

京都大学教育研究振興財団助成事業
成 果 報 告 書

令和4年 4月 25日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会 長 藤 洋 作 様

所 属 部 局 工学研究科 材料化学専攻

職 名 特定助教

氏 名 藤田 聖矢

助 成 の 種 類	令和 3年度 ・ 研究活動推進助成			
申請時の科研費 研究 課 題 名	配位結合を駆動力とした新規ポリマーベシクルの創製			
上記以外で助成金 を 充 当 した 研 究 内 容	酵素の植物へのポリマーベシクルを用いた輸送			
助成金充当に関 わる共同研究者				
発表学会文献等				
成 果 の 概 要	研究内容・研究成果・今後の見通しなどについて、簡略に、A4版・和文で作成し、添付して下さい。(タイトルは「成果の概要／報告者名」)			
会 計 報 告	交付を受けた助成金額	1,000,000	円	
	使用した助成金額	1,000,000	円	
	返納すべき助成金額	0	円	
	助成金の使途内訳	費 目	金 額	
		消耗品費	788,250	
		備品費	209,000	
その他・修繕費		2,750		
当財団の助成に つ い て	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) この助成金のおかげで、令和4年度の科研費を採択されるにいたしました。感謝いたします。			

概要

ポリマーからなるカプセル状集合体(ポリマーベシクル)には分子量依存的な内包特性(半透性)を有しているものが存在し、生体内への酵素輸送キャリアとしての応用が期待されている。また、この半透性はポリマーの側鎖を化学的に架橋することで制御されてきた。しかし、化学的架橋法では、内部の酵素も架橋されてしまい活性が低下するといった問題点が存在した。そこで、本研究では共有結合によらない半透性の制御を目指して、配位結合によって形成する新規ポリマーベシクルの構築に取り組む。まず、ポリマーベシクルの構築、評価の方法の検討および植物への輸送方法の検討を行った。

研究成果

ペプチドからなるポリマーベシクルの集合挙動、タンパク質の内包挙動の評価方法および植物への輸送方法を検討した。まず、アニオン性のオリゴサルコシンを有するポリリジン合成した。これを無水コハク酸と反応させ、側鎖のカルボン酸化を行いアニオン性のポリリジン誘導体を合成した。これとポリリジンを混合することで、ポリマーベシクルを形成させた。粒径は動的光散乱(DLS)測定により評価した。その結果、100 nm 程度の粒径の集合体が形成することが分かった。また cross section 走査型電子顕微鏡(FE-SEM)観察より、内部の空洞を有する集合体が観察された。これらのことから、ベシクルの構築に成功した。モデルタンパク質としてリボヌクレアーゼ A(RNase)を用いて内包挙動を評価した。PICsome が構築する際に、ローダミン修飾された RNase を混合しておくことでベシクル内部へ RNase を内包させた。ベシクルに内包されなかったタンパク質を透析により除去を行った。これを用いて蛍光相関分光(FCS)法に内包挙動を評価したところ、RhB- RNase の拡散時間の増大が確認され、RhBRNase のポリマーベシクルへの内包が確認された。これらの結果から、酵素の PICsome への内包に成功したと考えられる。さらに、ベシクルを植物輸送にもちいるために、細胞膜透過性ペプチドで修飾した RNase 内包 PICsome を植物に導入した。その結果、植物内部から RhB- RNase の蛍光が確認され、植物にベシクルを送達する方法を確立したと考えられる。

今後の見通し

ベシクルの構築、モデル酵素の輸送方法を確立したため、今後農業的に役立つ酵素を輸送し、植物に様々な形質の付与を行う予定である。