

## 論文の内容の要旨

論文題目      Fabrication of self-oscillating vesicles and colloidosomes undergoing autonomous structural changes  
(自律的な構造変化を示す自励振動ベシクルおよびコロイドソームの創製)

氏 名          玉手 亮多

生体の持つ秩序構造とその機能発現は、生物学のみならず物理学や化学の観点からも大きな関心を集めている。材料工学においても、生体の秩序構造及びその機能に着想を得て新規材料開発に応用する「バイオインスパイアード材料」が盛んに研究されている。しかし生体の秩序構造を模倣した超撥水材料や構造色材料などの構造材料に比べ、生体の動的な機能に着目した材料研究は未だ発展していない。

特に生体の示す動的機能の中で特徴的な挙動として、自律的・周期的な挙動—心臓の拍動や呼吸、概日リズム—が挙げられる。ミクروسケールにおいても、細胞膜や核膜などの生体膜は常にダイナミックに振る舞い、しばしば形状や構造を周期的に変化させる。例えば、遺伝子情報を保護する核膜は有糸分裂の過程において膜構造の崩壊と形成を繰り返している。また細胞膜は細胞質分裂や細胞遊走、形態形成などの発生の過程でしばしば周期的な形状変形を発現することが明らかになっている。

このような生体の示す自律的かつ周期的な運動挙動に着想を得たバイオインスパイアード材料として、吉田らによって設計された「自励振動ゲル」がある。自励振動ゲルは温度応答性ゲルに、化学振動反応である Belousov-Zhabotinsky(BZ)反応を触媒する  $\text{Ru}(\text{bpy})_3$  錯体を共重合した化学構造を持つ。自励振動ゲルを触媒フリーのBZ基質水溶液に浸漬させると、ポリマーネットワーク内に組み込まれた  $\text{Ru}(\text{bpy})_3$  がBZ反応を触媒することで、ゲル内部でBZ反応が生起され  $\text{Ru}(\text{bpy})_3$  の周期的な価数変化が起こる。共重合さ

れたRu(bpy)<sub>3</sub>の価数変化に伴ってポリマーネットワークの親・疎水性が変化し、体積相転移温度が変化する。この結果、外部刺激なしに自律的なゲルの膨潤収縮運動が発現する。これまでに、このコンセプトを応用した自律駆動型ソフトアクチュエータ、物質輸送表面、機能性流体などが報告されている。

しかしながら、細胞膜に代表される生体膜はゲルや高分子の膨潤・収縮や水和・脱水のような単純な振動とは異なり、膜の構造変化を伴う複雑な振動挙動を示す。近年は合成分子を用いて細胞の構造・機能を再現する人工細胞モデル研究が盛んに行われているが、このような生体膜の動的挙動を模したモデルはほとんど存在しない。本研究では自励振動ゲルのコンセプトを更に発展させることで、生体細胞の示す複雑かつ周期的な構造・形状変形を人工的に再構築した自励振動ベシクル、及び自励振動コロイドソームの創製を行った。

以下に本論文の各章の概要を示す。

まず第一章では、バイオインスパイアード材料に関して概説した。特に生物の自律性を持ったリズム現象に着想を得た自励振動ゲルの設計・メカニズムに関して説明し、近年の自励振動ゲル材料の展開に関するものも述べた。更に細胞の機能を模倣もしくは再構築するという人工細胞モデルの研究に関するものも概説し、これまでの人工細胞モデル研究で達成されていない生体細胞の重要な動的機能として自律的・周期的な膜の構造変化があることを述べた。最後に本研究の目的、及び各章の構成について説明した。

第二章では、核膜やシナプス小胞などが示す周期的なベシクル構造の形成・崩壊サイクルを人工的に模倣した自励振動ベシクルに関する研究について述べた。まず可逆的付加開裂連鎖移動(RAFT)重合により自励振動ジブロック共重合体を合成した。TEM観察及び蛍光顕微鏡観察から、ブロック共重合体の親・疎水部の割合を制御することで自己集合構造としてベシクル構造が形成されることを示した。

次にRu(bpy)<sub>3</sub>の酸化・還元状態における流体力学的半径( $R_h$ )の温度依存性を動的散乱(DLS)測定により調べた。このとき単分子溶解(ユニマー)からベシクル構造への相転移温度は酸化還元状態に依存して異なることが分かった。このため還元状態では平衡構造としてベシクル構造を形成し、酸化状態ではユニマーとなる温度(双安定温度)が存在する。双安定温度におけるBZ反応中の散乱光強度及び $R_h$ の時間発展を時分解DLS測定により解析した結果、BZ反応に協調して周期的な散乱光強度及び $R_h$ の振動が起こることが明らかになった。更に光学顕微鏡を用いたベシクル構造の形成・崩壊振動の実空間観察に成功した。このときベシクル形成過程においては、細胞膜で起こる生物学的プロセスと同様にベシクル同士の融合によるサイズ成長が発生していることが確認された。

第三章では細胞膜に見られるような膜形状の自発的な振動現象を模倣した、自律的に拍動する架橋ベシクル構造を創製した。まずRAFT重合により温度応答性部位にアミノ基を有するジブロック共重合体を合成した。次に活性エステル化されたRu(bpy)<sub>3</sub>及びメタクリル酸を高分子鎖中のアミノ基と反応させ、温度応答性部位の側鎖にRu(bpy)<sub>3</sub>と二重結合部位を有する自励振動ジブロック共重合体を合成した。光開始剤と共にジブロック共重合体を水溶させ、凝集温度以上にすることでベシクル構造を形成し、この状態でUV照射を行うことで二重結合部位の化学結合により架橋ベシクル構造を創製した。得られた架橋ベシクルは、低温でベシクルが崩壊することなく膨潤し、高温で逆に収縮した。またRu(bpy)<sub>3</sub>が還元状態の場合、酸化状態の場合に比べてより低温で収縮することが明らかとなった。

最後に架橋ベシクルをBZ基質に浸漬し光学顕微鏡により振動挙動を観察したところ、BZ反応に伴う周期的なベシクル構造の体積振動が生起された。画像解析から、架橋ベシクルの体積振動を射影面積の時間発展として定量化した。またいくつかの架橋ベシクルは単純な体積振動ではなく、膜の座屈を伴う形状振動、即ち非座屈状態と座屈状態を周期的に繰り返す振動挙動を示した。この挙動は膜の水和に伴う座屈不安定性に起因すると考えられる。形状振動はベシクルの射影面積と周囲長から求まる真円度の時間発展として定量化された。これは細胞の様な自律的な形状変形を行うベシクル構造の初めての報告である。

第四章では自励振動ジブロック共重合体に関するより系統的な検討を行った。まず自励振動ジブロック共重合体を合成するために用いられる二つの手法、即ち直接重合法(DP法)と後修飾法(PM法)に関して、重合手法が高分子のモノマー分布に与える影響を精査した。その結果、DP法に対しPM法によって得られたジブロック共重合体はRu(bpy)<sub>3</sub>が均一に自励振動セグメント内に分布していることが分かった。更に酸化状態と還元状態における下限臨界ミセル形成温度の差( $\Delta T_m$ )とRu(bpy)<sub>3</sub>の導入量の関係を精査したところ、Ru(bpy)<sub>3</sub>導入量が多い程 $\Delta T_m$ は大きくなった。このとき同じRu(bpy)<sub>3</sub>導入量でも、PM法で合成したジブロック共重合体はDM法で合成したものに比べ大きい $\Delta T_m$ を示した。これはDM法によって合成した場合Ru(bpy)<sub>3</sub>が不均一に高分子鎖中に存在するため、「隣接基効果」によってRu(bpy)<sub>3</sub>が酸化されにくくなるためと示唆された。

次にPM法を用いて鎖長の異なる自励振動ジブロック共重合体を合成し、高分子組成や高分子濃度、温度などの条件が平衡状態でのベシクルサイズ、及びBZ反応中の振幅や周期などの振動パラメータに与える影響を系統的に検討した。

第五章では細胞のような複雑な形状振動を起こす人工細胞モデルとして、マイクロゲルを構成要素とした時空間中空微粒子、即ち自励振動コロイドソームを創製した。まずアミノ基を含有する温度応答性マイクロゲルを安定化剤としてエマルジョンを形成し、

水相に架橋剤となる高分子を溶解しておくことでマイクロゲル間を架橋した。次に活性エステル化Ru(bpy)<sub>3</sub>とマイクロゲル中のアミノ残基を反応させて、Ru(bpy)<sub>3</sub>が修飾されたコロイドソームを合成した。このコロイドソームは第三章の架橋ベシクル構造と同様、酸化還元状態に依存して異なる膨潤収縮挙動を示した。またステップ的な温度低下に伴う膜の座屈現象も観察された。

BZ反応中の振動挙動を解析したところ、従来の体積振動と、膜の座屈を伴う形状振動という2種類の振動挙動が観察された。このとき形状振動においては、振動プロファイルは正弦波的ではない複雑な波形を示した。これは第三章で述べた架橋ベシクルの形状振動が座屈状態と非座屈状態の2状態間での振動であったことと異なる。この理由としてコロイドソームが多孔性であるため水の透過性が高く、座屈状態から非座屈の膨潤状態への速い緩和が起こるためと推察される。更に統計的な検討から直径が大きいほど形状振動の割合が増えることが分かった。弾性論による考察より、中空球殻は直径が大きいほど伸張エネルギーに対して曲げエネルギーが相対的に小さくなる。そのため膜の伸張に伴う座屈変形が起こり易くなると考えられる。また直径の大きいコロイドソームは多点での座屈や座屈点の移動を伴うより複雑な形状振動を示した。繊維芽細胞の形状振動に関する実験でも細胞の直径が大きいほど複雑な振動挙動を示すことが分かっており、生体細胞とのアナロジーとしても非常に興味深い結果である。

第六章は総括であり、本論文のまとめと今後の展開に関して述べた。