

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K18195

研究課題名（和文）非平衡体積変動を生じる生体高分子応答ハイドロゲルの開発

研究課題名（英文）Biomacromolecule responsive hydrogels that exhibit transient volume changes

研究代表者

仲本 正彦（Nakamoto, Masahiko）

大阪大学・大学院工学研究科・助教

研究者番号：30883003

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：燃料生体高分子としてカチオン性のポリペプチド（ポリリシン）をモデルとして用い、アクリルアミドを母体とした高分子ハイドロゲルに対してアニオン性モノマー（アクリル酸）およびタンパク質分解酵素（アクリル化トリプシン）を導入することで燃料親和性および分解性を有するハイドロゲルを作製した。本ハイドロゲルは燃料であるポリリシンの添加により一時的な体積収縮と自律的な初期状態への回復、すなわち過渡的な体積変動を生じることが明らかとなった。加えて本ハイドロゲルの過渡的な体積変動によってゲル内に担持した蛍光物質を放出できることもわかった。以上、生体高分子を燃料として非平衡応答を示すハイドロゲルを実証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来の刺激応答性ハイドロゲルおよびその機能のほとんどは平衡論的な機能設計にとどまっており、生体高分子を燃料として非平衡機能を示すハイドロゲルの例はない。本研究では栄養摂取、代謝、そして老廃物排泄により維持される生体から着想を得て、標的生体高分子を燃料として、非平衡かつ巨視的な構造・物性変化を示すハイドロゲル材料を実証し、その設計原理を明らかにすることを研究目的とした。生体高分子に応答したハイドロゲルの非平衡機能を実現する本研究課題は、『生命現象を制御する『生き物のようにダイナミックにはたらく刺激応答性ハイドロゲル』開発にむけた基礎的な知見となる。

研究成果の概要（英文）：Positively charged poly-peptide (poly-lysine) was used as a fuel. A hydrogel with both affinity and digestive capacity for a fuel was prepared by introducing negatively charged group (acrylic acid) and proteolytic enzyme (acrylated trypsin) in poly-acrylamide-based hydrogel. The hydrogel showed transient volume change in response to the addition of fuel. In addition, poly-lysine-fueled transient volume change of the hydrogel could induce transient release of payload. In summary, we demonstrated for the first time biomacromolecule fueled transient volume changes of the synthetic hydrogel.

研究分野：高分子化学

キーワード：刺激応答性ハイドロゲル 過渡的応答 酵素 分子認識 非平衡機能

## 1. 研究開始当初の背景

刺激応答性ハイドロゲルは多くの点で生体組織との類似性をもつことから、バイオマテリアルとして盛んに研究されている。しかしながら従来の刺激応答性ハイドロゲルおよびその機能のほとんどは平衡論的な機能設計にとどまっておき、生体高分子を燃料として摂取・消費することで非平衡機能を示すハイドロゲルの例はない。対照的に、生命現象の多くは非平衡条件下で速度論的に制御されたダイナミックなシステムである。したがって、生体高分子に応答したハイドロゲルの非平衡機能を実現する人工材料の設計指針を確立すれば、薬物徐放材料や、細胞培養足場材料として生命現象を制御する『生き物のようにダイナミックにはたらく刺激応答性ハイドロゲル』開発にむけた重要な知見となる。

## 2. 研究の目的

本研究では栄養摂取、代謝、そして老廃物排泄により維持される生体の動的機能から着想を得て、標的生体高分子を燃料として、非平衡かつ巨視的な構造・物性変化を示すハイドロゲル材料を実証し、その設計原理を明らかにすることを研究目的とした。具体的にはアクリルアミドを母体としたハイドロゲルを材料として、ポリリジン燃料生体高分子としたモデル系を用いて研究を遂行した。

## 3. 研究の方法

燃料としてカチオン性のポリペプチド(ポリリジン)を燃料モデルとして用いた。アクリルアミドを母体とした高分子ハイドロゲルに対してアニオン性モノマー(アクリル酸)およびタンパク質分解酵素(アクリル化トリプシン)をフリーラジカル共重合により導入することで燃料親和性および燃料分解性を有するハイドロゲルを作製した(図1)。作製したハイドロゲルのポリリジン応答性を評価した。加えて、ハイドロゲルに薬物モデルとしてメチレンブルーを担持し、ポリリジンに応答したハイドロゲルの過渡的体積変動による物質徐放を実証した。更に、ハイドロゲル母体として生体適合性の高い *N*-(2-Hydroxypropyl)methacrylamide を、燃料分子としてカチオン性酵素であるリゾチームとして用い同様に燃料駆動の体積変動を観察した。

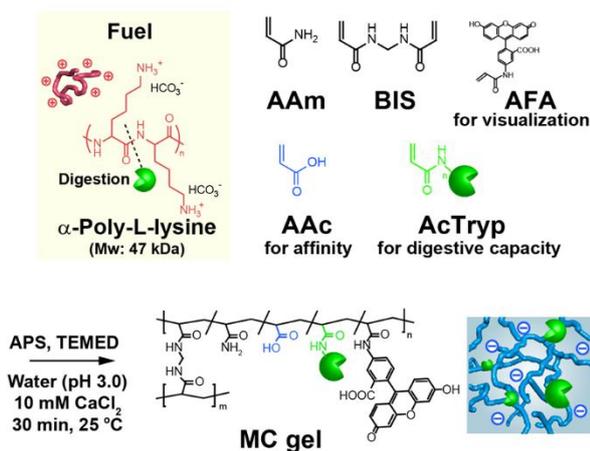


図1. ハイドロゲルの作製

## 4. 研究成果

### (1) ポリリジンに応答したハイドロゲルの過渡的体積変動

作製した燃料に対する親和性および分解能を有するハイドロゲルに対して、ポリリジン (2 gL<sup>-1</sup>) を加え、ハイドロゲル体積の経時変化を観察したところ、一時的な体積収縮と引き続き生じる自律的な初期状態への回復、すなわち過渡的な体積変動が観察された(図2)。観察された過渡的な体積変動は、再度の燃料分子の添加により繰り返しが可能であった(図3)。一方で、燃料に対する親和性のみを有するハイドロゲルでは収縮挙動のみが観察され、分解能のみを有するハイドロゲルでは体積変化が観察されなかった。以上の結果より、燃料に対する親和性および分解能の両方を併せてハイドロゲルに付与することで、燃料分子に応答した過渡的な体積変動が設計できることが分かった。得られた過渡的な体積変動は加える燃料分子の濃度によってその振幅及び寿命が制御可能であった(図4)。以上、本研究では生体高分子を燃料として過渡的体積変動を生じるハイドロゲルを世界で初めて報告した。

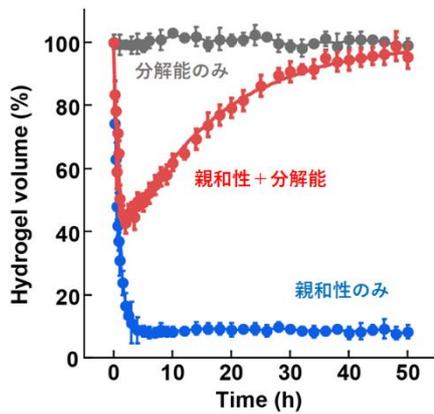


図2. ポリリシンに反応したハイドロゲルの過渡的体積変動

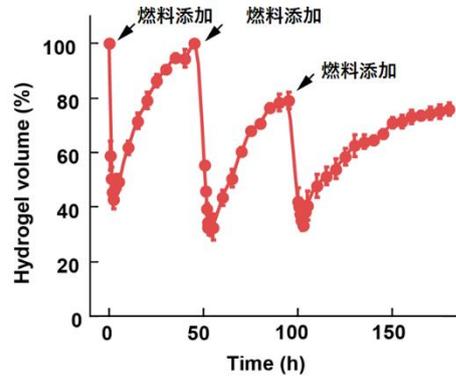


図3. ハイドロゲル過渡的体積変動の繰り返し性評価

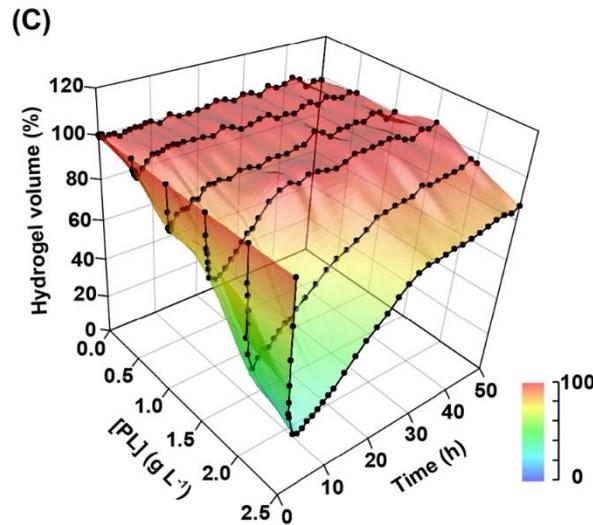


図4. 燃料濃度による体積変動挙動の制御

## (2) ハイドロゲルの過渡的体積変動のメカニズム解析

過渡的体積変動過程におけるハイドロゲル上清の質量分析により、過渡的体積変動に伴いポリリシン (分子量 47 kDa) からオリゴリシンへ (ジリシンおよびトリリシン) の分解が観察された。ハイドロゲルに対するポリリシンおよびオリゴリシンの吸着実験から、ハイドロゲルが燃料であるポリリシンに対する高い親和性および結合量を有し、老廃物であるオリゴリシンに対しては著しく親和性が低いことが明らかとなった。以上のことから、ハイドロゲルは燃料分子への高い親和性により、加えられた燃料分子を取り込み、材料内に静電架橋を構築することで収縮挙動を示し、次いで生じる燃料分解に伴い低親和性の老廃物を材料外へ放出することで初期体積へと自律的に回復することが示された (図5)。

## (3) ハイドロゲルの過渡的体積変動を利用した物質徐放

作製した燃料に対する親和性および分解能を有するハイドロゲルに薬物モデルとしてメチレンブルーを担持した。メチレンブルー担持ハイドロゲルに対して、繰り返しポリリシンを添加したところ、過渡的な物質徐放が観察された (図6)。一方で、燃料に対する親和性のみを有するハイドロゲルは、燃料の添加に伴い全ての担持物質を一度に徐放した。以上のことから、燃料分子に反応したハイドロゲルの過渡的な体積変動を設計することで、燃料分子駆動の過渡的な物質徐放が実現できることが分かった。以上より、本材料の薬物徐放材料としての応用性が示された。

#### (4) リゾチームに反応したハイドロゲルの過渡的体積変動

ハイドロゲル母体を生体適合性の高い *N*-(2-Hydroxypropyl)methacrylamide へ、燃料分子をカチオン性酵素であるリゾチームへ変更した際にも同様に燃料駆動の体積変動を観察した。更に、リゾチームに反応した過渡的な体積変動に伴い、ハイドロゲルの機械的強度が一時的に変動することも明らかとなった。以上のことから本研究で明らかにした材料設計指針の汎用性が示された。

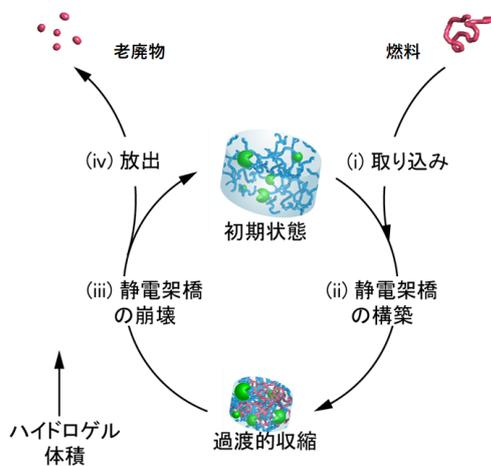


図5. ハイドロゲル過渡的体積変動の想定メカニズム

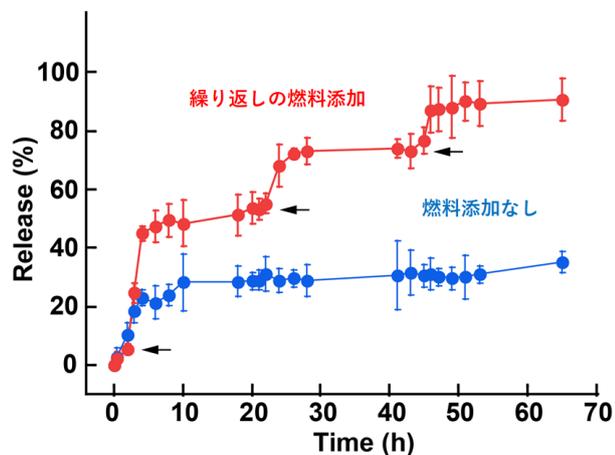


図6. 繰り返しの燃料添加によるハイドロゲルからの過渡的物質徐放

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kazuki Moroishi, Masahiko Nakamoto, Michiya Matsusaki	4. 巻 -
2. 論文標題 Fabrication of Molecular Blocks with High Responsiveness to the Cancer Microenvironment by Ursodeoxycholic Acid	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biomacromolecules	6. 最初と最後の頁 e202205125
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.biomac.3c00235	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 Yuki Koba, Masahiko Nakamoto, Michiya Matsusaki	4. 巻 14
2. 論文標題 Fabrication of a Polymeric Inhibitor of Proximal Metabolic Enzymes in Hypoxia for Synergistic Inhibition of Cancer Cell Proliferation, Survival, and Migration	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Appl. Mater. Interfaces	6. 最初と最後の頁 51790-51797
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsami.2c16454	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 Masahiko Nakamoto, Shiro Kitano, Michiya Matsusaki	4. 巻 61
2. 論文標題 Biomacromolecule-Fueled Transient Volume Phase Transition of a Hydrogel	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Angew. Chem. Int. Ed.	6. 最初と最後の頁 e202205125
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/anie.202205125	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 Hong Young Kyoung, Nakamoto Masahiko, Matsusaki Michiya	4. 巻 11
2. 論文標題 Engineering metabolic cycle-inspired hydrogels with enzyme-fueled programmable transient volume changes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Materials Chemistry B	6. 最初と最後の頁 8136 ~ 8141
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/d3tb00638g	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32件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Masahiko Nakamoto, Michiya Matsusaki
2. 発表標題 Polypeptide-fueled transient volume phase transition of a hydrogel
3. 学会等名 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society-Asia-Pacific Conference 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuki Koba, Masahiko Nakamoto, Michiya Matsusaki
2. 発表標題 Fabrication of a polymeric inhibitor of membrane-type co-localized enzymes for synergistic inhibition of cancer cell metabolism
3. 学会等名 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society-Asia-Pacific Conference 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Masahiko Nakamoto, Michiya Matsusaki
2. 発表標題 Engineering Biomacromolecule-fueled Transient Volume Transition of a Hydrogel
3. 学会等名 Biofabrication meets infection symposium 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木場 勇希、仲本 正彦、松崎 典弥
2. 発表標題 がん細胞増殖を相乗的に阻害する膜型酵素クラスター標的ポリグルタミン酸誘導体の創製
3. 学会等名 第71回高分子学会年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 仲本 正彦、松崎 典弥
2. 発表標題 標的ポリペプチド応答性ハイドロゲルの動的体積変化および物質徐放能
3. 学会等名 第71回高分子学会年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木場 勇希、仲本 正彦、松崎 典弥
2. 発表標題 がん細胞代謝を相乗的に阻害する膜型酵素群標的ポリグルタミン酸誘導体の創製
3. 学会等名 第68回高分子研究発表会（神戸）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 仲本 正彦、松崎 典弥
2. 発表標題 標的ポリペプチド吸着および酵素分解に応答して動的体積変化を示すハイドロゲル
3. 学会等名 第68回高分子研究発表会（神戸）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 坂本 蓮太郎、木場 勇希、仲本 正彦、松崎 典弥
2. 発表標題 クリック反応により活性化されるPEG修飾酵素阻害剤の創製とがん治療薬への応用
3. 学会等名 第68回高分子研究発表会（神戸）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 仲本 正彦、松崎 典弥
2. 発表標題 生体高分子を燃料とした過渡的体積相転移を生じる ハイドロゲルの合理的設計
3. 学会等名 第71回高分子討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuki Koba, Masahiko Nakamoto, Michiya Matsusaki
2. 発表標題 Analysis of Synergistic Inhibition Mechanism of Cancer Cell Metabolism by Hetero Ligands Polyglutamic Acid Derivatives
3. 学会等名 第71回高分子討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 仲本 正彦、松崎 典弥
2. 発表標題 生体高分子に応答して過渡的体積変動を生じるハイドロゲルの創製および物質徐放能評価
3. 学会等名 第44回日本バイオマテリアル学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 坂本 蓮太郎、木場 勇希、仲本 正彦、松崎 典弥
2. 発表標題 高分子自己集合体間のクリック反応によってIn situ活性化するCAIX阻害剤の創製
3. 学会等名 日本バイオマテリアル学会関西ブロック 第17回若手研究発表会プログラム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Wu Chun-Yi, Masahiko Nakamoto, Michiya Matsusaki
2. 発表標題 Ligand-Directed Open-to-Air Living Radical Polymerization for Fluorescence Turn-on Detection of Target Protein
3. 学会等名 日本バイオマテリアル学会関西ブロック 第17回若手研究発表会プログラム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 仲本 正彦、Hong Young Kyoung、松崎 典弥
2. 発表標題 酵素を燃料として過渡的体積変動を生じる代謝模倣ハイドロゲルの創製
3. 学会等名 日本バイオマテリアル学会関西ブロック 第17回若手研究発表会プログラム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 仲本 正彦、木場 勇希、松崎 典弥
2. 発表標題 がん細胞増殖阻害能に与えるリガンド修飾ポリグルタミン酸の分子量の影響
3. 学会等名 日本化学会 第103回春季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hong Young Kyoung、仲本 正彦、松崎 典弥
2. 発表標題 Transient Volume Change of the Enzyme-Fueled Hydrogel with Tunable Lifetime and Amplitude
3. 学会等名 日本化学会 第103回春季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 坂本 蓮太郎、木場 勇希、仲本 正彦、松崎 典弥
2. 発表標題 ナノ粒子間クリック反応により活性化されるCAIX阻害剤の創製とがん治療薬への応用
3. 学会等名 第44回日本バイオマテリアル学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Rentaro Sakamoto・Yuki Koba・Masahiko Nakamoto・Michiya Matsusaki
2. 発表標題 Multiligand Inhibitor of Carbonic Anhydrase IX Activated by Click Reaction Between Polymeric Nano-assemblies for Cancer Treatment
3. 学会等名 第72回高分子学会年次大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 名倉 垂耶・仲本 正彦・松崎 典弥
2. 発表標題 光照射部位選択的な骨組織集積能を有するケージド細胞デザイナー分子の創製
3. 学会等名 第72回高分子学会年次大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Wu Chun-Yi・Masahiko Nakamoto・Michiya Matsusaki
2. 発表標題 In situ Ligand-Directed RAFT Polymerization for turn-on fluorescence detection of target protein
3. 学会等名 第69回高分子研究発表会（神戸）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Rentaro Sakamoto・Yuki Koba・Masahiko Nakamoto・Michiya Matsusaki
2. 発表標題 In situ Synthesis of Multivalent Ligands of CAIX by Click Reaction Between Polymeric Nano-assemblies for Cancer Treatment
3. 学会等名 The 13th SPSJ International Polymer Conference (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 仲本 正彦・坂本 蓮太郎・木場 勇希・松崎 典弥
2. 発表標題 自己集合体間クリック反応によるCAIX標的多価リガンドのin situ合成およびがん細胞増殖阻害
3. 学会等名 第72回高分子討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 坂本 蓮太郎・木場 勇希・仲本 正彦・松崎 典弥
2. 発表標題 高分子自己集合体間の生体直交性クリック反応により in situ活性化されるCAIX多価リガンドの創製およびがん治療薬への応用
3. 学会等名 第14回CSJ化学フェスタ
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 名倉 亜耶・仲本 正彦・松崎 典弥
2. 発表標題 可視光照射に応答したヒドロキシアパタイト認識能を細胞に付与するデザイナー分子の創製
3. 学会等名 第14回CSJ化学フェスタ
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Wu Chun-Yi・Masahiko Nakamoto・Michiya Matsusaki
2. 発表標題 Turn-on Fluorescence Detection of Target Protein via In Situ Ligand-Directed RAFT Polymerization
3. 学会等名 第14回CSJ化学フェスタ
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岩本貴汰、仲本 正彦、松崎 典弥
2. 発表標題 弱酸性環境に応答し血小板膜を破壊するデザイナー分子の創製とDDS キャリアへの応用
3. 学会等名 第44回日本バイオマテリアル学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Wu Chun-Yi・Masahiko Nakamoto・Michiya Matsusaki
2. 発表標題 In Situ Ligand-Directed RAFT Polymerization of Turn-on Fluorescent Polymer for Target Protein Detection
3. 学会等名 第44回日本バイオマテリアル学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 名倉 亜耶・仲本 正彦・松崎 典弥
2. 発表標題 細胞デザイナー分子による破骨細胞への可視光応答性ヒドロキシアパタイト認識能の付与
3. 学会等名 日本化学会第104回春季大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 仲本 正彦・坂本 蓮太郎・木場 勇希・松崎 典弥
2. 発表標題 高分子間生体直交性反応による膜型酵素多価リガンドのin situ合成とがん細胞増殖阻害
3. 学会等名 日本化学会第104回春季大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 小倉 勸汰、仲本 正彦、松崎 典弥
2. 発表標題 カルセインアセトキシメチルをエステラーゼ応答性光触媒とした 光誘起電子移動型-可逆的付加開裂連鎖移動重合法の確立
3. 学会等名 日本化学会第104回春季大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 仲本 正彦
2. 発表標題 生体分子を燃料とした ハイドロゲルの非平衡応答エンジニアリング
3. 学会等名 第74回医用高分子研究会（招待講演）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 仲本 正彦
2. 発表標題 生体高分子を燃料としたハイドロゲルの 過渡的応答エンジニアリング
3. 学会等名 第7回分子ロボティクス年次大会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------