

Studies on Functionalized Liposomes

（機能性リポソームに関する研究）

学位論文内容の要旨

生体内では、様々な分子が高度に組織化されて生命活動に必要な機能を発現している。近年、高機能性素材の探索において生体組織を模倣した高度に組織化された材料の開発が始められ、自己組織性を示す分子が注目されている。その中で、脂質からなる分子集合体は有力な候補材料の一つであり、脂質二分子膜からなるリポソームは水溶性物質を内水層に、脂溶性物質をその膜中に保持できるナノカプセルとして興味深い。一方、新規素材の開発においても地球環境保全は重要な課題であり、生分解性を有する素材開発や環境保全を考慮したシステムの構築が注目されている。本課題に対しても脂質からなる分子集合体の応用が期待されている。そこで、高機能性素材の一つとしてリポソームに着目し、その機能化について検討した。

本論文では、分子配列場を利用した両親媒性アミノ酸エステル類の自己縮合によるペプチドリポソームの構築、および塩湖、温泉などの過酷な条件下に生息する古細菌類の細胞膜構成脂質を模倣した脂質類の合成と応用について述べられている。

第1章では、種々の両親媒性アミノ酸エステル類を合成し、気液界面における単分子膜中での自己縮合に関して検討した。その結果、縮合速度はエステル脱離基の脱離性に依存することを明らかとした。そして、フェニルエステル誘導体を用いることにより迅速な縮合を達成できることを明らかとした。また、自己縮合によるペプチド薄膜の形成を走査型電子顕微鏡により形態変化として観察できることを示した。

第2章では、セリンフェニルエステルの誘導体に関して光学活性体とラセミ体を合成し、単分子膜中での自己縮合に対するキラリティーの影響について調べた。その結果、光学活性体はラセミ体と比較して緻密な膜を形成したが、縮合速度には両者に大きな差は観察されなかった。また、走査型電子顕微鏡による観察の結果からも、光学活性体の方が均一なペプチド薄膜を与えることが明らかとなった。以上のように、モノマー分子のキラリティーは分子のパッキングに影響し、得られる薄膜の形態に変化を与えることが明らかとなった。

第3章では、単分子膜における知見を基にして、トリペプチドプロパルギルエステルを

親水部に持つ新規なグリセロリン脂質を合成し、ペプチド脂質の脂質二分子膜中における自己縮合によりペプチドリポソームを調製した。その結果、分子配列場を利用した自己縮合によるペプチド薄膜形成法は、既存の縮合剤を用いる手法と比較して、副反応や副生成物が少なく有用であることを示した。

第4章では、古細菌類の膜構成脂質のモデルである、二つの飽和イソプレノイド疎水鎖を持つジフィタノイルホスファチジルコリンを調製し、その膜物性を検討した。その結果、ジフィタノイルホスファチジルコリンの単分子膜は非常に大きな膜占有面積を示し、その脂質二分子膜は物質透過に対して非常に高いバリアー能と熱安定性を示した。そして、古細菌類の細胞膜の安定性はその特異な構造を持つ疎水鎖に由来することを明らかにした。

第5章では、脂質二分子膜安定化剤への飽和イソプレノイド疎水鎖の応用を検討した。すなわち、二つ飽和イソプレノイド疎水鎖を持つジフィタニルホスフェートを合成し、ジパルミトイルホスファチジルコリンと本ホスフェートからなるリポソームを調製して安定性について調べた。その結果、得られたリポソームは物質透過に対し高い熱安定性を示し、飽和イソプレノイド疎水鎖を導入したジアルキルホスフェートが脂質二分子膜安定化剤として機能することを示した。

第6章では、pH感受性リポソームのトリガー分子への飽和イソプレノイド疎水鎖の応用を検討した。すなわち、一つの飽和イソプレノイド疎水鎖を持つモノフィタニルホスフェートを合成し、トリガー分子としてジパルミトイルホスファチジルコリンからなるリポソームの脂質二分子膜に導入してそのpH感受性を調べた。その結果、得られたリポソームは塩基性域においてベシクルからミセルへの転移により内包物を瞬時に放出することを明らかにした。また、このpH感受性は用いるホスファチジルコリンにより異なり、脂質二分子膜中におけるトリガー分子とホスファチジルコリンの相溶性によりリポソームの感受性を制御できることを明らかとした。

第3章で述べられたペプチドリポソームは高度に組織化された規則正しい構造を持つ生分解性に富む高分子ナノカプセルとして様々な分野での利用が期待される。また、第5章で述べられた脂質二分子膜安定化剤は安定なリポソームの形成に有用であり、第6章で述べられたpH感受性リポソームはセンシング、DDS、および反応制御への応用が期待される。さらに、リポソームは脂溶性物質を膜中に保持できることから、水中からの化合物の濃縮、回収が可能であり、大気中の汚染物質等の回収に利用できる。ペプチドリポソームは、その膜表面がペプチドで覆われており水素結合を利用した有機化合物の取り込みが期待でき、pH感受性リポソームは塩基性域でミセルに転移することから濃縮された化合物の容易な回収に有用と考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 戸 倉 清 一
副 査 教 授 西 則 雄
副 査 教 授 下 村 政 嗣 (電子科学研究所)
副 査 助 教 授 覚 知 豊 次
副 査 助 教 授 坂 入 信 夫

学 位 論 文 題 名

Studies on Functionalized Liposomes

(機能性リポソームに関する研究)

生体内では、様々な分子が高度に組織化されて、生命活動に必要な機能を発現している。近年、高機能性素材として生体組織を模倣した高度に組織化された材料の開発が始められ、中でも自己組織性を示す分子が注目されている。その中で、脂質からなる分子集合体は有力な候補材料の一つであり、脂質二分子膜からなるリポソームは水溶性物質を内水層に、脂溶性物質をその膜中に保持できるナノカプセルとして興味深い。一方、新規素材の開発においても地球環境保全は重要な課題であり、生分解性を有する素材開発や環境保全を考慮したシステムの構築が注目されている。本申請者は、高機能性素材の一つとしてこのリポソームに着目し、その機能化について検討した。

第1章では、種々の両親媒性アミノ酸エステル類を合成し、気液界面における単分子膜中での自己縮合に関して検討し、まず、縮合速度は活性エステル基の脱離性に依存することを明らかとした。中でもフェニルエステル誘導体を用いることにより、縮合反応が迅速に達成されることを明らかとした。この自己縮合によるペプチド薄膜の形成を、走査型電子顕微鏡により形態変化として確認した。

第2章では、光学活性体とラセミ体のセリンフェニルエステルの誘導体を各々合成し、単分子膜中での自己縮合に対するキラリティーの影響について調べ、光学活性体はラセミ体と比較して緻密な膜を形成しているが、縮合速度では両者に大きな差はなかったことを見出している。また、走査型電子顕微鏡による観察の結果からも、光学活性体の方が均一なペプチド薄膜を与えることから、モノマー分子のキラリティーは分子のパッキングに影響し、得られる薄膜の形態に変化を与えることを見出している。

第3章では、前章での単分子膜における知見を基にして、トリペプチドプロパルギルエステルを親水部に持つ新規なグリセロリン脂質を合成し、ペプチド脂質の脂質二分子膜中で自己縮合によりペプチドリポソームを調製する条件について検討した。その結果、

分子配列場を利用した自己縮合によるペプチド薄膜形成法は、既存の縮合剤を用いる手法と比較して、副反応や副生成物が少なく有用であることを明らかにした。

第4章では、古細菌類の膜構成脂質のモデルである、二つの飽和イソプレノイド疎水鎖を持つジフィタノイルホスファチジルコリンを調製し、その膜物性を検討した。その結果、ジフィタノイルホスファチジルコリンの単分子膜は非常に大きな膜占有面積を示し、その脂質二分子膜は物質透過に対して非常に高いバリアー能と熱安定性を持つことを示した。これにより、古細菌類の細胞膜の安定性は、その特異な構造を持つ疎水鎖に由来することを示唆するに至った。

第5章では、脂質二分子膜安定化剤として飽和イソプレノイド疎水鎖を取り上げ、二つの飽和イソプレノイド疎水鎖を持つジフィタニルホスフェートを合成し、ジパルミトイルホスファチジルコリンと本研究で合成したホスフェートからなるリポソームを調製し、安定性について調べた。その結果、得られたリポソームは物質透過に際し高い熱安定性を示し、飽和イソプレノイド疎水鎖を導入したジアルキルホスフェートが、予想通り脂質二分子膜安定化剤として機能することを明らかにした。

第6章では、pH感受性リポソームへの飽和イソプレノイド疎水鎖を持つトリガー分子の応用を考え、一つの飽和イソプレノイド疎水鎖を持つモノフィタニルホスフェートを合成し、これをトリガー分子としてジパルミトイルホスファチジルコリンからなるリポソームの脂質二分子膜に導入して、そのpH感受性を調べた。その結果、得られたリポソームは塩基性域においてベシクルからミセルへの素早い転移により、内包物を瞬時に放出することを見出した。このpH感受性は用いるホスファチジルコリンにより異なり、脂質二分子膜中におけるトリガー分子とホスファチジルコリンの相溶性により、リポソームの感受性を制御できることを明らかにした。

第3章で述べられたペプチドリポソームは、規則正しいくり返し構造を持つ上に生分解性にも富む高分子ナノカプセル性能を持つので、様々な分野での利用が期待できる。また、第5章で述べられた脂質二分子膜安定化剤は、安定なリポソームの形成に有用であり、さらに第6章で述べられたpH感受性リポソームは、センシング、DDS、および反応制御への応用が期待される。加えて、リポソームは脂溶性物質を膜中に保持できることから、水中からの化合物の濃縮、回収が可能であり、大気中の汚染物質等の回収に利用できると考えられる。ペプチドリポソームは、その膜表面がペプチドで覆われており水素結合を利用した有機化合物の取り込みが期待でき、pH感受性リポソームは塩基性域でミセルに転移することから、自然条件下では希薄状態にある有機化合物は濃縮回収に有用であると考えられる。

この様に申請者は、これまで定義されてきたリポソームをさらに機能化して、過激な条件下でも機能を保持できるように設計し直した点が注目し値する。

よって、審査員一同は北海道大学博士（地球環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。