

研究終了報告書

「マテリアルズインフォマティクスと実験の融合による階層的マルチスケールバイオ界面の解析と医療用バイオマテリアルの開発」

研究期間：2017年10月～2021年3月

研究者：林 智広

1. 研究のねらい

本研究のねらいはマテリアルズインフォマティクスと界面解析実験の融合による、接触した細胞・組織の望むべき応答を誘起する医療用バイオマテリアルを逆問題的解法的に設計する手法の開発である。このような材料設計のアプローチは医療用バイオマテリアルの開発分野では前例が無く、成功すれば従来の試行錯誤的アプローチに頼る材料設計手法と比べ、コスト・時間で圧倒的に優位な手法として波及することが期待される。

人工材料の体内への導入、あるいは細胞培養の際に形成される、材料・タンパク質・細胞からなる階層的バイオ界面において、材料に接着した細胞・組織応答を階層的情報伝達として考え、それぞれの層で起こる事象・パラメータ間の相関を文献・実験データを用いて統計解析する。この相関を用いて、材料に接した細胞・生体組織の望むべき応答を正確に誘導するような材料の設計指針を、試行錯誤的なアプローチに頼らずに、逆問題解法的に材料の特性あるいは構造パラメータを導出する材料設計戦略の開発を目指した。

さらに本研究では、従来解析手法がなく、統計解析からも明らかにすることが出来ない、人工材料と細胞・組織の界面に形成されるタンパク質層の役割を申請者独自の界面タンパク質同定技術を用いて解明する。インフォマティクスの手法と実験を融合し、細胞応答決定のプロセスにおけるブラックボックスをなくすことで、真に理論的な裏付けに基づいた医療用バイオマテリアルの設計を目標とした。

2. 研究成果

(1) 概要

本研究の成果は以下である。

1. バイオマテリアルの化学構造-機能のビッグデータを生成するための化学傾斜基板技術の確立
2. バイオマテリアルの化学構造と基礎物性・機能の相関を精密解析する情報科学的手法の確立
3. 機械学習によるバイオマテリアルスクリーニング・材料提案システムの確立

1 では、基板上の位置で単分子膜を構成する分子の混合比率が異なる傾斜基板の作製技術を確立した。この基板(1 x 1 cm²)を用いることによって、タンパク質吸着、細胞接着実験を行うことで、1 枚の基板で 200 程度のデータを取得することが可能となり、ビッグデータ生成のためのプラットフォームとして使用することが出来ることが分かった。

2 では 2 に関しては材料の化学構造と材料の基礎物性(表面電荷、極性、水への濡れ性など)・機能(タンパク質吸着・細胞接着特性)を含むデータベースを構築し、人工ニューラルネ

ットワークモデルを用いた機械学習によって、単分子膜を構成する分子の化学構造からタンパク質吸着、細胞接着を予測することが可能となった。

3 では学習後のニューラルネットワークを用いて、架空(データベースにはない)の単分子膜への水の接触角、タンパク質吸着の予測を行い、正確に予測が可能である事を明らかにした。

これら一連の成果は、従来固体材料を中心に成功例が多かった情報科学を用いた材料設計がソフトマテリアル・バイオマテリアルにも応用できることを示した先駆的な成果であり、原著論文(文献 1)、をはじめ解説記事 7 法、プレスリリース、新聞掲載に結実した。

(2) 詳細

研究テーマ A: バイオマテリアルの化学構造-機能のビッグデータを生成するための化学傾斜基板技術の確立

タンパク質吸着、細胞接着は計算科学で予測することが出来ず、バイオマテリアル分野の研究への情報科学の導入は、データセットのサイズが非常に小さいことが最大の問題であった。本研究では、基板上の位置で単分子膜を構成する分子の混合比率が異なる傾斜基板の作製技術を確立した(図 1)。この基板(1 x 1 cm²)を用いることによって、タンパク質吸着、細胞接着実験を行うことで、1 枚の基板で 200 程度のデータを取得することが可能となり、ビッグデータ生成のためのプラットフォームとして使用することが出来ることが分かった。

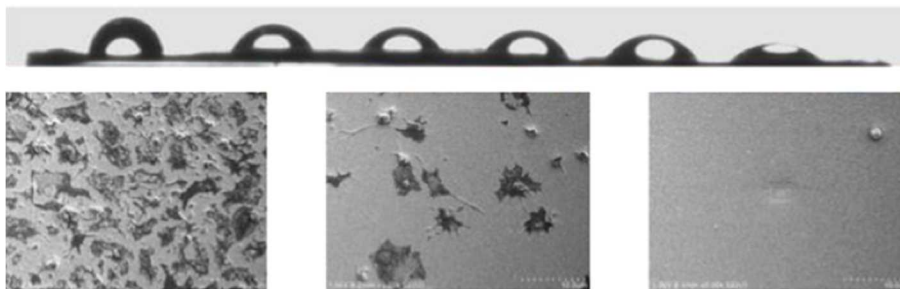


図 1 (上図)傾斜基板に対する水の接触角試験 (下図) 傾斜基板への細胞接着実験の結果

傾斜基板作製においては、分子置換法、マイクロコンタクトプリンティング法、熱傾斜分子脱離法などを組み合わせることで再現性高く、傾斜単分子膜を形成することが可能となった。またこの手法は傾斜型高分子ブラシ薄膜の作製にも応用でき、高分子材料においてもビッグデータを生成する手法として応用できることが分かった。

研究テーマ B: バイオマテリアルの化学構造と基礎物性・機能の相関を精密解析する情報科学的手法の確立

ここでは、構成元素の割合、化学結合の数をを用いて単分子膜を構成する分子構造の記述し、図 2 の様な人工ニューラルネットワークモデル用いた機械学習を行った。

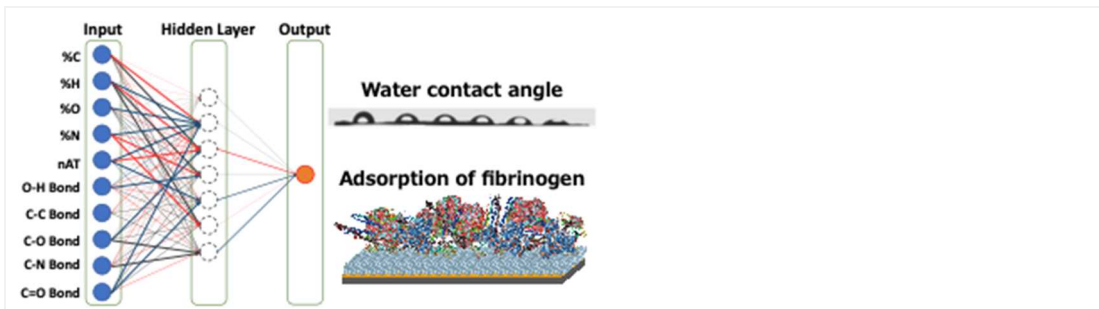


図 2 本研究で用いた人工ニューラルネットワークモデル

データ数は 200 程度であり、機械学習のためには少ないと考えられたが、図 3 に示すように、過学習を起こすことなく、分子の化学構造から、水の接触角、タンパク質吸着を予測することが出来た。

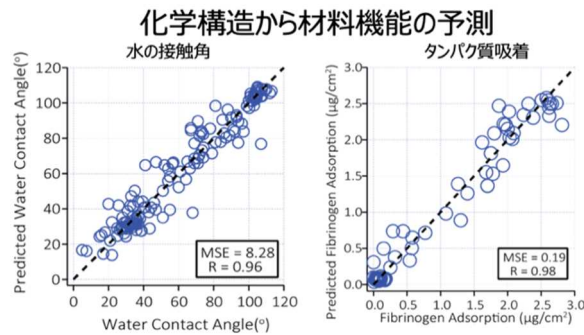


図 3 機械学習による水の接触角、タンパク質吸着量の予測結果

研究テーマ C: 機械学習によるバイオマテリアルスクリーニング・材料提案システムの確立

さらに学習後の人工ニューラルネットワークを利用して、架空の分子で構築した SAMs のタンパク質吸着も予測することができる(図 4)。これにより、材料の初期スクリーニングが可能となり、はずれの少ない材料設計に繋がると考えられる。

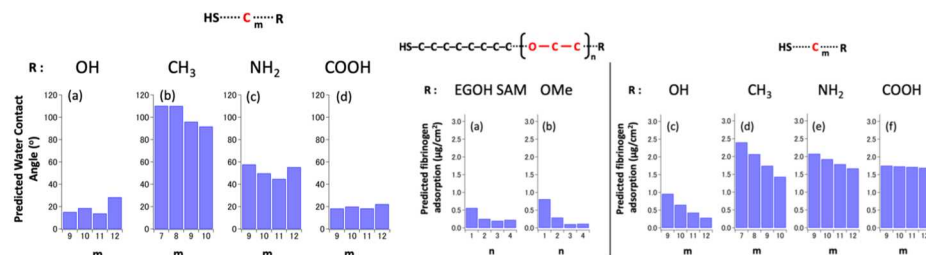


図 4 学習後の人工ニューラルネットワークを用いて架空の単分子膜の接触角とタンパク質吸着を予測した結果。

達成状況:

申請書で提案した上記 3 項目は達成し、幹細胞の増殖・分化誘導のための培養基板条件の設計のみが残されている。現在、傾斜基板上を用いたデータ取得を行っており、2 月まで

に材料提案システムの構築を終える予定である。

3. 今後の展開

本研究を通じて、単分子膜の系では材料の化学構造から、水の接触角などの基礎物性、機能(タンパク質吸着)を予測すること可能となった。バイオマテリアルは金属、セラミクス、高分子が主要な材料である事から、これらの材料にも展開する。

また、バイオマテリアル研究では相関が明らかとなっても、そのメカニズムの理解には課題が残る場合が多い。基礎学理の確立から応用まで一貫した研究を展開することが重要と考える。

4. 自己評価

本研究課題では、世界に先駆けて細胞接着基板の設計に情報科学を利用するという成果を発表することが出来た。また、情報科学のバイオマテリアル設計への導入の際の注意点なども、定量的な結果を基に指摘することが出来、それが、基礎研究のみならず、産学連携での成果にも繋がった。

また、さきがけ研究者との交流によって、生体分子の揺らぎの高時間分解能測定、情報科学を利用したスペクトル解析によるグリセロールからの DHA 生成経路の解明など、様々な成果を挙げることが出来た。

5. 主な研究成果リスト

(1) 代表的な論文(原著論文)発表

研究期間累積件数: 34件

1. Kwaria RJ, Mondarte EAQ, Tahara H, Chang R, Hayashi T. Data-Driven Prediction of Protein Adsorption on Self-Assembled Monolayers toward Material Screening and Design. *ACS Biomater Sci Eng.* 2020;6(9):4949-56.

本さきがけ研究で最も重要な成果である。ここでは、自己組織化単分子膜上のタンパク質(フィブリノーゲン)の吸着量に関して文献データの収集を行い、人工ニューラルネットワークモデルを用いた分子構造とタンパク質吸着量の相関解析を行った。さらに抗タンパク吸着特性に求められる分子構造を明確に提案する方法を提案した。

2. Maekawa T, Nyu T, Mondarte EAQ, Tahara H, Suthiwanich K, Hayashi T. Visualization of molecular binding sites at the nanoscale in the lift-up mode by amplitude-modulation atomic force microscopy. *Nanoscale.* 2021;13(7):4213-20.

本論文では、振幅変調型原子間力顕微鏡によるナノスケールの解像度で分子認識サイトの局所的分布を視覚化するための新しいアプローチを報告した。プローブの化学修飾、カンチレバーを駆動するための光熱励起、および表面トポグラフィ上でのリフトアップスキンを統合することにより、AFM プローブに付着したビオチンの固体表面上のストレプトアビジンによって提供される結合部位を視覚化することに成功した。また測定条件の最適化について詳細に説明し、この手法の適用を別のリガンド-受容体システムで検証した。

3. Mondarte EA, Maekawa T, Nyu T, Tahara H, Lkhamsuren G, Hayashi T. Detection of streptavidin-biotin intermediate metastable states at the single-molecule level using high

temporal-resolution atomic force microscopy. *Rsc Advances*. 2019;9(39):22705-12.

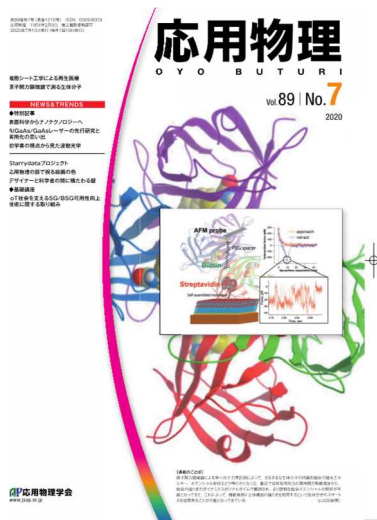
ストレプトアビジン-ビオチン分子間結合は、その高い結合親和性のために多くのアプリケーションで広く使用されていますが、その正確な性質と相互作用メカニズムは十分に理解されていない。ここでは、原子間力顕微鏡による高速サンプリングレート(データポイントあたり 20 μ s)で力の検出をすることにより、分子間結合の過渡状態を明確に検出した結果について報告した。

(2)特許出願

研究期間累積件数： 0 件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

- ① (招待講演) T. Hayashi, Experimental and theoretical analyses of biointerfaces and data-driven design of biomaterials. In *CHEMISCHE GESELLSCHAFT ZU HEIDELBERG* (ハイデルベルグ化学協会), ハイデルベルグ大学, 2019.
- ② (招待講演) T. Hayashi, Understanding of the origin of bioinertness and design of antifouling surfaces. In *Kyoto Winter School 2019*, Kyoto University, 2019.
- ③ (受賞) 平成 30 年 (2018 年) 日本学術振興会 第 174 委員会 若手研究者賞
- ④ (著作物) 応用物理学会 2020 年 7 月号表紙



- ⑤ (プレスリリース) 2020 年 1 月 15 日 「廃棄グリセロールから DHA と水素の生産に成功」
<https://www.titech.ac.jp/news/2020/046073.html>
- ⑥ (プレスリリース) 2020 年 8 月 31 日 「AI を使い生体材料(バイオマテリアル)の設計に成功」
<https://www.titech.ac.jp/news/2020/047725.html>