

令和 4 年 6 月 2 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K15338

研究課題名(和文) Cubosomalゲルの階層的な構造を活用する分離プロセスの開発

研究課題名(英文) Development of Separation Process Using a Hierarchical Structure of Cubosomal Self-Assembly Gel

研究代表者

菅 恵嗣 (Suga, Keishi)

東北大学・工学研究科・准教授

研究者番号：00709800

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、脂肪酸およびモノオレインから成る階層的な構造を有するCubosomeを基盤として、その調製手法を明らかにするとともに、分離担体への応用を目的としたゲルの作成やナノ粒子の担持について検討を行った。Cubosome集合体の特徴として、脂質パッキング密度が高いことをラマン分光解析より明らかにした。ゲル材料の調製においては、水和後の攪拌操作が重要であり、強い剪断($Re > 2000$)を長時間印加することによりゲル化が促進されることを見出した。得られたCubosomeゲルは疎水性薬剤や金属ナノ粒子等の比較的大きな物質を内包できることがわかり、薬剤輸送担体や分離デバイスへの応用が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Cubosomeは階層的な構造を有する自己組織系であり、調製条件(組成、分散方法)によって分散性cubosomeやゲル状cubosomeとなることが知られていた。本研究によって、ゲルが形成されるプロセスは剪断凝集とみなすことができ、剪断応力(ここでは攪拌Reynolds数)によって集合体のサイズを制御できる可能性を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Cubosomal self-assembly was successfully prepared by fatty acid (e.g., oleic acid) and monoolein. Raman spectroscopy analysis revealed that lipids in cubosome were tightly packed, which could be one of essential properties of hierarchical cubosome assembly. In the gel preparation process, a high-speed stirring ($Re > 2000$) was necessary, wherein long-time shear stress application could promote the fluid dynamic aggregation of cubosome particles. The obtained cubosomal gel encapsulated hydrophobic drugs and metal nanoparticles. It is expected that cubosomal self-assembly (particle, gel) can be applied for drug delivery system and separation device.

研究分野：自己組織化材料

キーワード：Cubosome Shear thickening Drug delivery system Lipid nanoparticle Membrane property

1. 研究開始当初の背景

両親媒性分子は水中で自己組織化し、多種多様な分子集合体を形成する。水相中で両親媒性分子が三次元的に共連続構造(cubic 相)を形成した分子集合体(-some)を Cubosome という。マクロ視点では分散した粒子状集合体であり、ミクロ視点では両親媒性分子から成る 2 分子膜が親水-疎水界面を形成している。Cubosome の応用例として、薬剤輸送担体としての活用が期待されており、その集合構造を制御するための方法論の開発がますます期待されている。

2. 研究の目的

Cubosome 集合体の構造・膜物性の両視点から評価・設計を行うことを目的とする。Cubosome 特有の膜物性を明らかにするとともに、経験的にしか知られていないゲル状集合体の調製手法を明らかにする。また、Cubosome 集合体への物質内封について、疎水性分子の担持特性について検討する。

3. 研究の方法

Cubosome はオレイン酸およびモノオレインから調製し、必要に応じて界面活性剤 Pluronic F-127 を添加した。Cubosome の構造について、Cryo 透過型電子顕微鏡(Cryo-TEM)により構造解析を行った。膜特性について、Raman 分光解析による脂質パッキング密度の解析、蛍光プローブ Laurdan による膜極性の解析を行った。種々の界面活性剤濃度において、マグネチックスターラーによる攪拌速度を制御して Cubosome を調製し、動的光散乱解析により分散粒径を評価した。モデル薬剤として、疎水性分子である Hydrocortisone および疎水化金ナノ粒子(粒径 5 nm)を内封した Cubosome ゲルを調製した。

4. 研究成果

Cubosome 集合体の分散安定性について、Pluronic F127 の添加濃度を検討した結果、F127 濃度 8wt% において Cubosome 構造を維持した粒子径 200 nm 程度の集合体を再現性良く調製できることを明らかにした。Cryo-TEM による観察結果を図 1 に示す。集合体内部に階層的な構造が形成されていることが明らかになった。この Cubosome について、Raman 分光解析により脂質パッキング密度を評価した結果、脂質が密に配向していることがわかった。以上より、オレイン酸およびモノオレインから成る Cubosome 集合体は内部に階層的な構造を有する粒子状の集合体であることを明らかにした。

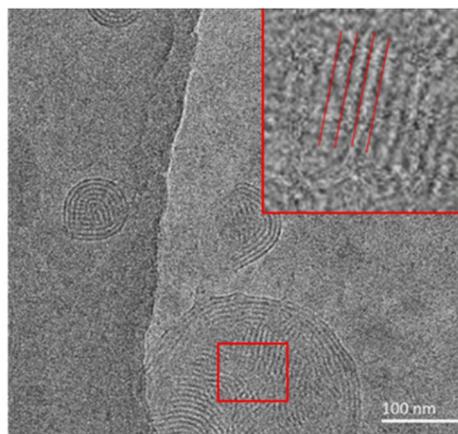


図 1 F127 濃度 8% で調製した Cubosome の Cryo-TEM 像

上述のとおり、Cubosome の分散性には界面活性剤 F-127 の濃度が影響する。また、Cubosome ゲルの調製時にマグネチックスターラーによって激しく攪拌するとゲル化することを明らかにしているが、これを剪断凝集(shear thickening)ととらえて、攪拌条件に対する集合体形成挙動について改めて検討を行った。これまで定性的に取り扱ってきた攪拌条件を攪拌 Reynolds として整理し、分散性 Cubosome が流体力によって凝集する条件を明らかにした(図 2)。図 2 に示す通り、攪拌速度が速い条件(2000 rpm)で調製すると懸濁液の一部がゲル化していることがわかる。ゲル化を促進するためには、F-127 濃度を減らすことが重要である。端的にまとめると、1)分散安定剤である Pluronic F-127 の添加濃度に比例して分散粒径が小さくなること、2) F-127 濃度が 0.6wt% の集合体を調製した場合に、剪断凝集が誘起されやすいことがわかった。Cubosome 集合体の安定性は組成ならびに調製条件に影響されるため、より頑丈な骨格構造を得るための重合性脂質分子の自己集合挙動についてもあわせて検討した。

組成を最適化した Cubosome に疎水性薬剤分子である Hydrocortisone を添加した。一般的なリン脂質ベシクルでは担持量が 10 wt% で飽和となるのに対して、Cubosome では最大 20wt% まで薬剤分子を担持可能であった。Cubosome 骨格は部分的に disordered 領域を有するため、膜の間隙部分に薬剤分子が挿入されると考えられる。Hydrocortisone を担持させて調製した分散性 cubosome を長時間攪拌することで、ゲルを調製できた(図 3)。ラマンスペクトル解析より、本材料に薬剤が担持されていることが裏付けられた。また、Cubosome に疎水化金ナノ粒子を複合化したところ、5 wt% 程度の濃度で粒子をゲルに担持できることがわかった。

組成を最適化した Cubosome に疎水性薬剤分子である Hydrocortisone を添加した。一般的なリン脂質ベシクルでは担持量が 10 wt% で飽和となるのに対して、Cubosome では最大 20wt% まで薬剤分子を担持可能であった。Cubosome 骨格は部分的に disordered 領域を有するため、膜の間隙部分に薬剤分子が挿入されると考えられる。Hydrocortisone を担持させて調製した分散性 cubosome を長時間攪拌することで、ゲルを調製できた(図 3)。ラマンスペクトル解析より、本材料に薬剤が担持されていることが裏付けられた。また、Cubosome に疎水化金ナノ粒子を複合化したところ、5 wt% 程度の濃度で粒子をゲルに担持できることがわかった。

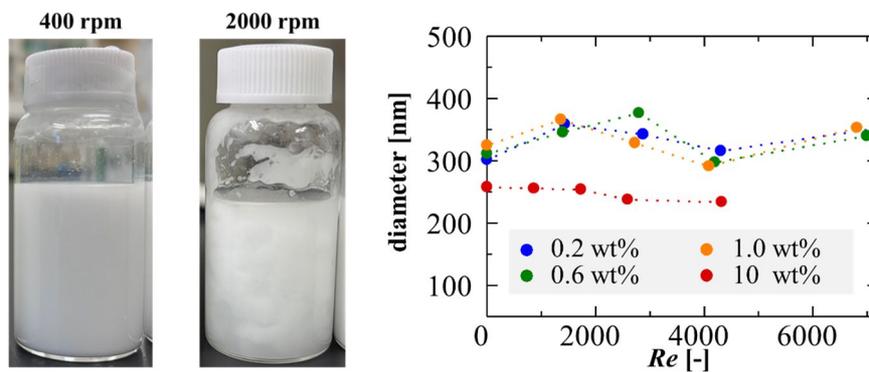


図2 Cubosome 調製時の攪拌の影響。(左)攪拌速度 400 rpm および 2000 rpm で調製した Cubosome 分散液の外観写真。(右)攪拌 Re と分散粒径の相関。図中の濃度(wt%)は添加した Pluronic F-127 濃度を表す。

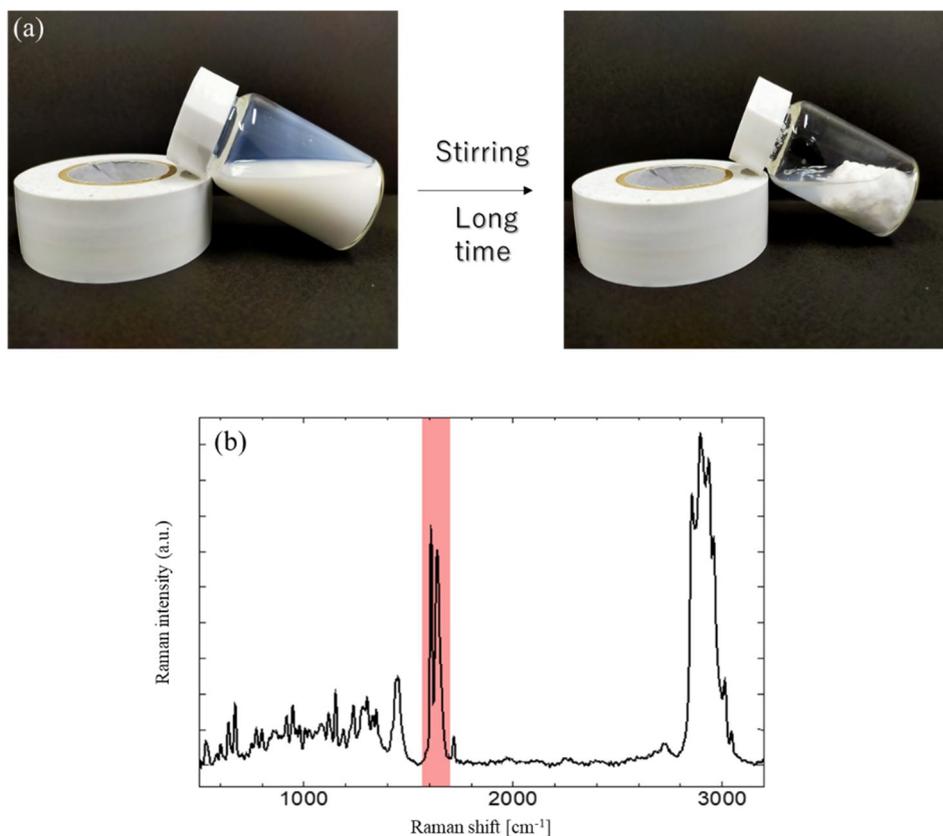


図3 (a) Hydrocortisone を担持させた分散性 Cubosome ならびに攪拌後の外観写真。(b) 得られたゲルのラマンスペクトル。1611 cm^{-1} および 1644 cm^{-1} のピークは Hydrocortisone に由来。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Miftah Faried, Suga Keishi, Okamoto Yukihiro, Umakoshi Hiroshi	4. 巻 45
2. 論文標題 Silver Nanoparticle-Phospholipid Self-Assembly Systems for Membrane Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Analysis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 MEMBRANE	6. 最初と最後の頁 187 ~ 192
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5360/membrane.45.187	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Faried Miftah, Ando Seiya, Suga Keishi, Okamoto Yukihiro, Umakoshi Hiroshi	4. 巻 49
2. 論文標題 Site Specific Analysis of Anionic Lipid by Membrane Surface-enhanced Raman Spectroscopy with Different Sized Gold Nanoparticles	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 1107 ~ 1110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.200389	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Han Jin, Hayashi Keita, Okamoto Yukihiro, Suga Keishi, Umakoshi Hiroshi	4. 巻 164
2. 論文標題 Characterization of pH-Responsive Self-Assembly Behaviors of Fatty Acid-Functionalized Prodrug	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical Engineering Journal	6. 最初と最後の頁 107794 ~ 107794
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bej.2020.107794	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Chern Michael S., Okamoto Yukihiro, Suga Keishi, Watanabe Nozomi, Umakoshi Hiroshi	4. 巻 124
2. 論文標題 Changes Caused by Liposomes to the Belousov-Zhabotinsky Reaction	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 9862 ~ 9869
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.0c06413	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Han Jin、Imure Yosuke、Okamoto Yukihiro、Suga Keishi、Umakoshi Hiroshi	4. 巻 50
2. 論文標題 Structure and Properties Characterization of Amphiphilic Dendrons Modified Lipid Membrane	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 187 ~ 190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.200633	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Jin Han、Misaki Amau、Yukihiro Okamoto、Keishi Suga、Hiroshi Umakoshi	4. 巻 0
2. 論文標題 Investigation of Quercetin interaction behaviors with lipid bilayers: Toward understanding its antioxidative effect within biomembrane	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2021.03.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Izza Ni 'matul、Suga Keishi、Okamoto Yukihiro、Watanabe Nozomi、Bui Tham Thi、Wibisono Yusuf、Fadila Cut Rifda、Umakoshi Hiroshi	4. 巻 37
2. 論文標題 Systematic Characterization of Nanostructured Lipid Carriers from Cetyl Palmitate/Caprylic Triglyceride/Tween 80 Mixtures in an Aqueous Environment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 4284 ~ 4293
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.langmuir.1c00270	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Keishi Suga、Kazuki Kitagawa、Shogo Taguchi、Yukihiro Okamoto、Hiroshi Umakoshi	4. 巻 36
2. 論文標題 Evaluation of Molecular Ordering in Bicelle Bilayer Membranes Based on Induced Circular Dichroism Spectra	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 3242-3250
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.langmuir.9b03710	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miftah Faried, Keishi Suga, Yukihiro Okamoto, Kamyar Shaneli, Mikio Miyake, Hiroshi Umakoshi	4. 巻 4
2. 論文標題 Membrane Surface-Enhanced Raman Spectroscopy for Cholesterol-Modified Lipid Systems: Effect of Gold Nanoparticle Size	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 13687-13695
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.9b01073	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tham Thi Bui, Keishi Suga, Tonya L. Kuhl, Hiroshi Umakoshi	4. 巻 35
2. 論文標題 Melting-Temperature-Dependent Interactions of Ergosterol with Unsaturated and Saturated Lipids in Model Membranes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 10640-10647
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.langmuir.9b01538	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Tham Thi Bui, Keishi Suga, Hiroshi Umakoshi	4. 巻 123
2. 論文標題 Ergosterol-Induced Ordered Phase in Ternary Lipid Mixture Systems of Unsaturated and Saturated Phospholipid Membranes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 6161-6168
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.9b03413	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tham Thi Bui, Keishi Suga, Hiroshi Umakoshi	4. 巻 44
2. 論文標題 Potential Interaction Behavior of Lanosterol and Unsaturated Phosphocholine in Monolayer Membrane	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 膜	6. 最初と最後の頁 199-203
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5360/membrane.44.199	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 菅 恵嗣
2. 発表標題 リポソーム膜におけるマイクロ～メソスケール相分離挙動の評価
3. 学会等名 生物工学Webシンポジウム2020（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 K. Suga, M. Faried, K. Watanabe, Y. Okamoto, H. Umakoshi, D. Nagao
2. 発表標題 Design of Lipid-Nanoparticle Assemblies for High-Sensitive Lipid Membrane Analysis
3. 学会等名 2020 Virtual AIChE Annual Meeting（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 生島直樹、菅 恵嗣、岡本行広、渡邊望美、馬越 大
2. 発表標題 疎水性薬剤送達のためのCubosome集合体の調製と評価
3. 学会等名 膜シンポジウム2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中山翔太、菅 恵嗣、渡部花奈子、長尾大輔
2. 発表標題 ポリジアセチレンベシクルの調製と発色特性の評価
3. 学会等名 化学工学会第86年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 生島 直樹, 菅 恵嗣, 岡本 行広, 馬越 大
2. 発表標題 新規なDDSキャリアを指向したCubosome集合体の調製と評価
3. 学会等名 化学工学会第85年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kazuki KITAGAWA, Shogo TAGUCHI, Keishi SUGA, Yukihiro OKAMOTO, Hiroshi UMAKOSHI
2. 発表標題 Preparation, characterization, and application of disk-like lipid self-assemblies
3. 学会等名 APCChE2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Keishi SUGA, Yoko OTSUKA, Hiroshi UMAKOSHI
2. 発表標題 Design of cubosomal gel based on self-assembly behaviors of fatty acids
3. 学会等名 APCChE2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 菅 恵嗣
2. 発表標題 物質を認識して分けるための膜材料開発
3. 学会等名 分離技術会年会2019 (招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

長尾研究室HP
<https://www.che.tohoku.ac.jp/~mpe/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------