

リン脂質・ミセル型界面活性剤からなる 二成分系脂質膜の膜粘度評価

¹学習院大理
○高門輝¹, 岩田耕一¹

Viscosity of the lipid bilayer consisting of phospholipid and micellar detergent

○Akira Takakado¹, Koichi Iwata¹
¹ Department of Chemistry, Gakushuin University, Japan

【Abstract】

We investigated the viscosity of the lipid bilayer consists of phospholipid and micellar detergent. To investigate the fluidity of liposomes, we performed the time-resolved fluorescence spectroscopy. Since the fluorescence lifetime of the probe molecule embedded into liposomes reflects viscosity of the lipid bilayer, we can assess the fluidity of liposomes by the time-resolved fluorescence spectroscopy. In this study, we investigated hybrid liposome, which consists of vesicular phospholipids and micellar detergents. Hybrid liposomes are expected to be a cancer treatment drug, and its fluidity is supposed to be responsible for the efficiency as a drug.

To evaluate the viscosity of hybrid liposomes, we measured the fluorescence lifetime of the probe molecule (*trans*-4-hydroxystilbene). We found that the lifetime of the probe molecule embedded into the hybrid liposome is shorter than that is embedded into the single component liposome, which contains phospholipid only. This result indicates that the hybrid liposome has smaller viscosity. From the time-resolved fluorescence measurements, we will discuss the fluidity of multi-components liposomes.

【序】

近年、脂質膜の「柔らかさ」、「流動性」といった性質が注目を集めている。ひとつの例として、癌細胞が正常細胞よりも大きな膜流動性を持つことに着目して、選択的に癌細胞を破壊する薬剤（ハイブリッドリポソーム）が挙げられる。ハイブリッドリポソームは二種類の界面活性剤（脂質）分子で構成された球状の脂質二重膜（リポソーム）であり、細胞膜と融合することによりアポトーシスを促し細胞を破壊する。このとき、より流動性の高い細胞（癌細胞）はハイブリッドリポソームと融合しやすく、破壊されやすい。またハイブリッドリポソームの中でも流動性の高いものは制癌効果が高いという相関もみられている[1, 2, 3]。

このように膜の「柔らかさ」は製薬分野においても重要なトピックであり、これまで研究が行われてきた。こうした分子の研究においては脂質膜の性質を定量的に測定する手法が不可欠である。本研究では二成分系

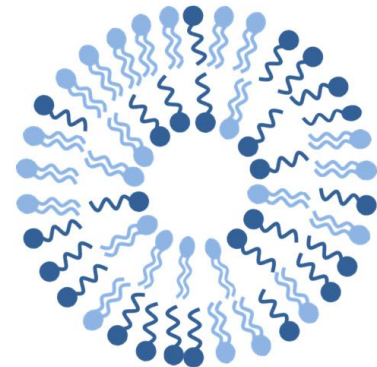


Fig. 1. Structure of hybrid liposome

膜中に蛍光プローブ分子を挿入し、蛍光時間分解測定を行うことにより脂質膜の膜流動性の評価を行った。

【方法】

二種類の界面活性剤（リン脂質）分子および蛍光プローブ分子（*trans*-4-hydroxystilbene）を含む脂質膜の合成を行い、蛍光時間分解測定を行った。発表者の所属する研究室では脂質膜中に挿入したスチルベン分子の蛍光寿命および回転緩和速度を検出することによる膜粘度の測定に成功している。スチルベン分子の蛍光寿命は分子近傍の膜環境を反映しており、膜粘度との相関がみられる[4]。本研究ではこの手法を用いることにより二成分系脂質膜の膜流動性の評価を行った。

【試料調整】

構成分子を5%グルコース水溶液に溶解させた後、超音波処理を行い、100 nm 径の膜を通すことでリポソーム脂質二重膜の合成を行った。

【測定条件】

- ・励起光波長：320 nm
- ・検出波長域：320 – 590 nm
- ・蛍光寿命測定範囲：<10 ns

【結果・考察】

炭素鎖長 $n = 14$ のリン脂質 DMPC (1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine) と界面活性剤 Tween20 (polyoxyethylene sorbitan monolaurate) を構成分子とするハイブリッドリポソームに蛍光プローブ分子 *trans*-4-hydroxystilbene を組み込み、蛍光寿命測定を行った。DMPC 単一成分で構成されたリポソームについては以前に同様の測定が行われており、二つの蛍光寿命成分を持つことが分かっている[4]。今回、10 mol% の Tween20 を混合した脂質膜について測定を行ったところ、単一成分系膜と同様に二つの蛍光寿命成分が観測されたが、これらの蛍光寿命は DMPC 単一成分膜系と比べて 20 % 程度の減少がみられた。スチルベン分子の蛍光寿命は膜の局所的な粘度を反映していると考えられており、蛍光寿命の減少は膜の流動性の増加と対応していると考えられる。界面活性剤 Tween20 の添加により膜流動性が増加していることが明らかとなった。こうした高い流動性がハイブリッドリポソームの薬剤としての機能に関係していると考えられる。このような測定により多成分系脂質膜の膜流動性と機能について議論する。

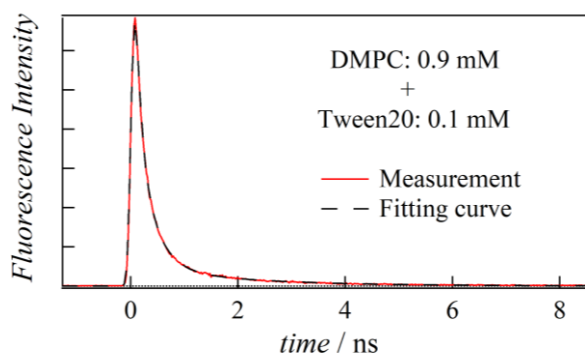


Fig. 2. Time-dependence of fluorescence intensity

【参考文献】

- [1] Komizu, Y. et al. Bioorganic Med. Chem. Lett. 2006, 16, 6131–6134.
- [2] Komizu, Y. et al. ACS Med. Chem. Lett. 2011, 2, 275–279.
- [3] 上岡龍一 et al. 生物物理 2014, 54, 5-10
- [4] Nojima, Y.; Iwata, K. J. Phys. Chem. B 2014, 118, 8631–8641.