

特定の刺激でタンパク質放出速度を制御、スマート超分子ヒドロゲルの開発

概要

浜地格 工学研究科教授、重光孟 大阪大学助教（前 京都大学 JSPS 博士研究員）、浦山健治 京都工芸繊維大学教授らは、特定の刺激に応じて強度やタンパク質放出速度を自在に制御できる新しいスマートヒドロゲルの開発に成功しました。

水をゼリーのように固めたヒドロゲルは、ほぼ水で構成されるために生体適合性が高く、化粧品や食品だけでなく医療や診断への応用が期待されています。特に、特定の刺激に応答して物性を変える『刺激応答性ヒドロゲル』は、薬物の効率的保持や放出を担う素材として応用が期待されています。しかしながら、

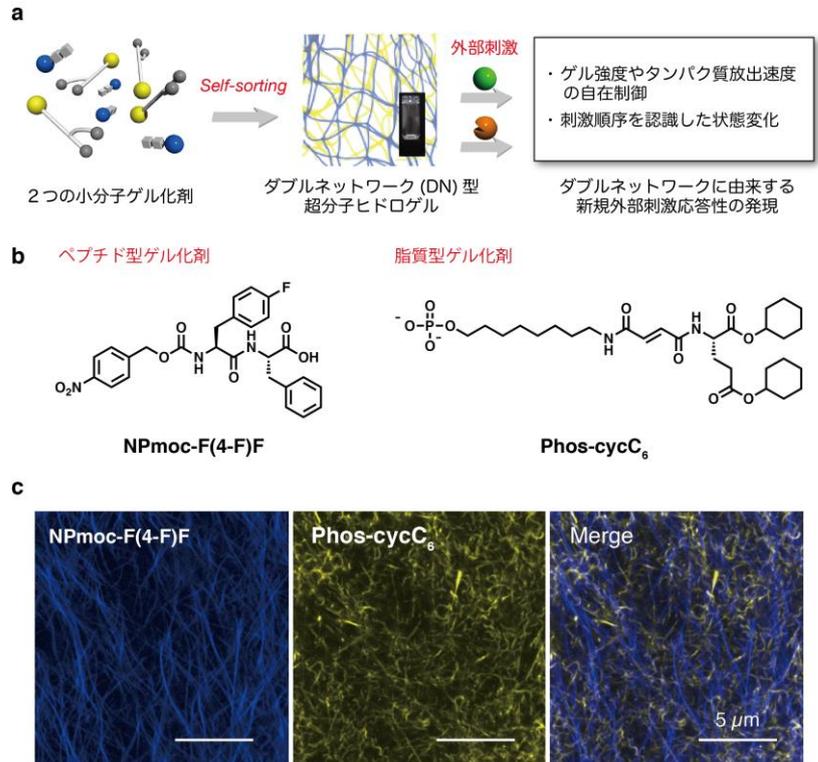
これまでの刺激応答性ヒドロゲルは『1つの刺激に対して1種類の応答』を示す単純なもので、応用も限定されていました。様々な分子が混在する複雑な環境である生体での応用を考慮した場合、複数の特定刺激に適応して、自らその性質を柔軟に変化させる自律応答性ヒドロゲルの開発が必須であると考えられます。しかし、その開発指針は、明確には示されていませんでした。

本研究グループは、生体を構成する天然のソフトマテリアルである『細胞』をヒントに、異なる刺激応答性を有する2種類のナノ繊維からなるネットワーク構造を基盤とする刺激応答性の超分子ヒドロゲルを開発しました。このヒドロゲルはそれぞれのナノ繊維の特徴を反映し、特定の2種類の刺激に応じてゲルの強度を自律的に変えタンパク質放出速度の制御が可能であることを明らかにしました。さらに、このヒドロゲルは刺激を受ける順序を認識して物質の取り込み挙動を自ら制御できることも明らかにしました。今後、本研究で示した刺激応答性超分子の複合化が、刺激応答性や自律応答性を有する新奇スマートマテリアルの創出における重要な戦略であることが認知され、新たな診断材料や薬物徐放担体などの開発が加速することが期待されます。

論文は2018年1月8日付で *Nature Nanotechnology* オンライン速報版で公開されました。

1. 背景

ほとんどが水で構成される『ヒドロゲル』は生体適合性が高く、診断や薬物輸送、細胞培養などの医療材料としての応用が期待されています。特に、特定の環境や刺激に応じて溶解または固化できる刺激応答性ヒドロゲルは、新しい医療材料として応用が期待されています。しかしながら、これまでに開発された刺激応答性ヒド



ロゲルの多くは、『特定の 1 つの刺激に対して 1 種類の応答を示す』比較的単純なもので、応用範囲も限られていました。様々な分子や環境が雑多に存在する生体での応用を考慮した場合、ヒドロゲルが環境を自ら認識して、物性を多様に变化させることのできる性質が必要である、と考えられます。しかしながら、それを実現するための戦略は、これまで明確には示されていませんでした。

2. 研究手法・成果

今回の研究では、自律応答性や多機能性などの優れた機能を有する自然界における究極のソフトマテリアルである、『細胞』を参考にヒドロゲルを設計しました。細胞が、複数種の超分子ナノファイバーの形成と崩壊を巧みに利用していることをヒントに、スマートヒドロゲルの開発には複数の刺激応答性ネットワークを独立して混在させることが重要であると着想しました。この仮説をもとに 2 つのナノファイバーを用いたダブルネットワーク（以下、DN）型の超分子ヒドロゲルを創出し、強度やタンパク質放出速度を特定の刺激に応じて自在に制御できることを明らかにしました。また、DN 型超分子ヒドロゲルは刺激の順序を認識して、ナノマテリアルの取り込みを自ら制御する、自律応答性を有していることを明らかにしました。

（1）ダブルネットワーク（DN）型超分子ヒドロゲルの構築

本研究グループでは、これまでに小分子化合物が自己集合して形成するナノファイバーを基盤とするヒドロゲルの研究を行い、様々な種類の刺激応答性超分子ヒドロゲルを開発してきました。

今回はその中でも自己集合の駆動力が異なるものを選択し、水中で独立して 2 種類の超分子ナノファイバーを構築するペアを探索しました。検討の結果、ペプチド型ゲル化剤 NPmoc-F(4-F)F と脂質型ゲル化剤 Phos-cycC₆ が水中で self-sorting（自己認識・他者排除）して、異なる 2 種類のナノファイバーを形成することを見出しました。さらに、各ネットワークを選択的に可視化することのできるプローブの開発に成功し、共焦点レーザー顕微鏡でダブルネットワークを直接観察することにも成功しました。

（2）各ネットワーク単独の刺激応答性

DN 型超分子ヒドロゲルの物性評価に先立って、各ゲル化剤の刺激応答性およびそのメカニズムを動的粘弾性測定、高速液体クロマトグラフや共焦点レーザー顕微鏡などを用いて明らかにしました。

①還元剤による NPmoc-F(4-F)F ヒドロゲルの崩壊

NPmoc-F(4-F)F は、還元剤であるジチオナイト（Na₂S₂O₄）との反応によってニトロ基が還元され、最終的には分解されます（図 2a）。反応後に生成する化合物は、超分子ナノファイバーを保持することができないためにネットワークが壊れ、ヒドロゲルは崩壊します（図 2b）。

② 酵素による Phos-cycC₆ 溶液のゲル化

リン酸基を有する脂質型ゲル化剤 (Phos-cycC₆) は、リン酸エステル加水分解酵素 (BAP: bacterial alkaline phosphatase) によって分解され、HO-cycC₆ を生成します (図 2 c)。Phos-cycC₆ ネットワーク中の HO-cycC₆ の比率の増加に伴い、ネットワークはより疎水的になり、液体状態(ゾル)からゲルへの変化が誘起されます (図 2 d)。

3. DN 型超分子ヒドロゲルの刺激応答性

DN 型超分子ヒドロゲルでは各ネットワークの機能を保持し、Na₂S₂O₄ によって強度が低下し、BAP によって強度が増加することが期待されました (図 3a)。実際に、DN 型ヒドロゲルは、それぞれの刺激に応じて強度を双

図 2

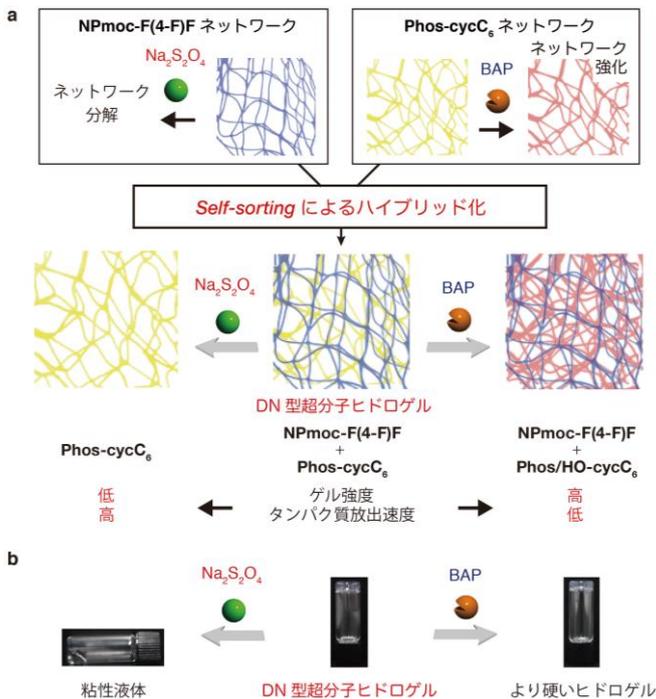
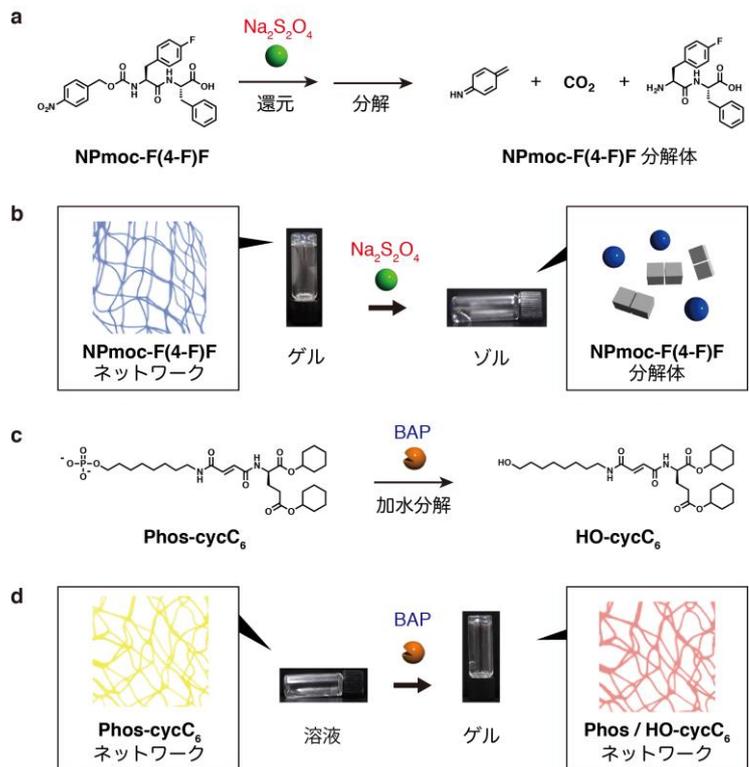


図 3

研究戦略による未知の刺激応答性マテリアル創製の可能性を明示するものです。

方向に制御できることを動的粘弾性測定によって明らかにしました。また、そのメカニズムを高速液体クロマトグラフや共焦点レーザー顕微鏡などを用いて検討し、各ネットワークが DN 型超分子ヒドロゲル中でも、独立に機能していることが分かりました (図 3 b)。また、このヒドロゲルにタンパク質を内包し、放出速度を評価した結果、刺激に応じて放出速度は大きく変化し、強度と同様に自在な制御が可能でした。

さらに、DN 型超分子ヒドロゲルは刺激の順序認識が可能であることも明らかにしました (図 4 a)。2 種類の刺激 (Na₂S₂O₄ および BAP) を別の順番でヒドロゲルに加えたところ、Na₂S₂O₄ → BAP の順番ではゲル→ゾル→ゲルと、ゾル化した後にゲル状態が再び回復し、BAP → Na₂S₂O₄ の順番ではゲル→ゲル→ゲルと、常にゲル状態を保持しました (図 4 b, c)。この変化を利用して、ゲル内部へのナノ粒子の取り込みの制御にも成功しました (図 4 d)。これは、ヒドロゲルが刺激の順序を認識して自律的に応答していることを示しており、本

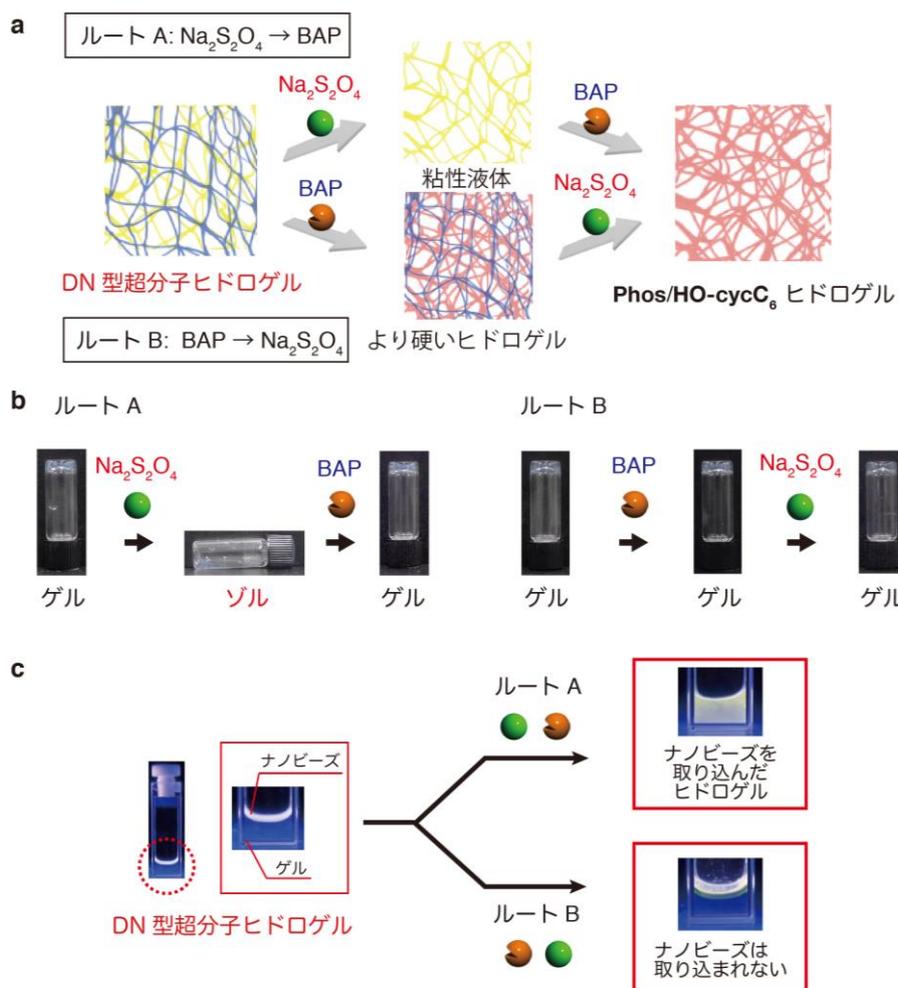


図4 ダブルネットワーク(DN)型ヒドロゲルの刺激順序認識

a: 2つの刺激($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, Phos-cycC₆)を加えた場合のダブルネットワークの変化の模式図

b: DN型超分子ヒドロゲルに異なる順序で刺激($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, Phos-cycC₆)を加えた場合の状態変化

c: 刺激順序を認識したDN型超分子ヒドロゲルのナノビーズ取り込み制御 (刺激を加える順序が異なるとナノビーズの取り込み結果が異なる。ヒドロゲルが刺激の順序を認識している。)

3. 波及効果、今後の予定

本研究は、多様な刺激応答性を有する材料の重要な開発戦略を示すものであり、今後は刺激応答性超分子の複合化による新しいスマート材料の開発が加速するものと期待されます。

本研究では、分子の Self-sorting 現象を利用して DN 型超分子ヒドロゲルの創出に成功しました。それらが各ネットワークの特性を反映し、特定の刺激によって強度やタンパク質放出速度を自在に制御できることを示しました。また、DN 型超分子ヒドロゲルが刺激の順序を認識して、ナノビーズの取り込みを制御する自律応答性を有していることを明らかにしました。本研究は、細胞のような多機能性や自律応答性を有する材料創出への大きな一歩です。刺激応答性の超分子を複合化して多機能性や自律応答性を発現させる、という戦略は広く一般化することが可能であり、生体内の部位に応じて自動的に薬物放出量の制御や診断を行う医療材料を例とする新奇インテリジェント材料創出への重要な戦略となることが期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は文部科学省科学研究費助成事業 新学術領域研究「分子夾雑の生命化学」、公益財団法人三菱財団 自然科学研究助成「超分子の複合による精密バイオ応答性ヒドロゲルの創出」の支援を受けました。

<論文タイトルと著者>

タイトル：“An adaptive supramolecular hydrogel comprising self-sorting double nanofibre networks”

著者：重光孟、藤咲貴大、田中航、窪田亮、南沙央理、浦山健治、浜地格

掲載誌：*Nature Nanotechnology*