

タンパク質のように高次構造を記憶する高分子の開発に成功

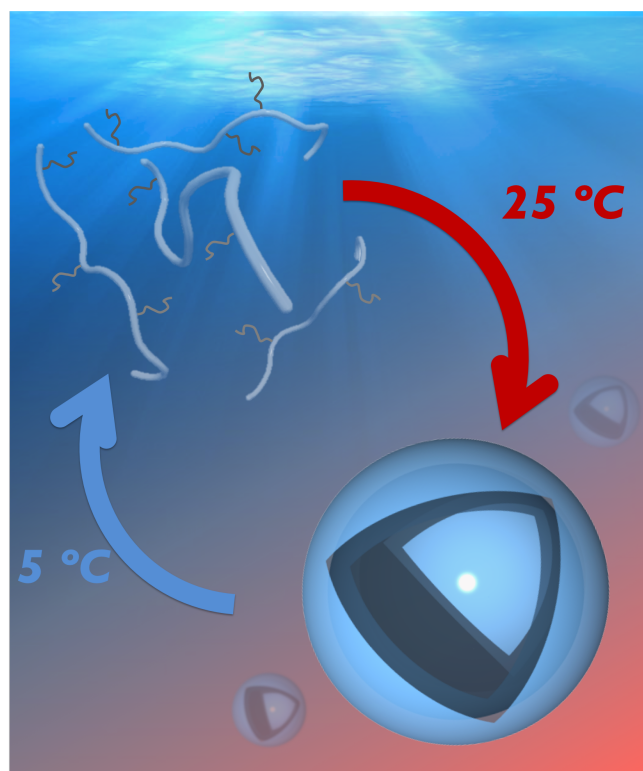
—ナノリアクター小胞としてのバイオ応用に期待—

概要

京都大学大学院 工学研究科 高分子化学専攻の西村智貴 特定助教、秋吉一成 同教授の研究グループは、温度応答性両親媒性グラフトポリマー^[注1]を開発し、この高分子が自己組織化構造^[注2]を記憶する事やそのサイズを自在に制御できる事を見いだしました。

天然のタンパク質は、ポリペプチド鎖が折り畳まれた自己組織体で、その構造は配列に依存して一義的な立体構造を取ります。一方で、人工高分子鎖の折り畳みによる自己組織化では、そのような構造形成は困難でした。本グループでは、多糖と温度応答性高分子^[注3]からなる高分子が、自発的に折り畳まれて特定のサイズのベシクル構造^[注4]を形成する事、そのサイズはポリマー濃度を変える事で自在に調整できる事を見出しました。さらに、このベシクルを冷却して崩壊させても、再度温めれば全く同じサイズのベシクル構造に復元し、ベシクル構造を記憶している事を明らかにしました。今回開発した高分子の自己組織化法は、特定の構造の分子集合体を自在に作り分ける新しい分子組織化技術を提唱するもので、ドラッグデリバリーシステム^[注5]における優れた薬物運搬体^[注6]の創出につながると期待されます。

本研究成果は、2020年6月7日に米国化学会誌「Journal of the American Chemical Society」のオンライン版に掲載されました。



1. 背景

タンパク質は、親水性アミノ酸と疎水性アミノ酸の共重合体である両親媒性高分子^[注7]とみなせるポリペプチドが、水中で折り畳まれて形成される自己組織体です。この折り畳みの選択性は、ポリペプチドの一次構造に基づいており、配列に依存した一義的なサイズ・形態のタンパク質やタンパク質複合体が形成されることが知られています。また、この厳格な構造体形成が、分子認識を可能とし、触媒能やスイッチ能をもたらします。

このような一義的な自己組織化体形成能から、タンパク質の自己組織化戦略は、人工分子でのナノ構造体の創出に用いられてきました。例えば、部分的なタンパク質モデルとしてヘリックスやシートといった特定の2次構造をとる人工分子(フォルダマー)や、タンパク質、酵素複合体モデルとしての両親媒性グラフトポリマー、両親媒性ランダムポリマーの自己組織化が挙げられます。しかし、タンパク質のように配列に依存した一義的なサイズ・形態の自己組織化体をテラーメイドかつ自発的に形成させる事は困難でした。また、タンパク質の自己組織化の最大の特徴は、タンパク質を変性させても、適切な環境に戻す事で再び元の形、構造に復元するという“高次構造の記憶”ですが、このような特定の構造を記憶するような人工分子集合体の報告例は、ありませんでした。

2. 研究手法・成果

(1) 新規グラフト高分子ベシクルの開発

本研究グループは、親水性多糖であるプルランの側鎖に温度応答性高分子ポリプロピレンオキシドを導入した両親媒性グラフトポリマーを設計しました(図1A)。このポリマーは、ポリプロピレンオキシドの下限臨界溶液温度(LCST)^[注8]以下に冷却すると、水中に溶解し、LCST以上に温めると自発的に単分散なベシクルを形成することを、電子顕微鏡観察(図1B)およびSPring-8 BL40B2での放射光X線小角散乱測定^[注9](図1C)から明らかにしました。通常の両親媒性分子でのベシクル形成は、動力学的に進行するため、多分散なベシクルを形成しますが、冷却したポリマー溶液を温めるだけで単分散なベシクル溶液を得ることができるのは、極めてユニークな性質です。高分子を適切に折り畳むことで、特定の形に自己組織化することから、研究グループは、このような分子を“高分子フォルダマー”と提唱しています。

(2) 構造記憶と自在サイズ制御能を示す高分子ベシクル

このように自発的に単分散なベシクルを形成することから、研究グループは、ベシクル溶液を冷却・昇温しても再び同一の形のベシクルを形成するのではないかと推測しました。実際に、実験を行なってみると、冷却前、昇温後でのポリマー溶液の小角散乱パターンが一致することがわかりました(図2A)。この事は、このポリマーが、温度応答に伴って可逆的に1本鎖の分子分散状態から、全く同じサイズ・膜の厚みを持つベシクル構造へ折り畳まれる事、すなわちベシクル構造を記憶している事を意味しています。また、研究グループは、このベシクルが、初期ポリマー濃度の増加に伴って、そのサイズが増大し、40 nm~70 nmの間でベシクルのサイズを自在に制御することができることも見出しました(図2B)。

3. 波及効果、今後の予定

本研究では、多糖と温度応答性高分子鎖からなる両親媒性グラフトポリマーが、構造の記憶やサイズ制御能を持つ高分子ベシクルを形成することを初めて見いだしました。通常のベシクルでは、構造が元に戻ることはなく、サイズ制御も困難であることから、今回開発した高分子ベシクルは、新たな分子集合体として材料科学の発展に寄与することが期待されます。また、ベシクルは、化粧品、ナノリアクター、人工細胞、ドラッグデ

リバリーシステムの運搬体と幅広い分野で用いられており、目的に合わせてサイズを制御することで、ベシクルの機能を最大限に引き出すことが可能になると考えられます。特に、様々なサイズの分子集合体を作り分けることで、生体内動態の制御が可能なドラッグデリバリーシステムの運搬体の開発にも期待できます。今後は、この自己組織化挙動が、その他のポリマーの組み合わせや分子集合体でも起きる普遍的な現象であるのかを調べ、自在に望みの形・サイズの分子集合体を設計できる手法の開発に取り組んでいきます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は下記の研究資金の支援を受けて行われました。

- 科学研究費助成事業(基盤(S): 16H06313、基盤(B): 18H01845、挑戦的研究(萌芽): 17K19030)
- SPring-8 一般課題 Proposal Nos. 2018A1141, 2018B1171, 2019A1214.

<用語解説>

注1. 両親媒性グラフトポリマー

親水性の主鎖の側鎖に、疎水性のセグメントが導入された高分子

注2. 自己組織化構造

分子が、疎水性相互作用、静電相互作用などの力により自発的に形成する構造

注3. 温度応答性高分子

温度変化に伴って、溶媒への溶解挙動が変化する高分子。例えば、ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)(PNIPAM)が有名な温度応答性高分子の1つ。

注4. ベシクル構造

両親媒性分子が、自発的に集合して球状に閉じた膜構造を持つ中空状集合体

注5. 薬物運搬体

生体内の疾患部位に、抗がん剤などの薬を運ぶナノ粒子

注6. ドラッグデリバリーシステム

薬剤を患部に選択的に送達することで、副作用を低減しながら治療効果を高める医療技術

注7. 両親媒性高分子

親水性のセグメントと、疎水性のセグメントを合わせ持つ高分子

注8. 下限臨界溶液温度(LCST)

ある種の水溶性高分子では、溶媒の水分子が水和することにより、水に対する親和性が高まっているが、高温では高分子鎖からの脱水和が起きると、水への溶解性が減少し、液-液相分離する。この相分離する温度を下限臨界溶液温度と呼ぶ。

注9. 放射光 X 線小角散乱測定

SPring-8 などの放射光施設から生み出される高輝度の X 線を用いて、散乱角が数度以下の散乱 X 線を観察することにより、分子集合体のナノスケールの構造情報を得る手法

<研究者のコメント>

両親媒性分子の自己組織化に関する研究は、長年行われていますが、未だその形やサイズを制御することは困難です。本研究では、シンプルな分子構造にも関わらず有機溶媒や超音波照射など外部から力がかかることなく、温めるだけで簡単にサイズの揃ったベシクル構造体に自己組織化する高分子を見出しました。今後は、より詳細な自己組織化メカニズムの解明を行い、自在に望みの構造の集合体を作る方法を構築したいと考えています。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Thermo-responsive Polysaccharide Graft Polymer Vesicles with Tunable Size and Structural Memory (構造記憶能とサイズ制御能を有する熱応答性多糖グラフトポリマーベシクル)

著者：Tomoki Nishimura, Shen Shishi, Yoshihiro Sasaki, Kazunari Akiyoshi

掲載誌：Journal of the American Chemical Society DOI：10.1021/jacs.0c02290

<参考図表>

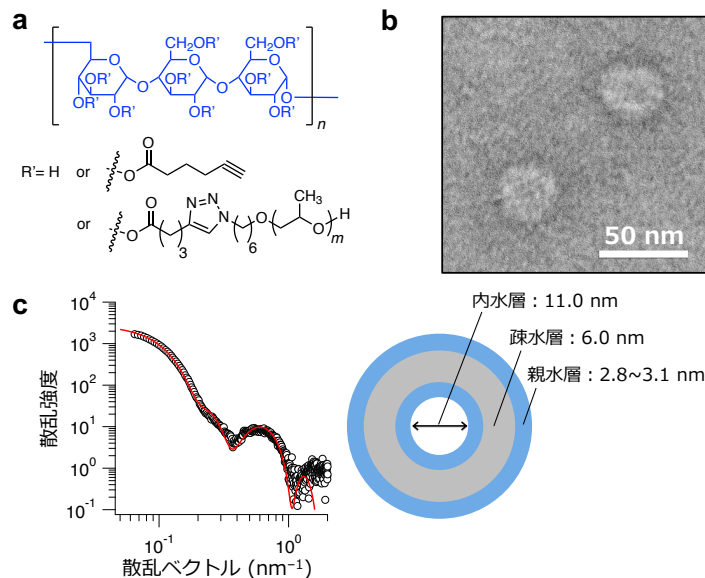


図1 (a) プルラン-ポリプロピレンオキシドからなる両親媒性グラフトポリマーの化学構造式、(b) グラフト高分子ベシクルの電子顕微鏡像、(c) 高分子ベシクルからの小角 X 線散乱プロファイルと二分子膜の模式図

高分子ベシクルの電子顕微鏡観察から、40 nm 程度の粒子が観察された。小角 X 線散乱測定で得られたプロファイル (黒丸) は、球状二分子膜モデル (赤線) で記述でき、二分子膜の厚みが 15 nm 程度であることが分かった。

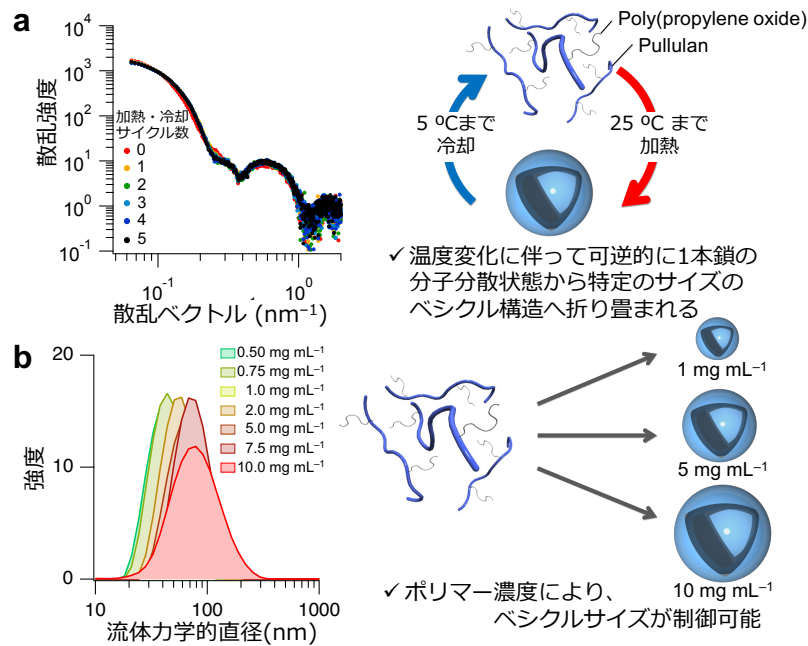


図2 (a) 温度変化サイクル前後でのグラフトポリマー溶液の小角 X 線散乱プロファイルと構造記憶の模式図、(b) 高分子ベシクルサイズのポリマー濃度依存性とその模式図

高分子ベシクル溶液を 25°C から 5°C に冷却し、再度 25°C に昇温しても、散乱プロファイルは冷却前と同一であり、構造が復元していることが判明した。また、ポリマー濃度増加に伴ってベシクルサイズも増加しており、濃度を変えることによって、自在にベシクルサイズを変化できることを見出した。