

奨励金No.1641

超分子ダイナミクスの制御とドラッグデリバリー応用

若林 里衣
九州大学 准教授

Modulation of supramolecular dynamics and drug delivery application

Rie Wakabayashi
Kyushu University, Associate Professor



自己組織化により形成される繊維状超分子は、環境に応じて柔軟に構造や機能を変化させる動的性質を示す。本研究では、繊維状超分子の動的性質が細胞への作用、細胞内移行性に与える影響を評価した。ペプチドと脂肪酸からなる両親媒性ペプチドの水素結合ユニットを一箇所改変することで分子間相互作用および形成される超分子の動的性質が変化し、動的性質の小さな超分子が細胞膜への親和性および細胞内移行性を示した。

Supramolecular fibrous materials formed by self-assembly exhibit dynamic properties, i.e., they can flexibly alter their structures and functions in response to the surrounding environment. In this study, we investigated how the dynamic properties of fibrous supramolecules influence their interaction with cells and subsequent intracellular translocation. Modifying a single hydrogen-bonding unit in a peptide amphiphile design altered the intermolecular interactions and the dynamic properties of the resulting supramolecules. It was demonstrated that supramolecules with lower dynamic properties exhibited a greater affinity for cell membranes and improved intracellular translocation.

1. 研究内容

1.1 研究目的

生体内には、細胞骨格タンパク質集合体や細胞外マトリクス等、細胞内やその周辺環境を構成する生体材料として繊維状の超分子構造体が多く存在し、細胞の多彩な機能を担っている。そのため、特に細胞外から細胞に作用する組織工学やドラッグデリバリー等への応用を志向した材料創製において、生体を模した繊維状材料が利用されている。本研究では、細胞が示す、周辺環境に応じて柔軟に構造や機能を変化させる動的性質に着目し、これと類似の性質を持つ繊維状超分子を創製し、細胞への作用を評価することで、細胞内に機能分子を送達するドラッグデリバリー応用に必要な材料設計に関する知見を得ることを目的とした（図 1）。

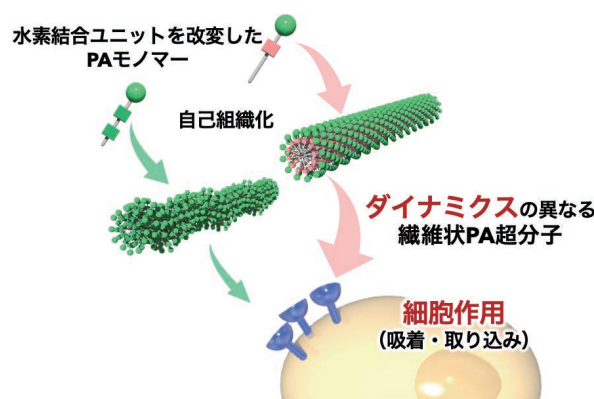


図 1. 本研究の概念図。水素結合ユニットを改変したPAからダイナミクスの異なる繊維状超分子を形成させ、細胞への作用を評価する。

1.2 研究内容

1.2.1 超分子の設計とモルフォロジー評価

生体模倣の繊維状超分子を形成する素材として、

両親媒性ペプチド（Peptide amphiphiles, PAs）に着目した。PA は親水性のペプチドと脂肪酸等の疎水性置換基からなる一連の分子群であり、水中で自己組織化し PA 超分子を形成する。PA 設計において、細胞との相互作用部位はペプチド部分により、相互作用部位の足場となる材料物性はペプチド及び疎水性置換基で制御可能である。本研究では、PA 超分子形成において比較的結晶性の高い部位である水素結合形成部位の改変により、PA 超分子の動的性質（ダイナミクス）を調整できるのではないかと着想し、これを分子設計に導入した。具体的には、ペプチドと脂肪酸からなる PA において、ペプチドと脂肪酸間をアミド結合（Am）でつないだ PA-A に対し、ウレア結合（U）に変更した PA-U、および脂肪酸からなる疎水性コアの内部にアミド結合を追加した PA-AA を設計した（図 2A）。

まず、電子顕微鏡観察により、PA 超分子のモルフロジーの評価を行った。脂肪酸のアルキル鎖長を変えた Cn-PA について、n=16 および 18 の PA について、PA-A、PA-U、PA-AA いずれの PA も繊維状構造体を形成することが確認された（図 2B）。

1.2.2 超分子の動的性質と細胞への作用評価

PA 超分子の動的性質の評価を行うため、蛍光色素（フルオレセイン）修飾 PA を 2 mol% 導入した PA 超分子について、光褪色後蛍光回復（Fluorescence recovery after photobleaching, FRAP）観察を行った。FRAP 法では、光褪色したエリアに超分子内あるいはモノマー分子が流入することにより蛍光が回復する。つまり、超分子内部の分子流動性や超分子とモノマー間の分子交換の大きさを比較することが可能である。C16 の PA 超分子に関する FRAP 観察の結果、C16U<C16A<C16AA の順に流動性が高い、すなわちダイナミクスが大きいことが示された（図 3A）。また、赤外分光法や蛍光スペクトル測定の結果、PA 超分子形成に伴う水素結合やアミノ酸側鎖間の相互作用について、C16AA<C16A<C16U の順に強く、PA 設計に導入した 1 箇所の水素結合ユニットの改変により、分子間相互作用および PA 超分子の動的性質を改変可能であることが示唆された。

PA 超分子を HeLa 細胞に作用させ、細胞内取り込みの評価を行った。3 時間作用後、フローサイトメトリにより一細胞あたりの平均蛍光強度を定量評価したところ、C16-U において最も蛍光強

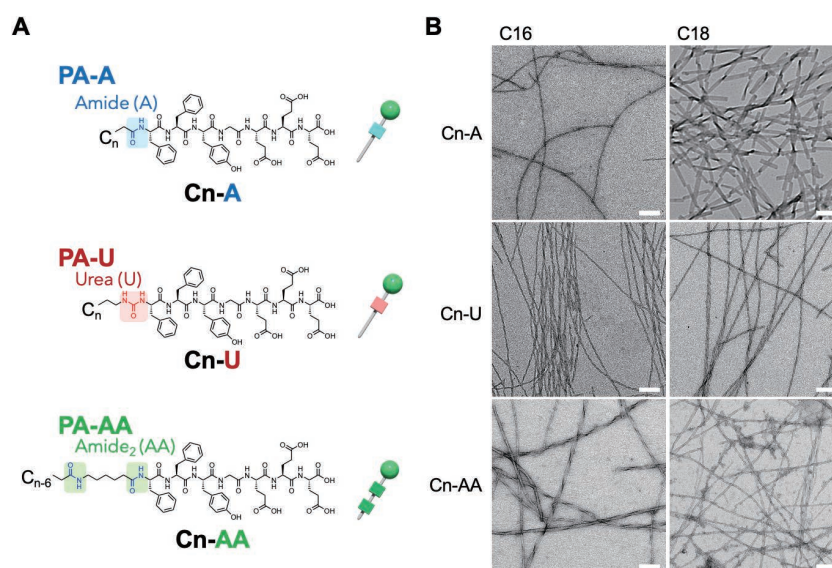


図 2. (A) PA の分子設計（n=12, 14, 16, 18）および (B) PA 超分子の電子顕微鏡画像（n=16, 18）。Bars: 200 nm。

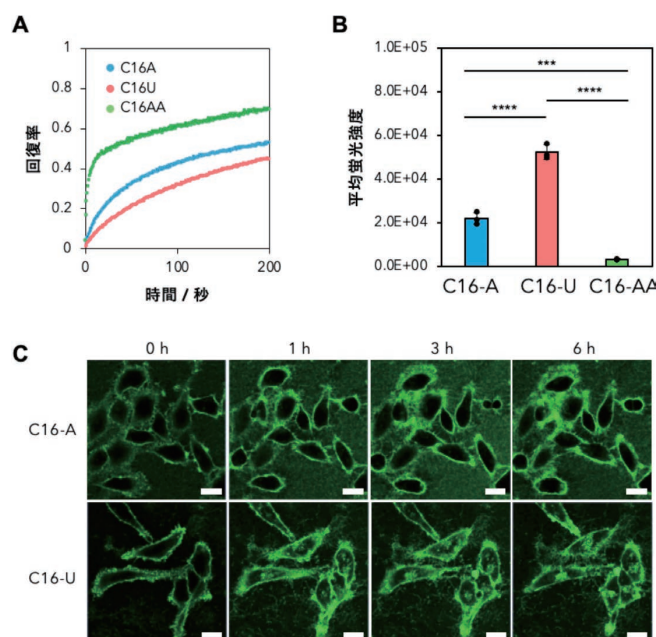


図 3. (A) PA 超分子の FRAP 観察結果、(B) HeLa 細胞への取り込み評価 ($n=3$, mean $\pm$ SD, *** $p < 0.01$, **** $p < 0.001$)、(c) C16-A および C16-U 超分子の細胞内局在の経時変化。Bars: 20 μm 。

度が高く、次いで C16-A、C16-AA となった（図 3B）。C16-AA に関しては、サンプル未添加群と同等程度の蛍光強度しか示さず、細胞に対する親和性が低いことが示唆された。共焦点レーザー顕微鏡観察により、PA 超分子の局在を観察したところ、C16-A については細胞膜上に局在し、C16-U については膜に局在の後、一部が細胞内に移行することが確認された（図 3C）。

1.2.3 超分子の膜への作用評価

前項で確認された、PA 超分子種による細胞内移行性の違いが何に由来するかを確認するため、人工脂質膜からなるリポソーム膜に PA 超分子を作作用させた。結果、PA-A、PA-U 超分子はリポソーム膜への親和性を示し、溶液中から膜へ局在したが、PA-AA は溶液中にとどまることが確認された（図 4）。また、秩序液体相と無秩序液体相からなる相分離リポソームにおいて、PA-A および PA-U が相選択性を示さず均一に膜上に局在することから、モノマーに解離した PA ではなく、超分子として膜への親和性を持つことが示唆された。この

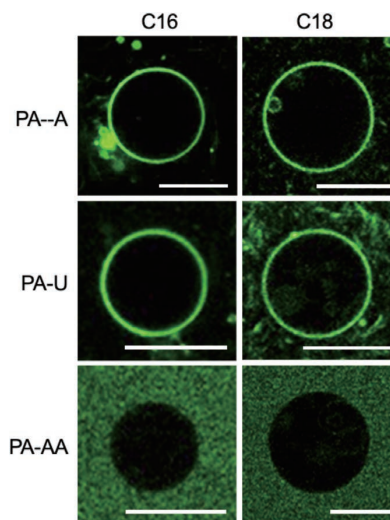


図 4. PA 超分子のリポソームへの作用。Bars: 10 μm 。

ことは、動的性質の小さな PA 超分子がリポソーム膜や細胞膜親和性を持つことと整合する。

1.3 まとめ

本研究では、繊維状超分子の動的性質が細胞への作用に与える影響について、PA が水中で形成する超分子を用いて評価した。PA 設計において、水素結合ユニットの 1 箇所を改変するだけで、分子

間相互作用および PA 超分子の動的性質が変化した。ダイナミクスの大きな PA 超分子と比較して、小さな PA 超分子が、細胞膜やリポソーム膜への親和性を示し、細胞内に移行することが確認された。細胞内あるいは細胞膜を標的としたドラッグデリバリーキャリア設計に活かせる知見であると期待する。

2. 発表（研究成果の発表）

学会誌における発表

Rie Wakabayashi, Yudai Fujiwara, Go Matsuba, Noriho Kamiya, Masahiro Goto
A Single Hydrogen Bond Unit Modulates the Dynamics and Cellular Interactions of Fibrous Materials Formed by Self-Assembled Peptide Amphiphiles, *Biomacromolecules*, 2026, 27, 4511–4522.

学会等における発表

若林里衣、藤原裕大、神谷典穂、後藤雅宏
ペプチド超分子の内部構造制御と細胞内への移行性
第 19 回バイオ関連化学シンポジウム（京都大学、2025 年）

（依頼講演）

若林里衣
生体膜と相互作用するペプチド集合体を用いたドラッグデリバリー
第 46 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム（滋賀県立文化産業交流会館、2025 年）

Rie Wakabayashi, Ingram Tan, Noriho Kamiya, Masahiro Goto
Co-assembled peptide-based supramolecular nanomaterials for biomolecular delivery and reaction
Pacifichem 2025 (Honolulu, 2025)