

1. 研究題目 疎水性化多糖の自己組織化とその機能性ホスト微粒子
としての利用

Self-organization of hydrophobized polysaccharides and its utilization
to functional host-nanoparticles

2. 研究代表者 京都大学工学部 助教授 秋吉一成

Kyoto University, Associate Professor, Kazunari Akiyoshi

3. 英文サマリー

Hydrophobized polysaccharides formed monodisperse nanoparticle by intermolecular self-aggregation in water. The self-aggregate of hydrogel-like structure shows unique thermoresponsibility. The nanoparticle incorporated various hydrophobic substances in the chiral binding site and even soluble proteins in the hydrogel matrix. The thermal stability of the complexed protein drastically increased.

4. 邦文本文

4-1 研究目的

生体系においては、酵素、タンパク質間の複合体、脂質-タンパク質複合体および核酸-タンパク複合体など、種々の高分子が非共有結合な自己組織的超分子集合体を形成して新しい機能を獲得し、合目的システムを構築している。この生体の洗練されたシステムを規範とした生体類似の高分子複合体に関する研究は、ナノスケールの自己組織体構築の基本原則を明らかにする上で重要であるばかりでなく、より高次の機能性材料開発に重要な知見を提供するものと思われる。近年、シクロデキストリン等を用いた低分子化合物の分子認識に基づくホスト-ゲストの化学、また合成二分子膜に代表される分子集合体の化学が急速な進展を見せ、様々な人工超分子が設計可能となってきた。一方、高分子をユニットとする人工自己組織体に関する研究は、比較的少ない。最近になって、生体要素の構造と機能の解明および工学、薬学や医学分野での応用と関連して両親媒性高分子の水溶液中での自己会合に関する基礎的研究が行なわれるようになってきた。本研究では、両親媒性高分子とくに疎水性化多糖の水溶液中での集合体形成およびタンパク質との超分子形成とその機能について検討した。

4-2 研究経過および成果

1) 疎水性化多糖の自己会合によるヒドロゲル超微粒子

生分解性で構造化学的にも多くの不斉点を有するポリヒドロキシ化合物で、親水性と疎水性の両面を合わせもち、ヒドロゲルや、液晶を形成するなど、種々の興味ある特性を有する水溶性天然多糖類に着目し、疎水基を部分的に置換した種々の疎水性化多糖類を合成し、その会合特性を検討した。重量平均分子量5.5万のプルランを基盤

とし、コレステロール基を100単糖当たり1-5個置換したCHP-55-X(X=1-5)を合成した。この疎水化多糖の水溶液中の構造特性をサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)、光散乱、透過型電子顕微鏡観察、蛍光分光法および¹H-NMRにより検討した。静的光散乱法により、CHPの会合数は10-15、直径は約30nmであり、また透過型電子顕微鏡観察においてもその集合体は比較的サイズのそろった球状の微粒子であることが確認された。その微粒子の糖密度は5-30 wt%と計算され、会合した疎水基を架橋点とするヒドロゲル微粒子であること、熱に対してもヒドロゲル特有の相転移現象を示すことを見いだした。糖密度、微粒子のサイズは、多糖の分子量、疎水基の数により制御可能である。また、疎水性残基の会合にともなう主鎖糖鎖の集積により、種々の疎水性物質(PNA, ANS, TNS、ビリルビン(BR)、およびボルフィリンなど)を取り込むシクロデキストリン類似の不斉なマイクロ環境が形成されていることも分かった。このように、疎水化多糖の自発的集合によりナノオーダーサイズの単分散なヒドロゲル超微粒子の形成と主鎖ポリマーの集合化による機能発現という興味ある現象を見いだした。

2) 疎水性化多糖-タンパク質複合体

多糖集合体は、通常の蜜につまった合成微粒子と違い、水を多く含む比較的やわらかいナノスケールのヒドロゲル超微粒子であり、水溶性タンパク質を取り込むのに都合のよい大きさである。そこで種々の水溶性タンパク質と相互作用させたところ、その分子量に依存して1個から10個までの決まった数を取り込んだ複合体が得られた。種々の解析からこの取り込み反応は、高分子のホスト-ゲスト系ともいえるもので、タンパク質はエンタルピー支配で集合体ヒドロゲル微粒子中のマトリックス内部にしっかりと取り込まれていることがわかった。また、その複合体形成速度および複合体の安定性は、ゲストであるタンパク質の分子容、疎水性またホストである集合体中の架橋密度(疎水基の数)、電荷等により制御可能であることもわかり、タンパク質と選択的に相互作用する機能性ホストの設計を行なっている。CDスペクトルからタンパク質はモルテングロビュールともいえる状態で多糖集合体に包接されており、さらに、興味深いことに取り込まれたタンパク質は熱に対してきわめて安定で90℃ちかくで加熱してもタンパク質のunfoldingがみられなかった。また、包接されたタンパク質は他のタンパク質との交換反応あるいは多糖分解酵素反応を利用して複合体から遊離し、放出されたタンパク質はnativeな構造が保持されていることが明らかになった。現在、取り込みの作用因子、熱安定化の機構についてさらに検討を進めている。また、多糖に種々の機能性因子(細胞特異性、熱、pHなどの刺激応答性)を導入することが可能で、酵素の機能変換や生理活性タンパク質の新しいハイブリット化剤としての利用などにも展開を図っている。

4.3 発表論文リスト

- 1) K. Akiyoshi, K. Nagai, T. Nishikawa, J. Sunamoto, *Chem Lett.*, 1727 (1992).
- 2) K. Akiyoshi J. Sunamoto, in "Organized Solutions Surfactants in Science and Technology", ed. by S. E. Friberg and B. Lindman, Marcel Dekker, Inc., 290 (1992).
- 3) K. Akiyoshi, S. Deguchi, N. Moriguchi, S. Yamaguchi, J. Sunamoto, *Macromolecules*, 26, 3062 (1993).
- 4) H. Fukui, K. Akiyoshi, T. Sato, J. Sunamoto, S. Yamaguchi, M. Numata *J. Bioactive and Compatible Polym.*, 8, 305 (1993).
- 5) J. Sunamoto, K. Akiyoshi, T. Sato, in "New Functionality Materials, Volume B", eds by T. Tsuruta, M. Doyama, M. Seno, Y. Imanishi, Elsevier Science Publishers B.V., 203 (1993).
- 6) V. Rosilio, G. Madelmont, K. Akiyoshi, J. Sunamoto, A. Baszkin, *J. Colloid. Interface Sci.*, 162, 418 (1994).
- 7) S. Deguchi, K. Akiyoshi, J. Sunamoto, *Makromol. Chem., Rapid Commun.*, in press.
- 8) T. Nishikawa, K. Akiyoshi, J. Sunamoto, *Macromolecule*, in press.