場を構築する上で生体直交性を示すことから、過去十年の間に、細胞培養および送達用の生体材料足場の分野に数々の技術改革をもたらしています²⁴。クリック反応によって、高機能性 PEG ヒドロゲルの作製が可能となっただけでなく、例えば逐次クリック反応のような革新的手法によって、時間的に制御しながらヒドロゲル足場の特定箇所に生化学的シグナルを導入できるようになりました。しかしながら、化学的手法によって解決できる可能性を持つ領域、特に生体材料足場の設計において材料開発上の技術革新が多く生まれているわけではありません。例えば、これらの非常に優れた化学的手法は、3D 環境での細胞接着や形態などの細胞の性質を根本から理解し制御するには大いに有用ではあるものの、これを応用して、幹細胞ニッチでの時間的、空間的に複雑なシグナルについての理解を深め、幹細胞の効率的な分化を *in vitro* で制御しながら操作するという大きな可能性を秘めた課題がまだ残されています。

References

- (1) Peppas, N. A.; Hilt, J. Z.; Khademhosseini, A.; Langer, R. *Adv Mater*, **2006**, 18, 1345-1360.
- (2) Lee, K. Y.; Mooney, D. J. *Chem. Rev.* **2001**, 101, 1869-1880.
- (3) Tibbitt, M. W.; Anseth, K. S. *Biotech. Bioeng.* **2009**, 103, 655-663.
- (4) Kloxin, A. M.; Kloxin, C. J.; Bowman, C. N.; Anseth, K. S. *Adv. Mater.* **2010**, 22, 3484-3494.
- (5) Zhu, J. *Biomaterials*, **2010**, 31, 4639-4656.
- (6) Jeonga, B.; Kimb, S. W.; Baeb, Y. H. *Adv. Drug Del. Rev.* **2002**, 54, 37-51.
- (7) Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 2004-2021.
- (8) Hoyle, C. E.; Bowman, C. N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 1540-1573.
- (9) Sletten, E. M.; Bertozzi, C. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 6974-6998.
- (10) Pratt, A. B.; Weber, F. E.; Schmoekel, H. G.; Müller, R.; Hubbell, J. A. *Biotech. Bioeng.* **2004**, 86, 27-36.
- (11) Lutolf, M. P.; Hubbell, J. A. *Biomacromolecules*, **2003**, 4, 713-722.
- (12) Phelps, E. A.; Enemchukwu, N. O.; Fiore, V. F.; Sy, J. C.; Murthy, N.; Sulchek, T. A. Barker, T. H.; García, A. J. *Adv. Mat.* **2012**, 24, 64-70.
- (13) Fairbanks, B. D.; Schwartz, M. P.; Halevi, A. E.; Nuttelman, C. R.; Bowman, C. N.; Anseth, K. S. *Adv. Mat.* **2009**, 21, 5005-5010.
- (14) Lin, C. -C.; Anseth, K. S. *Adv. Funct. Mater.* **2009**, 19, 2325-2331.
- (15) Lin, C. -C.; Anseth, K. S. *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)* **2011**, 108, 6380-6385.
- (16) Malkoch, M.; Vestberg, R.; Gupta, N.; Mespouille, L.; Dubois, P.; Mason, A. F.; Hedrick, J. L.; Liao, Q.; Frank, C. W.; Kingsbury, K.; Hawker, C. J. *Chem. Commun.* **2006**, 2774-2776.
- (17) Liu, S. Q.; Ee, P. L. R.; Ke, C. Y.; Hedrick, J. L.; Yang, Y. Y. *Biomaterials*, **2009**, 30, 1453-1461.
- (18) Polizzotti, B. D.; Fairbanks, B. D.; Anseth, K. S. *Biomacromolecules* **2008**, 9, 1084-1089.
- (19) DeForest, C. A.; Polizzotti, B. D.; Anseth, K. S. *Nature Mater.* **2009**, 8, 659-664.
- (20) DeForest, C. A.; Sims, E. A.; Anseth, K. S. *Chem. Mater.* **2010**, 22, 4783-4790.
- (21) DeForest, C. A.; Anseth, K. S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 1816-1819.
- (22) Kloxin, A. M.; Kasko, A. M.; Salinas, C. N.; Anseth, K. S. *Science* **2009**, 324, 59-63.
- (23) DeForest, C. A.; Anseth, K. S. *Nature Chem.* **2009**, 8, 659-664.
- (24) Nimmo, C. M.; Shoichet, M. S. *Bioconjugate Chem.* **2011**, 22, 2199-2209.



Aldrich Material Science Congratulates

Professor Kristi Anseth

Winner of the Inaugural Materials Research Society (MRS) Mid-Career Researcher Award

Aldrich Materials Science が贈呈する the Materials Research Society (MRS) Mid-Career Researcher Award は、中堅キャリア研究者による材料研究分野の優れた研究成果を対象とした賞です。材料分野で目覚ましい指導力を発揮している 40 歳から 52 歳の研究者（個人）を表彰、助成することを目的としています。

MRS は、第一回 Mid-Career Researcher Award の受賞者に、「材料学と生物学との学際的な領域において、生物学における課題を根本から理解し、再生医療や幹細胞分化、ガン治療の分野での進歩をもたらす新規機能性生体材料の創出に極めて優れた成果をもたらした」として、Colorado 大学 Boulder 校の Kristi S. Anseth 博士を選出しました。



Kristi Anseth 教授のご紹介

現在、Anseth 博士は Howard Hughes Medical Institute の研究員であり、化学生物工学科の distinguished professor です。薬物送達や再生医療用の新規生体材料の研究など、生物学と工学との学際的な領域の研究に取り組まれています。Anseth 博士の研究グループにより、生体材料や組織工学の分野において、査読付き学会誌に 200 以上の論文が発表され、180 を超える招待講演が行われています。

aldrich.com/midcareeraward

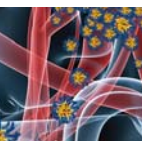
ポリエチレングリコール

PEGやPEOの最新製品情報は aldrich.com/PEG をご覧ください。

Heterobifunctional PEGs

α-end	ω-end	Structure	Molecular Weight	Prod. No.
Azide	OH		average M_n 400	689440-250MG
Biotin	Maleimide		PEG average M_n 3,400 (n~77) average M_n 3,800	757713-100MG
			PEG average M_n 5,000 (n~110) average M_n 5,400	757748-100MG
Biotin	NH ₂		average M_n 700	689882-100MG
			PEG average M_n 2,000 (n~45) average M_n 2,300	757756-100MG
			average M_n 3,700	757764-100MG
			PEG average M_n 5,000 (n~110) average M_n 5,300	757772-100MG
			PEG average M_n 3,400 (n ~ 77) average M_n 3,800	757799-100MG
Maleimide	NHS ester		average M_n 4,000	757853-100MG
			average M_n 3,000	579319-250MG
Maleimide	Formyl		average M_n 3,000	579319-250MG
COOH	SH		PEG average M_n 1,000 (n~22) average M_n 1,100	757810-500MG
			PEG average M_n 2,000 (n~45) average M_n 2,100	757829-500MG
			PEG average M_n 3,400 (n~77) average M_n 3,500	757837-500MG
			average M_n 5,100	757845-500MG
COOH	NH ₂		PEG average M_n 1,000 (n~22) average M_n 1,100	757861-100MG
			PEG average M_n 2,000 (n~45) average M_n 2,100	757888-100MG
			PEG average M_n 3,400 (n~77) average M_n 3,500	757896-100MG
			average M_n 5,100	757918-100MG
			PEG average M_n 10,000 (n ~230) average M_n 10,100	757705-100MG
COOH	Fmoc		average M_n 1,600	689653-100MG
COOH	OH		M_p 10,000	671037-100MG
				671037-500MG
			M_p 3,000	670812-100MG
				670812-500MG

生体直交型クリック反応による汎用性の高い細胞培養基足場の作製



α -end	ω -end	Structure	Molecular Weight	Prod. No.
NH ₂	OH		M _p 5,000 M _p 10,000	672130-100MG 672130-500MG 671924-100MG 671924-500MG
Methacrylate	OH		average M _n 360 average M _n 500	409537-5ML 409537-100ML 409537-500ML 409529-100ML 409529-500ML
Tetrahydrofurfuryl ether	OH		average M _n 200	309524-25G

PEG-core bis-MPA Dendrons

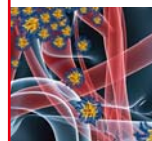
PEG コア型デンドロン製品については、24 ページをご覧ください。

Homobifunctional PEGs

α - and ω -ends	Structure	Molecular Weight	Prod. No.
Acetylene		average M _n 2,000	699810-500MG
Azide		average M _n 10,000	767530-1G
2-Bromoisobutyrate		average M _n 700	767573-1G
SH		average M _n 1,000 average M _n 3,400 average M _n 8,000	717142-1G 704539-1G 705004-1G
Tosylate		average M _n 1,300 average M _n 3,500 average M _n 10,000	719080-5G 701750-5G 705047-5G
NH ₂		M _w 2,000 M _w 3,000 M _w 20,000	14501-250MG 14501-1G 14502-250MG 14502-1G 14509-1G-F
COOH		average M _n 250 average M _n 600	406996-100G 407038-250ML 407038-1L
Acrylate		average M _n 250 average M _n 1,000 average M _n 6,000 average M _n 10,000 average M _n 20,000	475629-100ML 475629-500ML 729086-1G 701963-1G 729094-1G 767549-1G
Methacrylate		average M _n 550 average M _n 6,000 average M _n 10,000 average M _n 20,000	409510-250ML 409510-1L 687537-1G 725684-1G 725692-1G
Vinyl		average M _n 250	410195-5ML 410195-25ML
Glycidyl		average M _n 500	475696-100ML 475696-500ML

Monofunctional PEGs

ω-end	Structure	Molecular Weight	Prod. No.
Acetylene		average M _n 2,000	699802-500MG
Azide		average M _n 200	712590-100MG
		average M _n 400	767557-1ML
		PEG average M _n 1,000	733407-1G
		PEG average M _n 2,000	689807-250MG 689807-1G
		PEG average M _n 5,000	689475-250MG 689475-1G
SH		average M _n 10,000	726168-250MG
		PEG average M _n 20,000	726176-250MG
		PEG average M _n 350	672572-250MG
		average M _n 1,000	729108-1G 729108-5G
		average M _n 5,000	729159-1G 729159-5G
NH ₂		average M _n 400	767565-1ML
2-Bromoisobutyrate		average M _n 600	767581-1ML
4-Cyano-4-pentanoate dodecyl trithiocarbonate		average M _n 1,400	752487-1G 752487-5G
		average M _n 2,400	751634-1G 751634-5G
		average M _n 5,400	751626-1G 751626-5G
		average M _n 1,100	740705-1G
DDMAT		average M _n 1,100	740705-1G
Maleimide		average M _n 2,000	731765-1G 731765-5G
		PEG average M _n 750	712558-250MG
		PEG average M _n 5,000	63187-1G 63187-5G
NHS ester		PEG average M _n 10,000	712469-250MG
		PEG average M _n 5,000	85973-1G
Succinylamine		PEG average M _n 20,000	21954-1G
Tosylate		average M _n 1,000	729116-5G
		average M _n 5,000	729132-5G
Acrylate		average M _n 2,000	730270-1G
		average M _n 5,000	730289-1G



生体直交型クリック反応による汎用性の高い細胞培養足場の作製

バルク供給／スケールアップのご相談は…

ファインケミカル事業部 Tel:03-5796-7340 Fax:03-5796-7345 E-mail:sialjpf@cial.com

ω -end	Structure	Molecular Weight	Prod. No.
Methacrylate		average M_n 200	729841-25G
		average M_n 300	447935-100ML 447935-500ML
		average M_n 500	447943-100ML 447943-500ML
		average M_n 950	447951-100ML 447951-500ML
		average M_n 2,000	457876-250ML 457876-1L
		average M_n 4,000	730327-1G
OH		average M_n 200	705276-25G
		average M_n 550	202487-5G 202487-250G 202487-500G
		average M_n 750	202495-250G 202495-500G
		average M_w 2,000	81321-250G 81321-1KG
		average M_n 5,000	81323-250G 81323-1KG
		average M_n 10,000	732621-5G 732621-25G
		average M_n 20,000	732613-5G 732613-25G

Glycols, Other PEGs, and PEOs

Name	Structure	Molecular Weight	Prod. No.
Tetraethylene glycol		average M_n 200	110175-100G 110175-1KG 110175-3KG 110175-20KG
Pentaethylene glycol		average M_n 250	335754-5G 335754-25G
Hexaethylene glycol		average M_n 300	259268-5G 259268-25G
Poly(ethylene glycol)		average M_n 1,500	81210-1KG 81210-5KG
		average M_n 2,050	295906-250G 295906-500G
		average M_n 3,350	202444-250G 202444-500G
		average M_n 10,000	309028-250G 309028-500G
		average M_n 20,000	81300-1KG 81300-5KG
Poly(ethylene oxide)		average M_n 100,000	181986-5G 181986-250G 181986-500G
		average M_n 200,000	181994-5G 181994-250G 181994-500G
		average M_n 600,000	182028-5G 182028-250G 182028-500G

キトサンを基盤とした生体材料



Guolin Wu¹, Hui Gao², and Jianbiao Ma^{1,2*}

¹Key Laboratory of Functional Polymer Materials of MOE, Institute of Polymer Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071 (PR China)

²School of Chemistry and Chemical Engineering, Tianjin University of Technology, Tianjin 300191, P. R. China

はじめに

キチンは天然の多糖類で、セルロースについて世界で2番目に豊富な天然バイオポリマーです。まず、高弾性繊維であり、カニ、エビ、ロブスターなどの節足動物の外骨格や、一部の菌類の細胞壁の主成分です。また、不溶性、直鎖状、高結晶性の高分子で、N-アセチル-D-グルコサミンがアイソタクチックにつながった構造をとります(図1A)。キトサンは、天然に存在する唯一のカチオン性アミノ多糖類(図1B)で、キチンのN-脱アセチル化によって生成し、N-アセチルグルコサミンとグルコサミンとの共重合体です。キトサンは、脱アセチル化度(DDA: degree of deacetylation)によって特性評価され、DDAが>40%の場合は希酢酸に可溶です。キトサンは、生体適合性に優れると同時に、生分解性も良好で酸性分解物を生成せず、毒性を持たないことから、創傷治癒や、血液透析膜、薬物および遺伝子送達系、インプラントコーティング、組織工学/組織再生などのさまざまな生物医学の分野で広く研究されています。キトサンに第一級アミンや水酸基を介してペンダント基をグラフト化することにより、高分子骨格に手を加えることなく元来の性質を維持しながら、生物医学用に特化した機能性をキトサンに付与することができます。

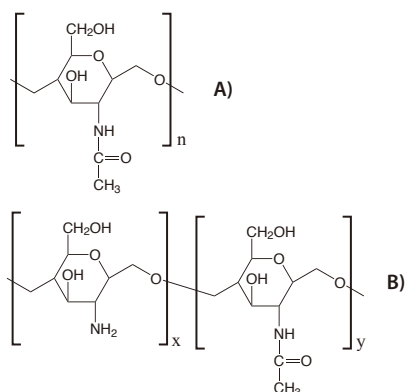


図1 A) キチンおよび B) キトサンの化学構造

キトサンの薬物送達および遺伝子送達での利用

キトサンは、そのユニークな生理化学的、生物学的性質のために、薬物送達系での利用に理想的な材料です。例えば、腸や鼻腔、頬の粘膜の薬物透過性がキトサンによって向上することが報告されています¹。インスリンをカプセル化したキトサンナノ粒子がウサギの鼻腔への送達用に調製されたのは、1997年のAlonsoらの研究が最初です²。これまでの研究から、インスリンやカルシトニンをはじ

めとするペプチドの鼻上皮からの吸収が、キトサンによって増大することが明らかになっています³。また、キトサンナノ粒子は遺伝子送達用としても開発されています⁴。優れた生分解性、生体適合性に加え、酸性溶液中でプロトン化された場合に静電相互作用によってDNAとの複合体を形成するというユニークな性質のために、キトサンは、最も重要な天然高分子遺伝子送達ベクターです^{5,6}。プラスミド送達用にキトサンを用いることを最初に報告したのは、Mumperらです⁷。キトサン/プラスミドDNAナノ粒子は、プラスの電荷をもつキトサンのアミノ基と、マイナス電荷をもつDNAのリン酸基との間の複合体形成によって、容易に作製されます。また、キトサンの分子量と脱アセチル化度(DDA)は、遺伝子送達におけるキトサンの性能に大きな影響を与えます。まず、高分子量のキトサンの場合は、DNAとの鎖の絡まり合いが増して強固な複合体が形成され、遺伝子送達効率が向上します⁸。一方、DDA(通常40~100%)は、キトサンの生理化学的な性質に影響を与えます。中程度のDDAでは、遺伝子送達系におけるキトサンの導入効率が向上しますが、純粋なキトサンでは、ウィルスベクターに比べて比較的低い導入効率のままです。遺伝子導入効率を向上させる試みとして、四級化⁹やデオキシコール酸修飾¹⁰、ガラクトシル化¹¹、PEIグラフト化¹²、チオール化¹³などのさまざまな化学修飾がキトサンに行われており、修飾キトサンや核酸とキトサンとのナノ複合体によって、さまざまな疾患を管理するための新しい遺伝子治療法が確立されています。

キトサンの組織工学での利用

複数の研究から、キトサンとその誘導体が、組織工学用の支持材料として有力な候補であることが示唆されています。キトサンを用いた組織足場には、皮膚¹⁴(図2)、骨^{15,16}(図3)、軟骨¹⁷、肝臓^{18,19}、神経²⁰、血管^{21,22}などがあります。キトサンの汎用性が高いのは、固有の抗菌性、最小限の異物反応性、創傷治癒活性、および多孔質構造やゲルを形成する特性にあります。さらに、キトサンは*in vivo*での高分子に対する高い親和性を持っており、細胞成長(cell ingrowth)や骨伝導に適しています。重要なことに、キトサンのポリカチオン性によって細胞との相互作用が高まるため、組織工学プロセスにおけるキトサンの促進効果が確認されています。

皮膚組織工学におけるキトサンを利用した一例として、真皮代替物に用いられる、キトサンフィルムおよびスポンジの2層構造からなる足場があります。この足場は、溶液キャスト法によって緻密なキトサンフィルムを作製し、続けてこの膜の上に多孔質のキトサンスポンジ層を凍結乾燥によって作製することで得られます。キトサンスポンジ層中に大きな細孔を形成させるには、塩化ナトリウムや、グルコース、スクロースなどのポロゲン(porogen)を用います(図2)¹⁴。このキトサンのスポンジ層にヒト真皮の線維芽細胞を移植したところ、大きな細孔の底部に細胞が広がった形で成長、増殖しました。新しく形成された細胞外マトリクスを通して培養された線維芽細胞とスポンジ層とが強く結合することで、生体細胞-マトリクス-キトサン複合体が得られました。細胞培養の間、キトサン2層材料は安定でしたが、一方で、組織工学足場として用いられているコラーゲンスポンジ材料には通常収縮が見られます。そのため、皮膚組織工学で足場として用いられるキトサンが、いくつかのコラーゲン材料の優れた代替物となる可能性が示唆されます¹⁴。また、細胞接着の度合いが、キトサンの脱アセチル化度に左右されることも見出されています²²。

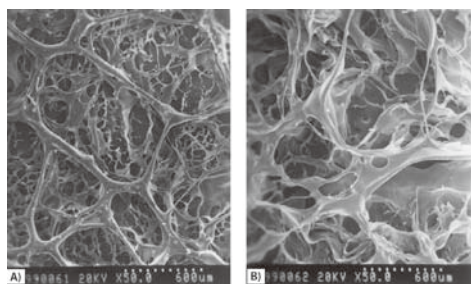


図2 スクロース溶出法 (sucrose leaching method) を用いて人工皮膚として調製した2層キトサンスポンジ材料のSEM画像。ポロゲンとしてスクロースを4.5%含むキトサン溶液 (A)、およびポロゲンとしてスクロースを6%含むキトサン溶液 (B)、からそれぞれ作製しました。

キトサンは、組織工学では骨修復材としての利用も検討されています。リン酸化キトサン (P-キトサン) をリン酸カルシウムセメントに混合し、骨欠損部へ埋め込むことが可能です。例えば、P-キトサンセメントをウサギの骨欠損部に埋め込んだところ、全ての創傷が徐々に回復し、ウサギは健康で術後の合併症も認められませんでした。埋め込み後1、4、12、22週間後のX線写真 (図3) からは、P-キトサン含有セメントによって欠損した骨が固定され、適正な位置に維持されていることがわかります。X線写真の影は徐々に薄くなっており、骨欠損部における新生骨の形成とインプラント材料の生分解が進んでいることが明らかです。全てのサンプルにおいて、リン酸化キトサン含有インプラントを用いた方が対照試料よりも優れた骨修復効果が見られました。

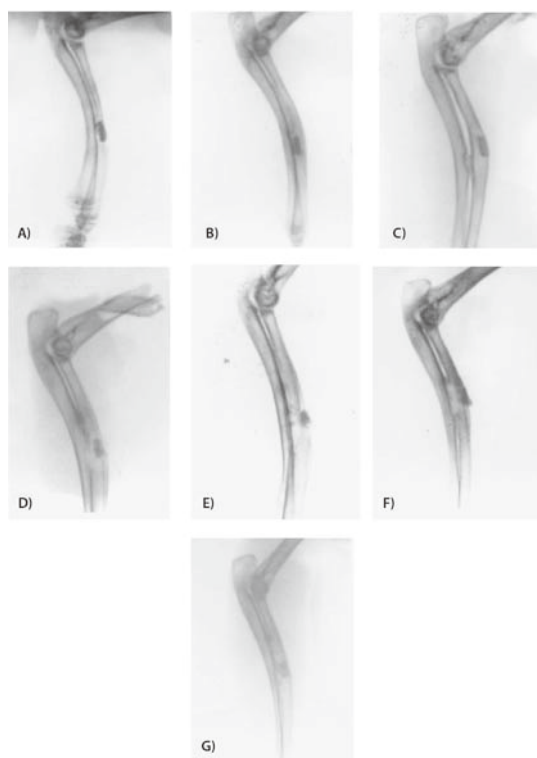


図3 あらかじめ硬化させたリン酸化キトサン (P-キトサン) 含有リン酸カルシウムセメントを埋め込んだ後のX線写真。

A) 1週間後 (P-キトサン: 0.12 g/mL)、B) 4週間後 (P-キトサン: 0.12 g/mL)、C) 12週間後 (P-キトサン: 0.12 g/mL)、D) 12週間後 (P-キトサン: 0.07 g/mL)、E) 12週間後 (P-キトサン: 0.02 g/mL)、F) 12週間後 (P-キトサン: 0 g/mL)、G) 22週間後 (P-キトサン: 0.12 g/mL)。

最近の組織工学では、注入可能なヒドロゲルが非常に注目を集めるようになってきました。注入可能なヒドロゲルは、次のような優れた利点を持ちます。

1. 埋め込み手術の代わりに、簡便で低侵襲な (体への負担の少ない) 注入方式による治療が可能になる点。
2. 細胞や増殖因子のような生理活性物質を、*in situ* で容易に導入できる点。
3. ゲルは、周囲組織に合わせたあらゆる形状をとることが可能な点。
4. ゲルは、徐放性のみならず刺激応答性の薬物放出にも対応できる点。
5. ゲルによって治療頻度を減らすことができ、患者の負担を軽くできる点。

これまでに、多くの注入可能なキトサンヒドロゲルが組織工学用に開発されています。これらのヒドロゲルは、物理的架橋法²⁴あるいは化学的架橋法 (例えばレドックス開始架橋²⁵、光開始架橋²⁶、酵素反応を用いた架橋²⁷ など) によって合成されています。また、ゲル化時間やゲル弾性率、ヒドロゲル分解性などの架橋ヒドロゲルのパラメーターは、高分子の分子量や架橋密度によって調整することができます。

キトサンの血液透析膜での応用

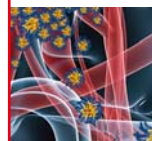
血液透析は、末期腎臓病患者を治療するための体外血液浄化法であり、高分子半透膜を用いて、血液から有害な代謝物を必要量だけ取り除く方法です。キトサンは、尿素とクレアチニンに対する良好な透過性と高い引張強度をもつことから、人工腎臓用膜材料として知られています。しかし、純粋なキトサン膜は血清蛋白質を透過せず、適合性も十分であるとはいえません。さまざまな修飾によって、中～大型分子に対するキトサン血液透析膜の親和性、選択性、透析速度が改良されています。例えば、血液透析膜として利用されている2-hydroxyethylmethacrylate (HEMA) ペンダント基をグラフト化したキトサンは、未修飾キトサン膜に比べてグルコース、尿素、アルブミンの透過性が向上しています²⁸。血液透析における血液適合性を改良するために、ヘパリンや硫酸デキストランもキトサン膜の修飾に用いられています²⁹。キトサン-graft-ポリ (酢酸ビニル) (キトサン-g-PVAc) 膜は、市販のセルロース膜と比較してクレアチニン、尿素、グルコースの透過性が高く、有用物質であるアルブミンは透過しないことが明らかになっています³⁰。このような優れた特性から、キトサンを基盤とする膜は人工臓器 (腎臓や脾臓など) への利用が期待されています³⁰。

結論

キトサンおよびキトサン誘導体は、医薬および生物医学用の機能性バイオポリマーとして大きな注目を集めており、薬物および遺伝子送達用ナノキャリアや組織工学用ヒドロゲル、血液透析膜としての応用が期待されています。しかしながら、キトサンおよびその誘導体にはまだ多くの潜在的な応用の可能性が残されており、そのポテンシャルを最大限まで活用するための研究開発が続けられています。

References

- (1) LueBen, H. L.; de Leeuw, B. J.; Langemeyer, M. W. *J. Control. Rel.* **1997**, 45, 15.
- (2) Bernkop-Schnürch, A.; Krajicek, M. E. *J. Control. Rel.* **1998**, 50, 215.
- (3) Artursson, P.; Lindmark, T.; Davis, S.; Illum, L. *Pharm. Res.* **1994**, 11, 1358.
- (4) Alves, N. M.; Mano, J. F. *Int. J. Biol. Macromol.* **2008**, 43, 401.
- (5) Prabakaran, M.; Mano, J. F. *Drug Deliv.* **2005**, 12, 41.
- (6) Duceppe, N.; Tabrizian, M. *Expert Opin. Drug Deliv.* **2010**, 7, 1191.
- (7) McLaughlin, F. C.; Mumper, R. J.; Wang, J.; Tagliaferri, J. M.; Gill, I.; Hinchcliffe, M.; Rolland, A. P. *J. Control. Rel.* **1998**, 56, 259.
- (8) Allan, G.G. and Peyron, M. Molecular-weight manipulation of chitosan .1. Kinetics of depolymerization by nitrous-acid. *Carbohydrate Research* **1995**, 277 (2), 257-272.
- (9) Germershaus, O.; Mao, S.; Sitterberg, J.; Bakowsky, U.; Kissel, T. *J. Control. Rel.* **2008**, 125, 145.
- (10) Kim, Y. H.; Gihm, S. H.; Park, C. R.; Lee, K. Y.; Kim, T. W.; Kwon, I. C.; Chung, H.; Jeong, S. Y. *Bioconj. Chem.* **2001**, 12, 932.
- (11) Jiang, H. L.; Kim, Y. K.; Lee, S. M.; Park, M. R.; Kim, E. M.; Jin, Y. M.; Arote, R.; Jeong, H. J.; Song, S. C.; Cho, M. H.; Cho, C. S. *Arch. Pharm. Res.* **2010**, 33, 551.
- (12) Wang, X.; Yao, J.; Zhou, J. P.; Lu, Y.; Wang, W. *Pharmazie* **2010**, 65, 572.
- (13) Zhao, X.; Yin, L.; Ding, J.; Tang, C.; Gu, S.; Yin, C.; Mao, Y. *J. Control. Rel.* **2010**, 144, 46.
- (14) Ma, J.; Wang, H.; He B.; Chen, J. *Biomaterials* **2001**, 22, 331.
- (15) Wang, X.; Ma, J.; Wang Y.; He B. *Biomaterials* **2001**, 22, 2247.
- (16) Wang, X.; Ma, J.; Feng, Q.; Cui, F. *Biomaterials* **2002**, 23, 4591.
- (17) Lahiji, A.; Sohrabi, A.; Hungerford, D.S.; Frondoza, C.G. *J. Biomed. Mater. Res. Part A* **2000**, 51, 586.
- (18) Seo, S. J.; Choi, Y. J.; Akaïke, T.; Higuchi, A.; Cho, C. S. *Tissue Eng.* **2006**, 12, 33.
- (19) Elcin, Y. M.; Dixit, V.; Gitnick, G. *Artif. Organs* **1998**, 22, 837.
- (20) Wang, W.; Itoh, S.; Yamamoto, N.; Okawa, A.; Nagai, A.; Yamashita, K. *Acta Biomater.* **2010**, 6, 4027.
- (21) Deng C.; Li, F.; Griffith, m.; Ruel, M.; Suuronen, E. *J. Macromolecular Symposia* **2010**, 297, 138.
- (22) Zhang, L.; Ao, Q.; Wang, A.; Lu, G.; Kong, L.; Gong, Y.; Zhao, N.; Zhang, X. *J. Biomed. Mater. Res. A.* **2006**, 77, 277.
- (23) Prasitlip, M.; Jenwithisuk R.; Kongsuwan, K.; Damrongchai, N.; Watts, P. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2000**, 11, 773.
- (24) Choa, J. H.; Kim, S.; Park, K. D.; Jung, M. C.; Yang, W. I.; Han, S. W. *Biomaterials* **2004**, 25, 5743.
- (25) Hong, Y.; Song, H.; Gong, Y.; Mao, Z.; Gao, C.; Shen, J. *Acta Biomater.* **2007**, 3, 23.
- (26) Amsden, B.G.; Sukarto, A.; Knight, D. K.; Shapka, S.N. *Biomacromolecules* **2007**, 8, 3758.
- (27) Jin, R.; Moreira Teixeira, L. S.; Dijkstra, P. J.; Karperien, M.; van Blitterswijk, C. A. Zhong, Z. Y.; Feijen, J. *Biomaterials* **2009**, 30, 2544.
- (28) Radhakumary, C.; Nair, P. D.; Mathew, S.; Reghunadhan Nair, C. P. *J. Appl. Polym. Sci.* **2006**, 101, 2961.
- (29) Amiji, M. M. *J. Biomater. Sci. Polym. Edn.* **1997**, 8, 281.
- (30) Radhakumary, C.; Nair, P. D.; Reghunadhan Nair, C. P.; Mathew, S. *J. Appl. Polym. Sci.* **2012**, 125, 2022.





Non-viral Gene Transfection with Linear PEI

直鎖状 PEI による非ウイルス性遺伝子導入

- 直鎖状 PEI (ポリエチレンジアミン) は、細胞内への DNA および RNA 送達用の高分子ベクターとして、広く用いられています。
- PEI は電荷密度が非常に高く、プラスミド DNA や RNA と安定な複合体を形成します。
- 分子量分布が狭く (PDI <1.3)、再現性の良い結果が得られます。
- 分子量範囲は、 M_n 800 ~ 4,000 です。
- アミノ、アルキン、アジドなどの末端官能基を利用した様々なライゲーションが可能です。



新製品情報は Web サイトをご覧ください。
aldrich.com/aminepoly

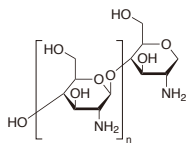
バルク供給／スケールアップのご相談は…

ファインケミカル事業部 Tel:03-5796-7340 Fax:03-5796-7345 E-mail:sialjpf@aldrich.com

キトサン

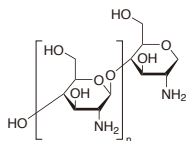
天然高分子の最新情報は aldrich.com/natural をご覧ください。

High Purity Chitosans (White Mushroom Origin)



Name	Molecular Weight (M _v)	Degree Of Acetylation	Prod. No.
KiOmedine-CsU® D	140,000-220,000	≤ 40 mol. %	740179-1G 740179-5G
KiOmedine-CsU® C	110,000-150,000	≤ 40 mol. %	740500-1G 740500-5G
KiOmedine-CsU® B	60,000-120,000	≤ 40 mol. %	740063-1G 740063-5G

Chitosans (Animal Origin)



Name	Inherent Viscosity (cP)*	Degree Of Deacetylation	Prod. No.
Chitosan	800-2000	> 75%	419419-50G 419419-250G
Chitosan	200-800	75-85%	448877-50G 448877-250G
Chitosan	20-300	75-85%	448869-50G 448869-250G
Chitosan	>200	≥ 75%	417963-25G 417963-100G
Chitosan oligosaccharide lactate	-	> 90%	523682-1G 523682-10G

* 1 wt. % chitosan solution in 1 vol. % acetic acid, 25 °C, Brookfield

キトサンを基盤とした生体材料

官能基化、PEG 化金ナノ粒子

- 末端官能基化
 - カルボン酸、アミノ、ビオチン基（たんぱく質との結合作用）
 - メトキシ基（非結合作用）
- 5 ~ 50 nm の粒径
- PEG の高分子鎖は 3 kDa もしくは 5 kDa

新製品情報はWebサイトをご覧ください。
aldrich.com/functionalnano

生物医学研究に用いられる生体適合性樹枝状ビルディングブロック



Dr. Michael Malkoch, Associate Professor, Division of Coating Technology, Fibre and Polymer Technology, KTH Royal Institute of Technology, and Chief Technology Officer Polymer Factory Sweden AB

*Dr. Andreas M. Nyström, Associate Professor of Nanomedicine, Swedish Medical Nanoscience Center, Karolinska Institutet, Chief Executive Officer Polymer Factory Sweden AB

*Email: andreas.nystrom@polymerfactory.com

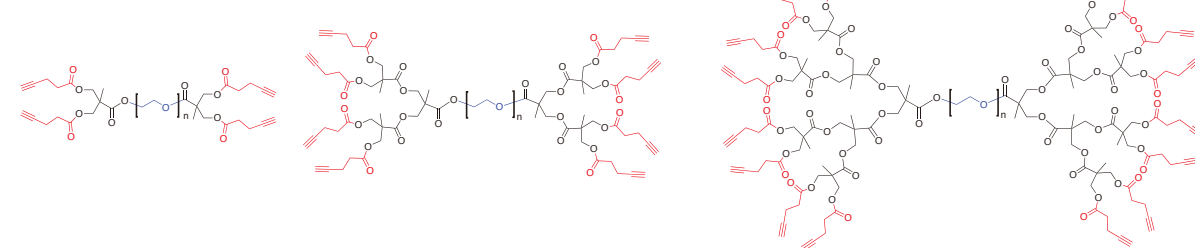
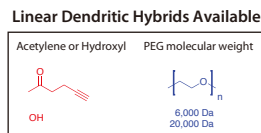
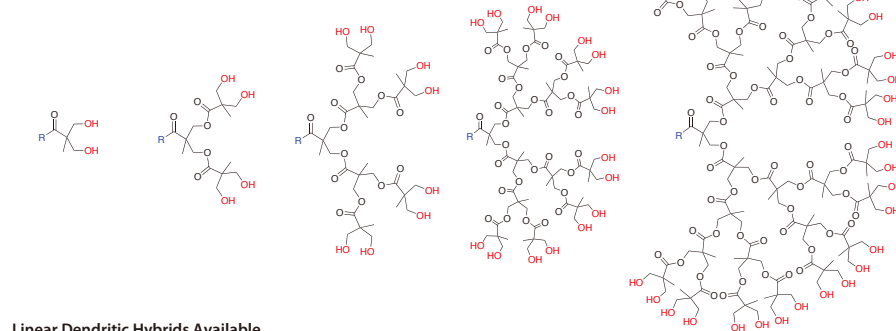
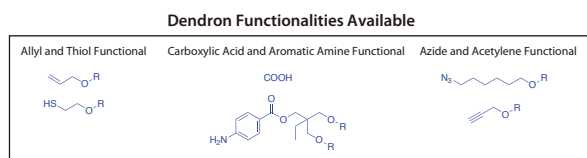
はじめに：クリック反応性をもつ樹枝状ビルディングブロック

デンドリマーおよびデンドロンは、対称的に分岐した高分子構造体で、官能基の空間分布が明確に規定されています。これらの樹枝状物質は、単分散性であり、その直鎖状の類似物に比べて溶解性が高く粘度が低いといったユニークな性質を持つため、高い注目を集めている材料です。薬物送達、画像診断、ヒドロゲル、触媒、光学材料など、幅広く多様な先端分野で、デンドリマーおよびデンドロンの利用が提案されています¹。

さまざまな利用が可能であるにもかかわらず、近年までのデンドリマーおよびデンドロンに関する研究活動のほとんどは、1) デンドリ

マー化学に精通した専門的な学術研究グループに限定され、さらに、2) 樹枝状ビルディングブロックとして市販されているごく少数、主として PAMAM デンドリマーに関するものに限定されてきました。最近になって、いくつかのポリエステルデンドロンや、bis-MPA (2,2-bis(methylol)propionic acid) ビルディングブロックをベースとしたポリ(エチレングリコール) (PEG) デンドリマーは、アルドリッチより入手することが可能となっています。Polymer Factory 社は、超分岐高分子、デンドリマー、デンドロンを 2006 年から販売しており、高品質な樹枝状構造体や材料のメーカーとして広く知られています。本稿では、チオール-エン反応やアジド-アセチレン反応などのさまざまな種類のクリック反応を活用した、これら材料に関する最近の進展と応用について取り上げます²。

クリックケミストリーは、2001 年に K. B. Sharpless 教授によって提唱され³、有機溶媒や水溶性溶媒を含めた幅広い種類の溶媒で進行し、目的化合物を短い反応時間で高収率に得ることのできる、非常に信頼性の高いシンプルな合成反応をさします。末端アルキン ($-C \equiv CH$) や有機アジド ($-N_3$)、チオール ($-SH$)、不飽和ビニル ($-CH=CH_2$) 基などの、よく知られている「クリック反応性官能基」を樹枝状構造に導入することで、化学系以外の研究者でも比較的簡単に研究を進めることができるようになります。これらの官能基を用いることで、bis-MPA を基盤としたデンドリマーおよびデンドロンを、炭水化物、二糖類、蛍光色素などの生物活性構成成分へ結合することが可能となり、溶液中のほかには表面での評価も行われています。



スキーム 1 クリック反応性をもつ樹枝状ビルディングブロック

バルク供給／スケールアップのご相談は…

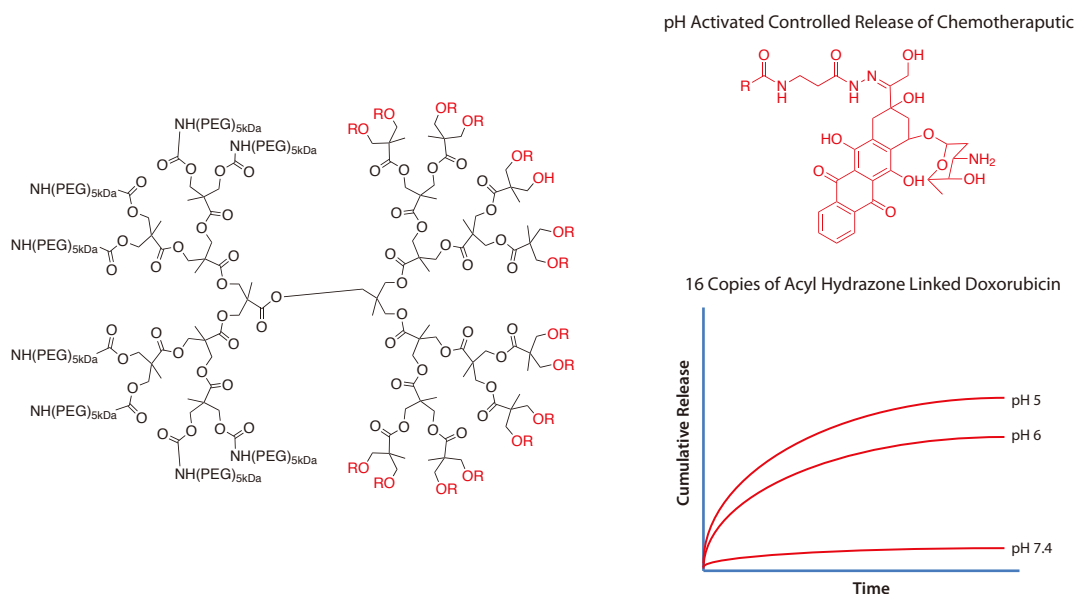
ファインケミカル事業部 Tel:03-5796-7340 Fax:03-5796-7345 E-mail:sialjpc@sial.com

生物学的用途

bis-MPA ビルディングブロックを基盤とするポリエステルデンドリマーおよびデンドロンは、*in vitro*⁴ な毒性研究や、放射性核種標識や光学イメージングによる *in vivo*⁵⁻¹⁰ な研究など、生物学的分野において精力的に研究されています。免疫活性化や毒性についてのヒト初代マクロファージを用いた最近の研究から明らかになったように⁴、bis-MPA を基盤とする樹枝状物質およびビルディングブロックは毒性が非常に低いか皆無であり、生理条件下で分解され、免疫特性を示すこともありません。これらの特性は、生物医学用途において非常に重要です。高世代デンドロン（第 7 世代まで）の生体内分布 (BioD: biodistribution) 研究では、デンドロン焦点部 (focal point) への放射性標識と single photon emission computed tomography (SPECT) により、*in vivo* 環境下において、健康なラットではこれらの物質が特定器官へ蓄積しないことがわかっています⁹。Fréchet とその研究チーム¹¹ は、デンドリマーの表面に PEG

鎖を結合させることによって、化学療法薬を導入した bis-MPA デンドリマーの血液滞留時間を調整することに成功しています⁷。腫瘍特異的な取り込みが十分に高く、かつ隣接組織での取り込みが低くなるように、滞留時間に関してデンドリマーを最適化しました（**スキーム 2**）。この文献で報告されている最も高い有効性と生存率を示したデンドリマーベースの薬物送達系は、有効性が高く、臨床的にもよく用いられている化学療法薬（例えばドキソルビシンなど）とデンドリマーとを組み合わせることで開発されたものです⁷。

デンドロンのもつ単分散性によって、直鎖状高分子と比べて分子量の変動が非常に小さい、樹枝状の独自の薬物複合体を創り出すことができます。また、-SH/-アリル、-N₃/アセチレン、-COOH/-NH₂ といった、デンドロン上の多様な官能基の組み合わせに合わせたさまざまな化学反応を用いることで、候補薬物をモジュール的に修飾することが可能です。



スキーム 2 bis-MPA デンドリマーの薬物送達での利用。(左) 樹枝状 bow-tie (蝶ネクタイ) 構造。一方には薬物動態を調整するためのポリ(エチレングリコール)鎖を、反対側には化学療法薬 (ドキソルビシン) を有する構造をとっています。(右上) ドキソルビシンの構造、(右下) ヒドラゾンの結合した pH 誘発放出薬剤の代表的な放出挙動⁷

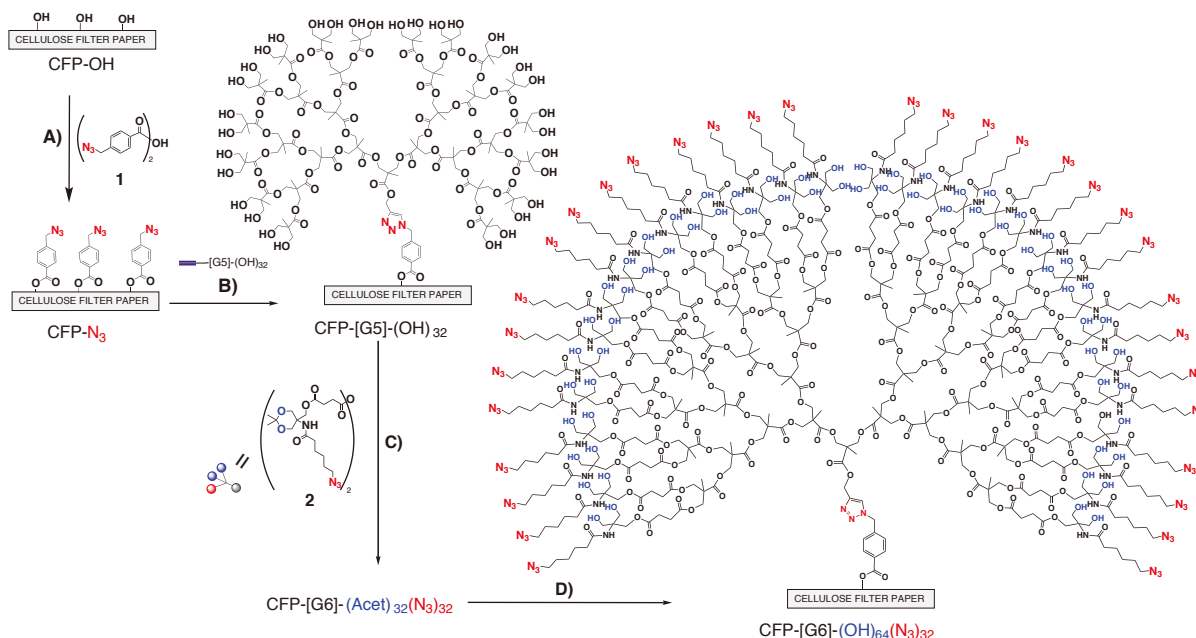
多価表面およびゲルの構築と工学的利用

デンドロンビルディングブロックは、バイオセンサー用の多価結合系を創り出す足場として、また、高密度官能基が望まれる表面を構築するものとして、非常に興味深い材料です。Malkoch らによる最近の研究では、銅触媒を用いたクリックケミストリーによって、アセチレン官能基化 bis-MPA デンドロンを濾紙に結合させています¹²。デンドロンの表面基を後処理でマンノースによって官能基化することで、モノ-マンノシル化した表面に比べて感度の向上したレクチン結合センサーを得ました（**スキーム 3**）。同様に、非対称デンドリマーは、異なる官能基を架橋する相補的なアジド/アセチレンデンドロンを用いて、Janus (ヤヌス) 型構造にカップリングさせることができます¹³。チオール含有デンドロンは、銅触媒を用いないチオール/エンクリックケミストリーによって、チオールおよびエンの焦点を有する相補的なデンドロンを含んだ先端機能性ナノ材料を構築するのに用いることができます。また、チオールで金表面を強固に官能基化し、その高密度官能基を用いてさらに官能基化することも可能です¹⁴。

他の応用例としては、焦点にアジドを有する bis-MPA デンドロンと基板にアセチレン官能基化シリコンウエハーを用いた、ディップベンナノリソグラフィーによるクリックケミストリーがあります¹⁵。このように、クリック反応は、研究初期の概念実証から、空間分解能の正確な制御と高い官能基密度の両方を実現可能な表面官能基化デンドロンのディップベンリソグラフィーまで、さまざまに用いることができます。これらの官能基化デンドロンは、親水性を調整可能な直鎖-樹枝状ハイブリッド高分子の作製にも用いられ、大きさの揃った配向性の細孔を持つ膜を形成するための新規ブロック共重合体を得ることもできます¹⁶。最近、Gilles らは、表面にクリック反応可能な官能基を有する、ナノスケールのベシクル、高分子ミセル¹⁷、酸化鉄ナノ粒子¹⁸を後処理で効果的に官能基化する方法を報告しています¹⁷。彼らは、蛍光色素を有する官能基化 bis-MPA デンドロンを用いてナノ構造を調製しました。このような応用が進むことによって、ナノ粒子官能基化に新たな手法が加わり、ナノメディシン用途における組織特異的な標的化にデンドロンの多価相互作用が用いられるようになるでしょう。

官能基化デンドロンに加えて、樹枝状 PEG がもう一つのタイプのクリック反応性物質として現在市販されています。クリックケミストリーによる PEG ヒドロゲルの合成は、さまざまな添加剤の存在下でもヒドロゲルの架橋反応を行うことが可能な点で優れており、PEG コアの周囲に官能基化デンドロンが結合した化合物は、高い破断伸びや柔軟性などの優れた機械特性を示す先端ヒドロゲル材料の構築に

用いられています^{19,20}。また、Aida らはこれら構造をエアロゲルの構築に用いています。PEG-bis-MPA デンドリマー上のグアニジン基とナノクレイとの相互作用によって PEG 鎖を介した 3 次元網目構造が形成され、形状保持可能で自己修復性を有する、固体含有率がわずか 2 ~ 3 重量 % のゲルを得ることに成功しています²¹。



スキーム 3 bis-MPA デンドロンを用いた表面官能基化へのクリックケミストリーの応用¹²

展望

多様な官能基を有するさまざまなサイズのデンドロンおよび直鎖 - 樹枝状 PEG ハイブリッド材料が市販されたことにより、新規樹枝状物質の研究開発が容易になります。樹枝状高分子は、そのユニークな特性から、工学用および生物医学用のヒドロゲルからナノスケールでの表面改質、さらには新規バイオセンサーおよび分子イメージング剤まで、さまざまな先端分野で広く用いられています。さらに、bis-MPA を基盤とする物質は、*in vitro* 毒性を示さない点や、*in vivo* 適合性、薬物送達系における癌に対する高い有効性などの点において、非常に優れた性質を示します。

References

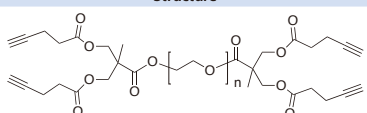
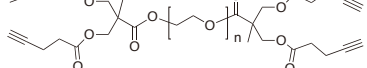
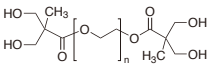
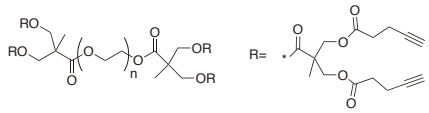
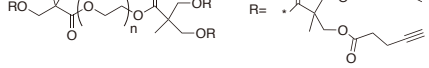
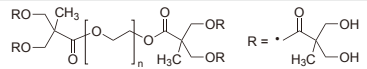
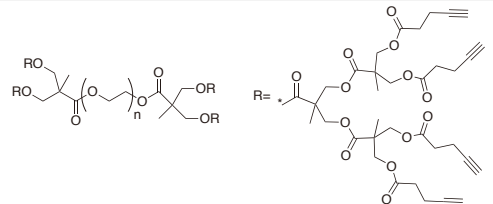
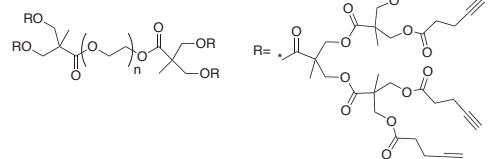
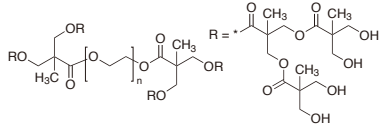
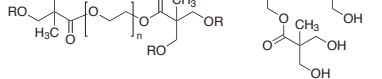
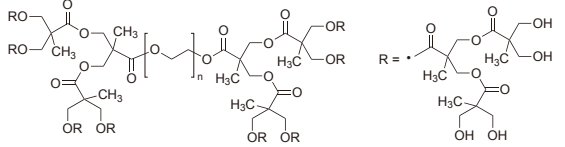
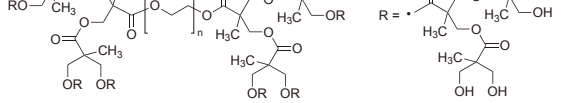
- (1) Carlmark, A.; Hawker, C. J.; Hult, A.; Malkoch, M. *Chem Soc Rev* **2009**, 38, 352.
- (2) Iha, R. K.; Wooley, K. L.; Nyström, A. M.; Burke, D. J.; Kade, M. J.; Hawker, C. J. *Chem Rev* **2009**, 109, 5620.
- (3) Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew Chem Int Edit* **2001**, 40, 2004.
- (4) Feliu, N.; Walter, M. V.; Montanez, M. I.; Kunzmann, A.; Hult, A.; Nyström, A.; Malkoch, M.; Fadeel, B. *Biomaterials* **2012**, 33, 1970.
- (5) Guillaudeu, S. J.; Fox, M. E.; Haidar, Y. M.; Dy, E. E.; Szoka, F. C.; Frechet, J. M. J. *Bioconjugate Chemistry* **2008**, 19, 461.
- (6) Gillies, E. R.; Dy, E.; Frechet, J. M. J.; Szoka, F. C. *Molecular Pharmaceutics* **2005**, 2, 129.
- (7) Lee, C. C.; Gillies, E. R.; Fox, M. E.; Guillaudeu, S. J.; Frechet, J. M. J.; Dy, E. E.; Szoka, F. C.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **2006**, 103, 16649.

- (8) Almutairi, A.; Rossin, R.; Shokeen, M.; Hagooly, A.; Ananth, A.; Capoccia, B.; Guillaudeu, S.; Abendschein, D.; Anderson, C. J.; Welch, M. J.; Frechet, J. M. J. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2009**, 106, 685.
- (9) Parrott, M. C.; Benhabbour, S. R.; Saab, C.; Lemon, J. A.; Parker, S.; Valliant, J. F.; Adronov, A. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, 131, 2906.
- (10) De Jesus, O. L. P.; Ihre, H. R.; Gagne, L.; Frechet, J. M. J.; Szoka, F. C. *Bioconjugate Chemistry* **2002**, 13, 453.
- (11) Lee, C. C.; MacKay, J. A.; Frechet, J. M. J.; Szoka, F. C. *Nat Biotechnol* **2005**, 23, 1517.
- (12) Montanez, M. I.; Hed, Y.; Utsel, S.; Ropponen, J.; Malmstrom, E.; Wagberg, L.; Hult, A.; Malkoch, M. *Biomacromolecules* **2011**, 12, 2114.
- (13) Wu, P.; Malkoch, M.; Hunt, J.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B.; Hawker, C. J. *Abstr Pap Am Chem Soc* **2005**, 229, U335.
- (14) Ostmark, E.; Macakova, L.; Auletta, T.; Malkoch, M.; Malmstrom, E.; Blomberg, E. *Langmuir* **2005**, 21, 4512.
- (15) Long, D. A.; Unal, K.; Pratt, R. C.; Malkoch, M.; Frommer, J. *Adv Mater* **2007**, 19, 4471.
- (16) Lundberg, P.; Walter, M. V.; Montanez, M. I.; Hult, D.; Hult, A.; Nyström, A.; Malkoch, M. *Polym Chem-Uk* **2011**, 2, 394.
- (17) Nazemi, A.; Amos, R. C.; Bonduelle, C. V.; Gillies, E. R. *J Polym Sci Pol Chem* **2011**, 49, 2546.
- (18) Martin, A. L.; Li, B.; Gillies, E. R. *J Am Chem Soc* **2009**, 131, 734.
- (19) Malkoch, M.; Vestberg, R.; Gupta, N.; Mespoille, L.; Dubois, P.; Mason, A. F.; Hedrick, J. L.; Liao, Q.; Frank, C. W.; Kingsbury, K.; Hawker, C. J. *Chem Commun* **2006**, 2774.
- (20) Yang, T.; Long, H.; Malkoch, M.; Gamstedt, E. K.; Berglund, L.; Hult, A. *J Polym Sci Pol Chem* **2011**, 49, 4044.
- (21) Wang, Q.; Mynar, J. L.; Yoshida, M.; Lee, E.; Lee, M.; Okuro, K.; Kinbara, K.; Aida, T. *Nature* **2010**, 463, 339.

テクニカルサポート Tel:03-5796-7330 Fax:03-5796-7335 E-mail:sialjpts@sial.com

PEG-core bis-MPA Dendrons

Structure	Generation	Surface Groups	No. of Surface Groups	Molecular Weight	Prod. No.
	1	acetylene	4	PEG average M_n 6,000 average M_n 6,300	760900-500MG
	1	acetylene	4	PEG average M_n 20,000 average M_n 20,000	760935-500MG
	1	hydroxyl	4	PEG average M_n 6,000 average M_n 6,300	752401-500MG
	1	hydroxyl	4	PEG average M_n 20,000 average M_n 20,300	752398-500MG
	2	acetylene	8	PEG average M_n 6,000 average M_n 6,900	760919-500MG
	2	acetylene	8	PEG average M_n 20,000 average M_n 21,000	760943-500MG
	2	hydroxyl	8	PEG average M_n 6,000 average M_n 6,700	760862-500MG
	2	hydroxyl	8	PEG average M_n 20,000 average M_n 21,000	760889-500MG
	3	acetylene	16	PEG average M_n 6,000 average M_n 8,000	760927-500MG
	3	acetylene	16	PEG average M_n 20,000 average M_n 22,000	760951-500MG
	3	hydroxyl	16	PEG average M_n 6,000 average M_n 8,000	752371-500MG
	3	hydroxyl	16	PEG average M_n 20,000 average M_n 21,600	752363-500MG
	4	hydroxyl	32	PEG average M_n 6,000 average M_n 9,500	760870-500MG
	4	hydroxyl	32	PEG average M_n 20,000 average M_n 24,000	760897-500MG

生物医学研究に用いられる生体適合性樹枝状ビルディングブロック

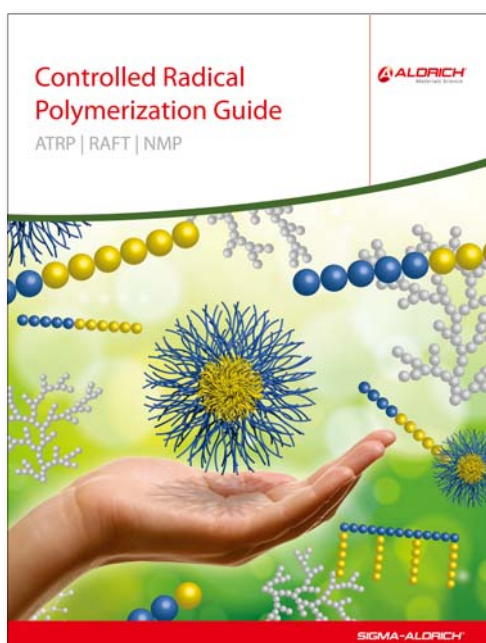
NEW!

精密ラジカル重合ガイドブック

Controlled Radical Polymerization Guide

ATRP | RAFT | NMP

日本語版PDFカタログ公開中



- ・原子移動ラジカル重合（ATRP）
- ・可逆的付加開裂連鎖移動（RAFT）重合
- ・ニトロキシドを介したラジカル重合（NMP）

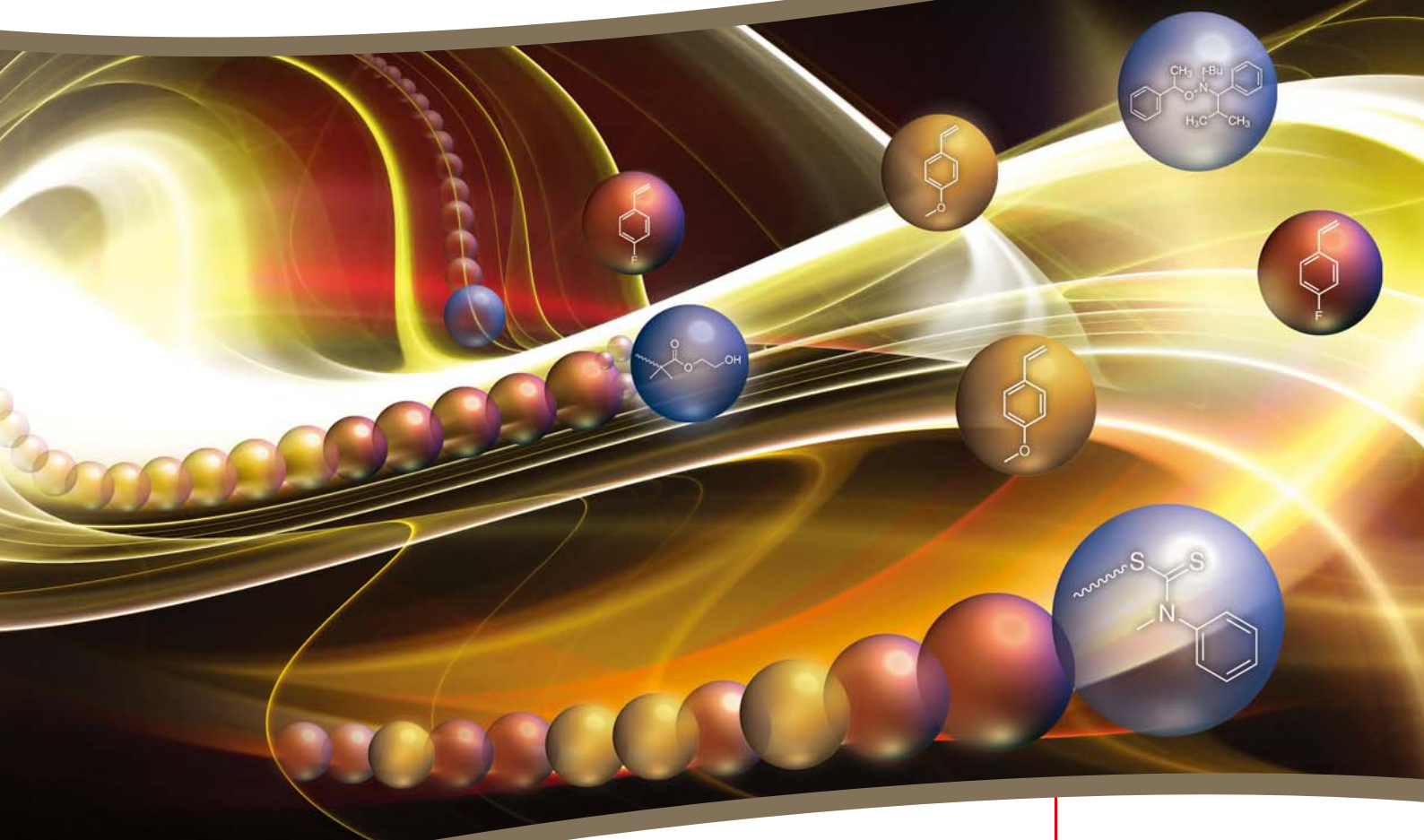
の3種類の精密ラジカル重合法に関するレビューおよび実験法について、各分野の先生方に解説していただきました。

これら精密ラジカル重合法に用いられる開始剤や配位子、モノマーなどの製品も多数ご紹介しております。

日本語版PDFのダウンロード、英語版カタログの送付依頼は
下記URLまで

www.aldrich.com/crpg-jp

Easily Customize PEGylated Block Copolymers with Aldrich® PEG RAFT Agents



アルドリッチでは PEG macroCTA の開発に力を入れております

さまざまなアプリケーションに応用

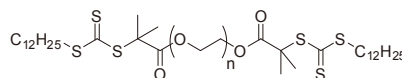
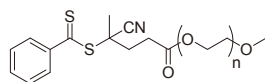
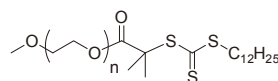
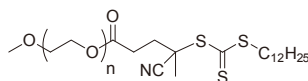
- 表面パターンニング
- ナノリソグラフィ
- 生体適合性材料
- ヒドロゲル
- ベシクル形成（カプセル化）

多様な幅広いモノマーに対して適用

- アクリレート
- メタクリレート
- アクリルアミド
- スチレン

A-B-A トリブロックポリマーの作製が可能

PEG の分子量 (M_n) は 750 ~ 10,000g/mole



最新情報は、
www.aldrich.com/polymer-jp
をご覧ください。



材料科学のポータルサイト

Aldrich Materials Science Web Portal

ナノ材料/有機エレクトロニクス材料/代替エネルギー材料/
高分子材料/無機材料/ナノエレクトロニクス材料

- 新製品情報、最新テクノロジーの解説
- ニュースレター「Material Matters™」、「材料科学の基礎」
- 製品検索（構造式、化学名、CAS 番号など）
- Web 製品カタログ
- ニュースレター、E-mail ニュース定期配信の申し込み

<http://www.aldrich.com/ms-jp>

Material Matters™

世界の第一線研究者による最新トピックスやレビューをご紹介します

バックナンバータイトル

- ナノ材料とその合成方法(4-1)
- 有機および分子エレクトロニクス(4-3)
- 代替エネルギー 2(4-4)
- 最新高分子合成(5-1)
- 生物医学用材料(5-3)
- 代替エネルギー 3(5-4)
- ナノパターニングおよびリソグラフィ技術(6-1)
- 希土類化合物(6-2)
- 先端高分子材料(6-3)
- エネルギー材料(6-4)
- 最先端有機電子デバイス材料(7-1)
- 機能性無機材料：その合成方法と応用(7-2)



定期登録者
募集中！

定期送付のお申し込みは下記 URL から

<http://www.aldrich.com/mscatalog-jp>

または、「Material Matters 定期送付希望」と明記の上、sialjp@sial.comへ電子メールにてご連絡ください。

©2012 Sigma-Aldrich Co. LLC. All rights reserved. SIGMA, SAFC, SIGMA-ALDRICH, ALDRICH, and SUPELCO are trademarks of Sigma-Aldrich Co. LLC, registered in the US and other countries. FLUKA is a trademark of Sigma-Aldrich GmbH, registered in the US and other countries. SAFC brand products are sold through Sigma-Aldrich, Inc. Purchaser must determine the suitability of the product(s) for their particular use. Additional terms and conditions may apply. Please see product information on the Sigma-Aldrich website at sigma-aldrich.com. Material Matters is a trademark of Sigma-Aldrich Co. LLC. TWEEEN is a registered trademark of Croda. PLURONIC is a registered trademark of BASF Corporation. RESOMER is a registered trademark of Evonik Rohm GmbH. KIOMEDINE is a registered trademark of Kitozyme S.A.

・本カタログに掲載の製品及び情報は2012年12月1日現在の内容であり、掲載の製品、製品情報、価格等は予告なく変更される場合がございます。最新の情報は、弊社Webサイト(sigma-aldrich.com/japan)をご覧ください。
・掲載価格は希望納入価格(税別)です。詳細は販売代理店様へご確認ください。
・弊社の試薬は試験研究用のみと目的として販売しております。医薬品原料並びに工業用原料等としてご購入の際は、弊社ファインケミカル事業部までお問い合わせ願います。

SIGMA-ALDRICH®

シグマ アルドリッチ ジャパン

〒140-0002 東京都品川区東品川2-2-24 天王洲セントラルタワー4F

製品に関するお問い合わせは、弊社テクニカルサポートへ

TEL: 03-5796-7330 FAX: 03-5796-7335

E-mail: sialjpts@sial.com

在庫照会・ご注文方法に関するお問い合わせは、弊社カスタマーサービスへ

TEL: 03-5796-7320 FAX: 03-5796-7325

<http://www.sigma-aldrich.com/japan>

お問い合わせは下記代理店へ