

リポソームの形状変化による膜透過性ペプチドの機能制御

(1. 東理大理工、2. 京大化研、3. 千葉科大薬) ○桑原悠¹・油井研一¹・酒井健一¹・酒井秀樹¹・阿部正彦¹・二木史朗²・大高泰靖³・山下裕司³・坂本一民³

1. 背景 膜透過ペプチド(PTD)と呼ばれる一連のペプチド群は、自由に細胞膜を透過できる非常にユニークな化合物であるため、新規薬物送達システムのキャリアとして注目されている。一方、これまで我々は細胞膜モデルとして巨大一枚膜リポソーム(GUV)を用いPTDの透過実験を行ってきた。その結果、GUV膜の曲率依存的に透過量が変化することが明らかとなり、PTDの膜透過には物理化学的な要素が寄与していることが示唆された[1]。この知見をもとに、本研究ではPTDの膜透過に及ぼすリポソームの粒子径の影響を検討することとした。

2. 実験 GUVは卵黄レシチン(EPC)またはステアロイルオレオイルグリセロホスホコリン(SOPC)を用い、凍結融解透析法を用いて調製した。他のサイズのリポソームはGUV調製後、整粒して用いた。PTDはアルギニンオリゴマー(R8)に蛍光プローブを修飾したFITC-R8を用いた。各リポソーム懸濁液を遠心分離、上澄み除去後、PBSとFITC-R8を添加、37℃で10分間静置した。遠心分離後、リポソーム中に含まれるPTD量を蛍光分光光度計を用いて定量した。

3. 結果・考察 これまでの報告ではGUVの膜曲率の増大に伴い、PTD透過量は増加した[1]。そこでリポソームの粒子径を減少、すなわち曲率を増大させることでPTD透過量が增大すると考え、検討を行った(Fig. 1)。その結果、予想に反してEPCリポソームの粒子径減少に伴い、PTD透過量は減少した。よって、PTDの膜透過には曲率以外の要因が寄与していることが考えられる。またSOPCリポソーム(GUV)の透過量と比較したところ、液晶相におけるPTD透過量はEPC(GUV)と良く一致した一方で、ゲル相におけるPTD透過量は約1000 nm以下のEPCリポソームのPTD透過量とほぼ同じであった。すなわち、粒子径の変化に伴い膜流動性が変化し、結果としてPTDの透過に寄与していることが示唆された。

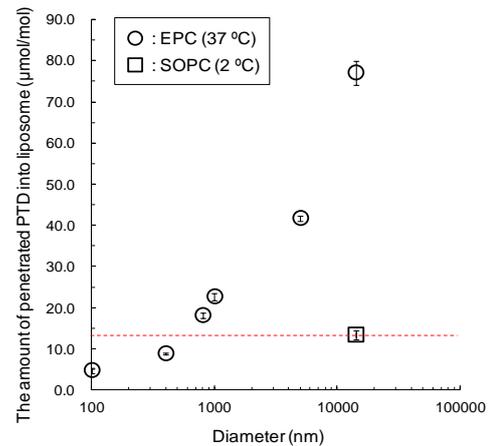


Fig.1 Effect of the liposomal diameter on penetration of PTD (14 mOsm, 10 min, L/P=850, n=3 ± SD).

参考文献 [1] K. Sakamoto et al., *Chem Lett.*, **41**, 1078-1080 (2012).

Functional Regulation of Protein Transduction Domains by Changing of the Liposomal Particle Size
H. KUWAHARA¹, K. ABURAI¹, K. SAKAI¹, H. SAKAI¹, M. ABE¹, S. FUTAKI², H. OHTAKA³, Y. YAMASHITA³, K. SAKAMOTO^{1,3}

(1. Tokyo Univ. Sci., 2. Kyoto Univ., 3. Chiba Inst. Sci., j7212634@ed.tus.ac.jp)

Protein transduction domains (PTD), which are water-soluble short peptides, are able to penetrate the biomembrane freely. In this study, we investigated effect of the liposomal diameter on the penetration of PTD. The amount of penetrated PTD was decreased according to decreasing the liposomal particle size. It is indicated that liposomal size is an important factor for PTD's penetration.