



Preparation of Functional Microparticles and Microcapsules by Layer-by-layer Adsorption of Polyelectrolytes

Fujii, Akihiro

(Degree)

博士 (工学)

(Date of Degree)

2011-03-25

(Date of Publication)

2011-10-17

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲5245

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1005245>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏 名 藤井 昭宏
博士の専攻分野の名称 博士（工学）
学 位 記 番 号 博い第 5245 号
学位授与の要件 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位授与の日付 平成 23 年 3 月 25 日

【 学位論文題目 】

Preparation of Functional Microparticles and Microcapsules by Layer-by-layer Adsorption of Polyelectrolytes（高分子電解質の交互吸着法を用いた機能性微粒子の作製）

審 査 委 員

主 査 教 授 松山 秀人
教 授 西山 覚
教 授 森 敦紀
准教授 丸山 達生

氏名	藤井昭宏		
論文題目	Preparation of Functional Microparticles and Microcapsules by Layer-by-layer Adsorption of Polyelectrolytes (高分子電解質の交互吸着法を用いた機能性微粒子の作製)		
審査委員	区分	職名	氏名
	主査	教授	松山秀人
	副査	教授	西山覚
	副査	教授	森敦紀
	副査	准教授	丸山達生
HJ			
要 旨			
<p>カプセル化、センサ、触媒等の応用を目指して、マイクロ・ナノスケールの微粒子の研究が最近関心を集めている。特に、薬物送達キャリアといった生体内で微粒子を利用する場合、微粒子には高い生体適合性を持つことが必須であり、用途に応じ生分解性といった特性が必要になる。これまでに、リン脂質二重層からなるリボソームをはじめとした自己集合によって形成されたカプセルや、様々な化学的重合法、物理化学的手法により種々のポリマー微粒子が作製されてきた。近年では、layer-by-layer法による高分子電解質からなる中空カプセルが注目されている。</p> <p>Layer-by-layer (LbL) 法とは高分子電解質の多層膜を基板上に作製する方法であり、ポリカチオンとポリアニオンの水溶液に基板を交互に浸漬するという簡易な操作で薄膜が形成される。最大の利点は、高分子電解質の吸着回数により膜厚が制御できることであり、高分子電解質溶液のイオン強度や pH などの浸漬条件でも膜厚が調節できることが知られている。一般的に静電的相互作用を介して多層膜は形成されるが、疎水性相互作用、水素結合などを利用して高分子を逐次吸着させることができるため、多様な高分子を多層膜の構成成分として組み込むことが可能である。</p> <p>また3次元網目構造を有する高分子ハイドロゲルは、薬物送達キャリアやセンサとして注目されている材料である。特徴として、薬物の高保持能や刺激応答型の体積変化を有することが挙げられる。これらのゲル粒子に高分子電解質を交互吸着させることで、LbL多層膜のバリア能を付加したコアシェル型粒子が作製できると考えられ、高分子電解質多層膜で被覆したゲル粒子の作成例は数例しかなく、刺激応答性のゲル粒子に至っては、熱応答性ゲル粒子をコアに用いた1例のみである。このように高分子電解質被覆ゲル粒子の性質に関する知見は乏しいのが現状である。</p> <p>本研究では、これまで報告例のない pH 応答性ゲル微粒子を担体として用い、LbL法で高分子電解質を被覆することにより新規コアシェル型粒子を作製した。さらに、吸着させた高分子電解質の種類に応じた pH 応答性の変化について評価した。また、LbL法によりゲル微粒子を改質するのみでなく、LbL法をベースに単一成分の高分子からなる中空ゲル微粒子作製法の開発を検討した。LbL法は2成分の高分子を交互吸着させるため、時間のかかるプロセスであり、1成分でカプセルを作製することは困難である。このように本研究では、高分子電解質を用いて新規ハイドロゲルカプセルを作製し、得られた微粒子の性質に関する基礎的知見を得ることを目的とした。</p>			

氏名	藤井昭宏
<p>第1章は結論であり、本論文に関連する分野の背景と本研究の目的を述べた。</p> <p>第2章では、カルボキシル基を有するアニオン性ゲル粒子をコアに用い、LbL法によりポリカチオンとポリアニオンをコーティングすることで、高分子電解質被覆ゲル粒子を作製した。ゲル粒子の pH 応答性は高分子電解質の吸着により変化することが分かり、さらに、ポリカチオンの種類を変えることで pH 応答性の変化を評価した。その結果、被覆ゲル粒子の pH 応答性や形状は、吸着させたポリカチオンの分子量、分岐構造の有無の影響を大きく受けることが示された。</p> <p>第3章では、多孔性炭酸カルシウム微粒子を鋳型に用いた、単一成分からなる高分子カプセルの新規作製法を開発した。鋳型の炭酸カルシウム (CaCO₃) は、様々な高分子電解質、タンパク質を吸着できるうえ、キレート剤により比較的穏やかな条件で除去できるという利点を有する。本章では、生体適合性、生分解性を有しているものの、これまで報告例のない天然由来 DNA からなるマイクロカプセルを作製した。DNA カプセルの作製には、まず、DNA を CaCO₃ 微粒子に吸着させ、架橋剤を用いて吸着した DNA を化学的に架橋させた。その後、CaCO₃ 微粒子を溶解させることで中空の DNA ハイドロゲルカプセルが得られた。また、得られた DNA カプセルの酵素分解性、物質透過性の評価を行った。</p> <p>本研究で開発した新規カプセル作製法は、LbL法に比べ少ない高分子吸着回数でカプセルが作製できるという利点を有する。しかし、化学的架橋法では、CaCO₃ 粒子に吸着させた DNA の架橋に非常に時間がかかり、また、CaCO₃ 微粒子に予め吸着させておいた封入予定の薬物と架橋剤が反応してしまうおそれがある。こうした欠点を克服するため、第4章では、アビジン-ビオチン相互作用を利用したカプセル作製法を開発した。本方法では、ビオチン処理した DNA を CaCO₃ 微粒子に吸着させ、アビジンの一種である NeutrAvidin を架橋剤として添加した。その結果、架橋反応時間を大幅に短縮して DNA カプセルを作製することに成功した。</p> <p>第5章は結論であり、本論文の総まとめを行った。</p> <p>以上本研究では、アニオン性ゲル粒子をコアに用い、LbL法によりポリカチオンとポリアニオンをコーティングすることで、高分子電解質被覆ゲル粒子を作製し、ゲル粒子の pH 応答性について詳細な検討を加えた。さらに、多孔性炭酸カルシウム微粒子を鋳型に用いた、DNA カプセルの新規作製法を開発した。まず化学的架橋法により作製した DNA マイクロカプセルについて、その酵素分解性および物質透過性を詳細に検討した。次にアビジン-ビオチン相互作用を利用した DNA カプセル作製法の開発に成功した。このように本研究は、高分子電解質被覆ゲル粒子および DNA マイクロカプセルの開発について研究したものであり、実用的な面および基礎的な面から機能化マイクロカプセルの作製について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、学位申請者の藤井昭宏は、博士(工学)の学位を得る資格があると認める。</p>	

マイクロ・ナノスケールの微粒子はカプセル化、センサ、触媒等の応用を目指して盛んに研究が行われている。特に、薬物送達キャリアといった薬物を内包した微粒子を生体内で利用する場合、微粒子は高い生体適合性を持つことが必須であり、用途に応じ生分解性といった特性が必要になる。これまでに、リン脂質二重層からなるリポソームをはじめとした自己集合によって形成されたカプセルや、様々な化学的重合法、物理化学的手法により種々のポリマー微粒子が作製されてきた。近年では、layer-by-layer 法による高分子電解質からなる中空カプセルが注目されている。

Layer-by-layer (LbL) 法とは 1990 年代に Decher らが開発した、高分子電解質の多層膜を基板上に作製する方法であり、ポリカチオンとポリアニオンの水溶液に基板を交互に浸漬するという簡易な操作でナノメートルオーダーの薄膜が形成される。最大の利点は、電荷を有した種々の物質に応用可能なため、生体材料を含む多岐にわたる高分子により多層膜を作製できることである。また、高分子電解質の吸着回数により膜厚が容易に制御でき、高分子電解質溶液のイオン強度や pH などの浸漬条件でも膜厚が調節可能なことが知られている。一般的に静電的相互作用を介して多層膜は形成されるが、共有結合、疎水性相互作用、水素結合などを利用した高分子の逐次吸着が報告されており、一層多様な高分子を多層膜の構成成分の対象として組み込むことができる。LbL 法により作製された多層膜は透過抑制能や溶質分離能を有しており、水処理膜や浸透気化膜といった分離膜としての応用が期待されている。

高分子電解質と相互作用を有する物であれば、基盤の形状には制限が無く、コロイド粒子を支持体として用いることも可能である。従って、適当な微粒子の表面に LbL 法で高分子多層膜を形成させたのち、適切な溶媒で微粒子を溶解すれば、高分子多層膜からなる中空マイクロカプセルが作製できる。カプセルの大きさは、鑄型である微粒子の粒径により調節できる。この手法により、生体由来高分子をカプセルのシェルに用いることができ、酵素活性を有したタンパク質カプセルの作製例が報告されている。

一方、水中で膨潤し 3 次元網目構造を有する高分子ハイドロゲルも、薬物送達キャリアやセンサとして注目されている材料である。特徴として、薬物の高保持能や刺激応答型の体積変化を有することが挙げられる。これらのゲル粒子に高分子電解質を交互吸着させることで、LbL 多層膜のバリア能を付加したコアシェル型粒子が作製できると考えられる。著者の知る限りでは、高分子電解質多層膜で被覆したゲル粒子の作成例は数例しかなく、刺激応答性のゲル粒子に至っては、Wong らが poly(*N*-isopropylacrylamide) 熱応答性ゲル粒子をコアに用いた 1 例のみである。このように高分子電解質被覆ゲル粒子の性質に関する知見は乏しいのが現状である。

本研究では、これまで報告例のない pH 応答性ゲル微粒子を担体として用い、LbL 法で高分子電解質を被覆することで新規コアシェル型粒子を作製した。さらに、吸着させた高

分子電解質の種類に応じた pH 応答性の変化について評価した。生体内で利用できる pH 変化として、リソソームなどの酸性環境が知られており、pH 応答性粒子は刺激応答性放出型の薬物キャリアとして利用できると考えられる。

また、LbL 法によりゲル微粒子を改質するのみでなく、LbL 法をベースに単一成分の高分子からなる中空ゲル微粒子作製法の開発を検討した。LbL 法は 2 成分の高分子を交互吸着させるため、時間のかかるプロセスであり、生分解性や親水性といった 1 成分のみの特性を生かしたカプセルの作製は困難である。本研究の新規カプセル作製法は、多孔性の鑄型内部に単一成分の高分子を浸透させたのち、架橋処理によりシェルが形成されるので、LbL 法に比べ工程数を減らすことができる。

このように本研究では、高分子電解質を用いて新規ハイドロゲルカプセルを作製し、得られた微粒子の性質に関する基礎的知見を得ることを目的とした。

本論文は以下の 5 章により構成される。

第 1 章 General Introduction

本研究の背景と、関連するこれまでの研究内容について示し、本研究の目的を述べた。

第 2 章 pH-responsive Behavior of Hydrogel Microspheres Altered by Layer-by-layer Assembly of Polyelectrolytes

カルボキシル基を有するアニオン性ゲル粒子をコアに用い、LbL 法によりポリカチオンとポリアニオンをコーティングすることで、高分子電解質被覆ゲル粒子を作製した。ゲル粒子の pH 応答性は高分子電解質の吸着により変化することが分かり、さらに、ポリカチオンの種類を変えることで pH 応答性の変化を評価した。その結果、被覆ゲル粒子の pH 応答性や形状は、吸着させたポリカチオンの分子量、分岐構造の有無の影響を大きく受けることが示された。

第 3 章 Cross-linked DNA capsules templated on porous calcium carbonate microparticles

多孔性炭酸カルシウム微粒子を鑄型に用いた、単一成分からなる高分子カプセルの新規作製法を開発した。鑄型の炭酸カルシウム (CaCO_3) は、様々な高分子電解質、タンパク質を吸着できるうえ、キレート剤により比較的穏やかな条件で除去できるという利点を有する。本章では、生体適合性、生分解性を有しているものの、これまで報告例のない天然由来 DNA からなるマイクロカプセルを作製した。DNA カプセルの作製には、まず、DNA を CaCO_3 微粒子に吸着させ、架橋剤を用いて吸着した DNA を化学的に架橋させた。その後、 CaCO_3 微粒子を溶解させることで中空の DNA ハイドロゲルカプセルが得られた。また、得られた DNA カプセルの酵素分解性、物質透過性の評価を行った。

(氏名：藤井 昭宏 NO. 3)

第 4 章 Preparation DNA hydrogel capsules cross-linked through NeutrAvidin–biotin interaction

本研究で開発した新規カプセル作製法は, LbL 法に比べ少ない高分子吸着回数でカプセルが作製できるという利点を有する. しかし, 化学的架橋法では, CaCO_3 粒子に吸着させた DNA の架橋に非常に時間がかかり, また, CaCO_3 微粒子に予め吸着させておいた封入予定の薬物と架橋剤が反応してしまうおそれがある. こうした欠点を克服するため, アビジン-ビオチン相互作用を利用したカプセル作製法を開発した. 本方法では, ビオチン処理した DNA を CaCO_3 微粒子に吸着させ, アビジンの一種である NeutrAvidin を架橋剤として添加した. その結果, 架橋反応時間を大幅に短縮して DNA カプセルを作製することに成功した.

第 5 章 General Conclusion

最後に本章にて, 本研究の結論を総括した.