

機械的特性を利用したマイクロ流体デバイス内でのリポソームの配列手法とリポソーム膜間相互作用の評価

SATテクノロジー・ショーケース2025

■ はじめに

リポソームとは、袋状の脂質二分子膜のことを指し、近年、基礎化粧品やリポソーム製剤への応用が注目されている[1,2]。一方で、我々は、細胞サイズのリポソームを細胞モデルとみなし、神経伝達系を模倣した情報処理システム(ケミカルAI)の構築を目指し研究している[3]。ケミカルAIは化学的手法に基づく学習機能を備えたモデルであり、センサ(S)、プロセッサ(P)およびアクチュエータ(A)の役割を担う細胞サイズのリポソームが、特定順序で配列され接続されたSPAユニットで構成され、ネットワークを形成している。粒子の同時多数順序配列について、マイクロ流体デバイスを用いた2種類の液滴または細胞の配列手法が報告されている[4,5]。一方で、リポソームを使った報告例はなく、依然として異種のリポソームの高いペアリング効率を達成することが課題となっている。また、隣接して配列された異種のリポソームを接続し、シグナル分子の授受を行わせることも重要である。3個組リポソームの前段階として、本研究では、マイクロ流体デバイス(MFD)を用いて、特定順序の2個組リポソームを同時多数配列、およびリポソーム間の相互作用評価を目的とした。

■ 活動内容

1. リポソームの性状を利用した2個組リポソームの同時多数順序配列

開発されたマイクロ流体デバイス(図1(a))では160個の捕捉構造が配置されており、100個以上の細胞サイズの2個組のリポソームが捕捉された。比較的高流速条件下では負の電荷をもつリン脂質である1-ノルミトイル2-オレオイルsn-3-グリセロフォスフォグリセロールを含むリポソームAの方が、電的に中性のリン脂質である1-ノルミトイル2-オレオイルsn-3-グリセロフォスフォコリンのみの脂質組成で作製されたリポソームBよりも、下流側へ捕捉構造から抜けやすい様子が観察された。リポソームAおよびリポソームBをフローサイトメトリーによる前方散乱光および後方散乱光の強度、ならびにMFDによる膜張力測定を行った。その結果、リポソームBの方がリポソームAよりも単一サイズあたりの膜多重度が高く、見かけの膜張力もそれに伴い高くなったことが分かった。これを利用することにより、MFD内での特定順序の2個組リポソームABが全2個組リポソームの55~66%を占める、送液プロセスを開発した(図1(b))。

2. 隣接した配列されたリポソーム膜間のDNA鎖置換反応

MFD内に隣接して捕捉された2個のリポソーム膜間でのDNAの鎖置換反応について検討した。FAMと呼ばれる蛍光分子を持つコレステロール修飾一本鎖DNA(ss-1)、およびその蛍光を抑制し、ss-1のトーホールドを持つコレステロール修飾一本鎖DNA(ss-2)を担持されたリポソームLと、ss-2と完全に相補的な配列を持ったコレステロール修飾一本鎖DNA(ss-3)を持つリポソームRを作製した。Mg²⁺存在下で、リポソームLおよびリポソームRを種類ずつ送液し、隣接して配列させた結果、それらの膜上のFAMの蛍光強度が上昇した(図2)。このことから、MFD内で捕捉される2個のリポソームの表面の間で、一本鎖DNAの鎖置換反応を誘導できることが分かった。

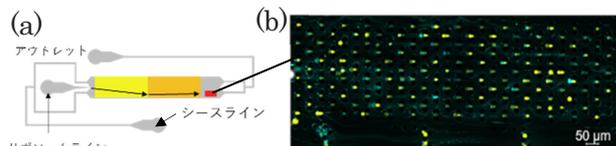


図1: MFDのデザイン図(a)と、順序配列後の細胞サイズの2個組リポソームのレーザー走査型共焦点蛍光顕微鏡像(b)。リポソームAおよびリポソームBはそれぞれATTO488-DOPE(ターコイズ)とATTO655-DOPE(黄色)で蛍光標識した。

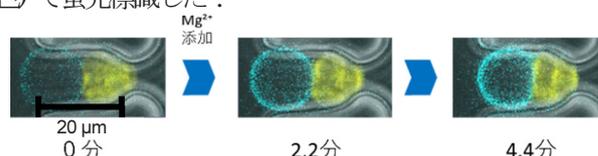


図2: Mg²⁺添加時のリポソームLおよびリポソームRによる2個組リポソームのレーザー走査型共焦点蛍光顕微鏡像。リポソームLおよびリポソームRはそれぞれss-1(ターコイズ)とATTO655-DOPE(黄色)で蛍光標識した。

■ 関連情報等(特許関係、施設)

- [1]Y. Jiang, et al. 2024. *Pharmaceutics*. 16, 34.
- [2]Y. Rahimpour and H.Hamishchkar.2012. *Expert Opin. Drug Deliv.* 9,4, 443-455.
- [3]S. Murata, et al. 2022. *Adv. Funct. Mater.* 32, 37, 2201866.
- [4]Bai et al., *Lab Chip*, 10, 1281-1285(2010).
- [5]Skelley et al., *Nat. Methods*, 6, 147-152 (2009).

代表発表者 小淵 晴仁(おぶち はると)
所属 東京大学大学院総合文化研究科
広域科学専攻関連基礎科学系
問合せ先 〒153-8902 東京都目黒区駒場 3-8-1
東京大学大学院総合文化研究科 16号館 604室
TEL: 03-5465-7634

■キーワード: (1)リポソーム
(2)マイクロ流体デバイス
(3)同時多数順序配列
(4)DNA鎖置換反応

■共同研究者: 章逸汀¹、安部桂太²、浜田省吾³、杉山博紀⁴、磯川悌次郎⁵、稲田晃大⁵、上杉薫⁶、村田智²、豊田太郎^{7,8}
(1)立教大学理学部、(2)東北大学大学院工学研究科、(3)東京科学大学情報理工学院、(4)東京大学工学系研究科、(5)兵庫県立大学大学院工学研究科、(6)茨城大学大学院 理工学研究科、(7)東京大学大学院、(8)東京大学生物普遍性連携研究機構