

氏名(本籍)	どいりょう	土井良(広島県)
学位の種類	博	士(生物工学)
学位記番号	博	甲第5750号
学位授与年月日	平成	23年3月25日
学位授与の要件	学位規則	第4条第1項該当
審査研究科	生命環境	科学研究科
学位論文題目	Study on the Water Dispersibility of a 1:1 Stoichiometric Complex between a Cationic Nanogel and Linear Polyaniion (1:1の化学量論性を有するカチオン性ナノゲルと鎖状ポリアニオン間複合体の水分散性に関する研究)	
主査	筑波大学	教授 工学博士 國府田悦男
副査	筑波大学	教授 農学博士 佐藤誠吾
副査	筑波大学	准教授 博士(工学) 市川創作
副査	筑波大学	教授 工学博士 王碧昭

論文の内容の要旨

近年、Gene Therapy や Drug Delivery System などへの応用を意識して、正負電荷の比で1:1の化学量論性を維持し、かつ水に溶ける高分子電解質複合体の研究に注目が集まっている。このことを考慮して、本研究では、1:1の化学量論性を有する高分子電解質ナノゲル複合体(SPENC)についての知見を得ることを目的とした。その為に、redox重合を用い、1-ビニルイミダゾールとN-イソプロピルアクリルアミドからなるコポリマーの架橋体であるカチオン性ナノゲル(CPENG)を合成した。SPENCは、CPENGと電荷比基準で等モルのポリビニル硫酸カリウム(KPVS)を、塩無添加の水分散媒(pH 3、25℃)中で混合することによって調製した。具体的には、電位差滴定によりCPENGの電荷数を正確に決定し、KPVS/CPENG比を慎重に変化させながらSPENCを調製した。得られたSPENCは、正確に1:1の化学量論性を維持し、流体力学半径(R_h)は85 nm、重量平均分子量は 1.55×10^7 g/molであった。次に、このSPENCの水分散性の本質を探るために、pHを変化させながら、コロイド特性を動的光散乱(DLS)、静的光散乱(SLS)、電気泳動光散乱(ELS)を組み合わせて調べた。その結果、複合体ナノ粒子は、その構成成分であるCPENGの正電荷の減少に伴い、凝集し、更には相分離することが明らかとなった。凝集はCPENGの正電荷が、約25% (pH ≈ 4.9)失われたときに、相分離は約50% (pH ≈ 5.5)失われたときに発生した。しかし、約90% (pH ≈ 6.6)の正電荷が失われると、相分離していた複合体は再分散することを認めた。コロイド滴定の結果から、SPENCが相分離を引き起こすまでは、KPVSの脱離は認められないことがわかった。一方、SPENCの再分散後には、脱離したKPVSが検出された。さらに、pH 9.0で再分散させたSPENCに、徐々に塩酸を加え、相分離を経由させてpH 3.0まで戻すと、KPVSとCPENGとで粒子内複合体が再形成された。この複合体の物理的性質は、初期SPENCの性質にほぼ一致した。これらの実験事実は、CPENGの荷電状態に応じて、SPENC粒子表面に静電的に結合したKPVSの一部(又は全部)が解離・会合(segmental dissociation-association)を行ない、平衡状態が成立していることを示唆している。そこで、このことを確認するため、CPENGをKPVSで滴定し、濁度および電気伝導度の測定を行った。対照試料としては、鎖状ポリカチオンのポリジアリルジメチルアン

モニウムクロライド (PDDA) 用い、同様の滴定を行った。これらの滴定結果は、電荷基準のモル混合比 (r_m) の関数として解析した。その結果、KPVS で CPENG (又は PDDA) を滴定すると、 $r_m = 1.0$ で濁度の急激な増加と、電気伝導度曲線の変曲が認められ、SPENC の形成が確認された。 $r_m \leq 1$ の領域で形成した複合体に対して DLS 測定を行ったところ、① KPVS/CPENG では R_h の減少が見られたが、② KPVS/PDDA では $r_m < 0.8$ において R_h は一定であった。これらの複合体形成過程は、それぞれ random モデルと all-or-none モデルで説明することができ、KPVS/PDDA は任意の r_m において水分散性の複合体粒子を形成することがわかる。この複合体形成は、対イオン (K^+ および Cl^-) の取り込みを伴い、その割合は r_m に関係なく、約 7% であった。他方、KPVS/CPENG では $r_m < 0.2$ において対イオンの完全放出が観察されたが、さらに KPVS を添加すると約 20% の対イオンを取り込み、複合体全体の電気的中性が保たれていると判断した。以上のことから、対イオンの取り込みこみが、SPENC の水分散性を理解する上での重要な鍵となることが明確となった。従って、高分子電解質ナノ架橋体は、反対符号の電荷を持つ鎖状高分子と、正負電荷比で 1:1 の化学量論性を維持するナノサイズの複合体を形成し、その水分散性は粒子表面に結合した高分子イオンのセグメント間で起こる解離・会合の平衡によると結論した。

審査の結果の要旨

反対符号の電荷を持つ高分子物質を水媒体中で混合すると、高分子の塩 (高分子電解質複合体: polyelectrolyte complex) が生成して、凝集が起こる事実を発表したのは、1941 年の Fuoss と Sadek の論文 (Science、110 巻、頁 552、1949 年) が最初と言われている。しかし、高分子電解質複合体を分子のレベルで調べようとする先導的研究は、1960 年代の中頃に、Michaels らにより開始された。その後、この分野は、多くの研究者・技術者の注目を集め、現在では塗料、接着剤などに利用される一方で、電解質薄膜製造技術としても使用されている。しかしながら、大部分の高分子電解質複合体が水不溶であるために、応用範囲が限定される。そこで、特に生物工学や医療材料への応用を目指し、水に溶ける高分子電解質複合体の合成 (調製) が注目されるようになった。その一例が、ポリアニオン又はポリカチオンの何れかを過剰にして、固定イオン間の化学量論比を 1:1 からずらす方法である。このようにして得られる複合体は「非化学量論的高分子電解質複合体」と呼ばれ、1980 年代後期から 1990 年代に渡り盛んに研究された。ただし、この種の複合体は、常に正・負何れかの過剰電荷を持ち、厳密な電気的中性が要求される医療材料などへの応用には不向きである。本論文の著者は、以上の背景を考慮して、今までに研究例が無い高分子電解質ナノ架橋体 (ナノゲル粒子) を用いた複合体形成に注目し、反対符号の電荷を持つ鎖状ポリイオンと、正負電荷比で 1:1 の化学量論性を維持する水溶性複合体の合成に成功した。更に、この複合体の水分散性を詳細に調べた。その結果、イオン性ナノ粒子表層に結合したポリイオンが、セグメント間で解離・会合を行なうことで、中性塩を含まない水媒体中でも高い分散性 (溶解性) を示すと結論した。さらに、これは、複合体形成時に放出される対イオンの一部が複合体ナノ粒子中に取り込まれ、電気的中性が維持されるためと判断した。以上の知見は、生物工学材料分野、特に Gene Therapy や Drug Delivery System で使用可能な高分子電解質複合体ナノ粒子の分子設計基準に重要な情報を与えるものとして、国際的にも高く評価されている。

よって、著者は博士 (生物工学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。