



細胞表面修飾を応用した リポソームの表層改質と操作制御

SATテクノロジー・ショーケース2022

■ はじめに

細胞外小胞の一種であるエクソソームは、細胞間相互 作用の媒体として幅広い生命現象に関わっている。近年、 間葉系幹細胞(MSC)が分泌するエクソソームが脳損傷部 位へ組織機能回復の効果があり、治療への応用が期待さ れているが、エクソソームを特定の部位へ運ぶことが困難 であり、特異的に疾患部位へ標的化することが求められる。 我々は、ポリエチレングリコール結合脂質(PEG脂質)によ る表面修飾を利用して、エクソソームの操作を検討してい る。本研究では、エクソソームのモデル材料としてリポソー ムを用いて、PEG鎖長と脂質のアシル鎖長がリポソームの 吸脱着に与える影響を調べ、吸着分離に適した材料合 成を目指した(Fig. 1)。 PEG-lipid derivatives capable of modifying the surface of lipid bilayers

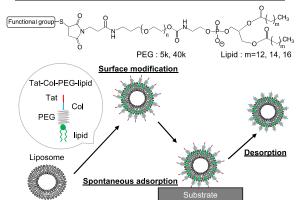


Fig. 1 Chemical structure of Tat-Col-PEG-lipid and surface modification of liposome for induction of adsorption and desorption.

■ 実験

膜透過性ペプチドとして2種類のオリゴペプチド(Tat: YGRKKRRQRRRGGGC、Tat-Col:YGRKKRRQRRRGG GGPPGVVGEQGEQGPPGGGC)をPEG脂質へ結合させ た。Tat-Colにはコラーゲナーゼ切断部位が挿入されてい る。ここでは、アシル鎖長が異なる3種類の脂質(ミリストイ ル(C14)、パルミトイル(C16)、ステアロイル(C18))を、ま た、PEG鎖長 5kDaと40kDaのPEG脂質をオリゴペプチド へ結合させた。それぞれ、PEG5kC14、 PEG5kC16、 PEG5kC18、あるいは、PEG40kC14、PEG40k C16、 PEG40kC18と表記する。 蛍光標識したリポソーム表面に PEG脂質を導入し、ガラス基板上に播種した。蛍光顕微鏡 観察による画像解析より蛍光強度を計測し、リポソーム吸

着量の評価を行なった。修飾したリポソームは、動的光散 乱法(DLS)によるサイズと表面電荷の解析を行なった。ま た、Tat-Col-PEG脂質を導入したリポソームを、ガラス基 板上に播種して吸着させた後、コラゲナーゼ溶液で処理 し、ペプチド部位を切断することで、リポソームの脱着挙動 を観察した(Y. Sato et al., Langmuir, 2021.)。

■ 結果と考察

Tat-PEG 脂質あるいは Tat-Col-PEG 脂質をリポソーム と混合して、基板表面の蛍光強度を調べた(Fig. 2)。PEG 鎖長 5kDa の場合では、Tat ペプチドによる基板へのリポ ソーム吸着が大きく認められた。また、脂質のアシル鎖長 は短いほど吸着量が増加することが分かった (PEG5kC14 > PEG5kC16 > PEG5kC18 in Fig. 2)。一方、 DLS 測定から脂質のアシル鎖長が短くなるにつれて、リポ ソーム表面電荷は正電荷側にシフトすることが分かり、カ チオン性の Tat ペプチド導入量に依存して、ガラス表面へ のリポソーム吸着が引き起こされたものと考えられた。また、 コラゲナーゼ処理により、吸着したリポソームの脱着を試 みたところ、基板上からのリポソームの脱着が見られた (Fig. 3)。脱着効率は、脂質のアシル鎖長が短い Tat-Col-PEG 脂質(C14)が最大であったが、脂質の流動 性がコラゲナーゼの反応性に影響していることが示唆され

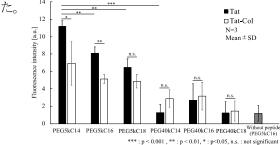


Fig. 2 Fluorescence intensity of liposome adsorbed on

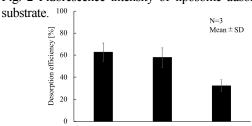


Fig. 3 Fluorescence intensity of liposome adsorbed on substrate before and after collagenase treatment.

代表発表者 佐藤 佑哉(さとう ゆうや)

所 東京大学大学院 工学系研究科

バイオエンジニアリング専攻

(国研)産業技術総合研究所

細胞分子工学研究部門

分子機能応用研究グループ

問合せ先 〒305-8565 茨城県つくば市東 1-1-1

> TEL:029-861-6373 FAX:029-861-6278

E-mail: y.teramura@aist.go.jp

■キーワード: (1)リポソーム

(2) DDS

(3)エクソソーム

■共同研究者: 寺村 裕治 ^{1, 2}

1產総研 細胞分子・2Uppsala Univ.

- 7 -