

Title	温度応答性両性電解質高分子の液-液相分離の機序解明および応用
Author(s)	廣瀬, 智香
Citation	
Issue Date	2024-06
Type	Thesis or Dissertation
Text version	ETD
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10119/19334">http://hdl.handle.net/10119/19334</a>
Rights	
Description	Supervisor: 松村 和明, 先端科学技術研究科, 博士

氏名	廣瀬 智香		
学位の種類	博士 (マテリアルサイエンス)		
学位記番号	博材第 583 号		
学位授与年月日	令和 6 年 6 月 24 日		
論文題目	Mechanism of Liquid-Liquid Phase Separation of Temperature response Polyampholyte and Its Applications		
論文審査委員	松村 和明	北陸先端科学技術大学院大学	教授
	山口 政之	同	教授
	栗澤 元一	同	教授
	都 英次郎	同	准教授
	遊佐 真一	兵庫県立大学	准教授

### 論文の内容の要旨

Polyampholytes, a class of polyelectrolytes characterized by the presence of both anionic and cationic groups, demonstrate unique pH and temperature responsiveness through interactions the polymers and their surrounding solutions or among the polymers' own functional groups. Such responsiveness enables polyampholytes to undergo phase transitions, making them invaluable in diverse applications ranging from smart materials to biomedical engineering. Due to its high biocompatibility, it is being actively researched as an intelligent material suitable for biomaterials such as drug delivery systems (DDS). Understanding the mechanisms driving these stimulus-responsive phase transitions is crucial for the optimization of polyampholyte-based materials, as it informs the design and functionalization strategies that tailor their properties to specific applications. Furthermore, in recent years, attention has been focused on the behavior of liquid-liquid phase separation (LLPS) in living organisms such as organelles without membranes. This interest is driven by the role of LLPS in critical life processes, including metabolism, where it facilitates the compartmentalization of biochemical reactions without the need for physical barriers. Polyampholytes are also being studied as model compounds for proteins, offering insights into the molecular dynamics underlying phase separation biology.

In this study, I explore the synthesis and evaluation of ampholyte polymers that exhibit both liquid-liquid phase separation (LLPS) behavior and temperature responsiveness. We confirmed that by introducing a benzene ring into an ampholyte polymer that causes phase separation behavior due to electrostatic interactions, stable phase separation behavior can be induced even in salt solvents. Multi-scale measurements revealed that the benzene rings play a crucial role during droplet formation and growth stages likely due to the  $\pi$ - $\pi$  interaction, thereby stabilizing LLPS behavior. Leveraging the temperature responsiveness of these polymers, we designed a novel DDS carrier using a composite material with photothermal properties derived from liquid metal. This approach aimed to ensure a stable, self-sufficient supply of trigger stimuli, addressing a significant limitation of current DDS technologies. Cell-based experiments demonstrated the carrier's ability to concentrate drugs effectively, suggesting its potential to minimize side effects associated with drug

delivery. These findings not only contribute to our understanding of the fundamental principles governing LLPS in ampholyte polymers but also open new avenues for the development of safer, more efficient drug delivery technologies. Future research will focus on further characterizing the interaction mechanisms at play and exploring the clinical applicability of our novel DDS carrier.

Keywords: Polyampholytes, Liquid-Liquid phase separation, Drug delivery system, Temperature response polymers, Liquid metals, Biomaterials

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、アニオンとカチオンの両性の官能基を一分子中に持つ両性電解質高分子が示す温度応答性の液液相分離挙動について詳細に調べ、その挙動を用いた新たな温度応答性ドラッグデリバリーシステム (DDS) の創出を目指したものである。両性電解質高分子の中には、ポリマー中のイオン性官能基間の相互作用により、水溶液中でコアセルベートを形成し液液相分離を起こすものが報告されている。液液相分離は細胞内の微小環境における空間的制御機構として近年注目されている。これまで報告してきたカルボキシル基導入ポリリジンでは、液液相分離が起こるが、生理的塩濃度条件下では静電相互作用が遮蔽されてしまい、相分離が解除される問題があった。そこで、本研究では、カルボキシル基導入に用いる化合物を無水コハク酸から無水フタル酸に変更し、芳香環による疎水性相互作用を加えることで生理的条件下においても相分離挙動を保持することに成功した。この相分離挙動について、小角 X 線散乱、レーザー光学顕微鏡、動的光散乱などを用いて、詳細に調べた結果、芳香環による疎水性相互作用が液滴形成および成長段階で重要な役割を果たし液液相分離の挙動を安定化させることが明らかになった。この高分子溶液は、下限臨界溶液温度 (LCST) を持つ相分離挙動を示し、その相図から濃度依存的に臨界温度が大きく変化することを見いだした。

次に、この高分子溶液の温度応答性を利用して、液体金属由来の光熱特性を有する複合材料を形成することで新しい DDS キャリアを設計した。近赤外光吸収性の高いガリウム/インジウム系の液体金属にチオール化した両性電解質高分子をコーティングし、高分子溶液中に分散させナノ粒子化した。この際、抗がん剤であるドキソルビシン(Dox)を添加しておいた。近赤外光を照射することで液体金属が発熱し、その熱により高分子溶液が相分離し、下層に濃厚層が現れる。この時、Dox は下層の濃厚層に 1.5 倍以上濃縮されることを確認した。細胞を用いた実験では、近赤外刺激により濃縮された薬物ががん細胞に高い障害活性を付与できることを確認し、薬物送達に伴う副作用を最小限に抑える可能性が示唆された。

これらの知見は、両性電解質性高分子の液液相分離挙動を支配する基本原理の理解に貢献するだけでなく、より安全で効率的な薬物送達技術の開発に新たな道を開くものである。よって博士 (マテリアルサイエンス) の学位論文として十分価値あるものと認めた。