

金属錯体脂質を用いた複合リポソームおよび人工ドメインの合成

¹熊本大院自然, ²熊本先端科学

○姉川由佳¹, 大谷亮², 中村政明², 速水真也²

Syntheses of hybrid liposomes and artificial domains incorporating amphiphilic complex lipids

○Yuka Anegawa¹, Ryo Ohtani², Masaaki Nakamura², Shinya Hayami²

¹Graduate School of Science and Technology, Kumamoto University, Japan

²Faculty of Advanced Science and Technology, Kumamoto University, Japan

【Abstract】

Techniques for controlling physical properties of lipid membranes by artificial amphiphilic molecules have attracted attentions.^{[1],[2]} The artificial domains in the lipid membrane by amphiphilic molecules is a very useful area that can become a reaction platform on the membrane. In this study, we synthesized three amphiphilic complex lipids with different structures for the construction of artificial domains in liposomes. They have an alkyl long chain as a hydrophobic part and a manganese complex as a hydrophilic part. We hybridized the resultant metal complex lipids with 1,2-dimyristoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DMPC) and investigated lateral phase separation and phase transition temperature in hybrid liposomes by DSC measurement. Furthermore, GUV was prepared and phase separations of DMPC and complex lipid was investigated using fluorescence microscope. In addition, the interaction between DMPC and complex lipids was discussed using the results of IR spectra.

【序】

分子内に親水部位と疎水部位の両方を併せ持つ両親媒性分子は、生体膜内へ導入することが可能であり、細胞の可視化や化学修飾などに利用されている。両親媒性分子による生体膜内でのドメイン化は、膜上に反応のプラットフォームを形成することが可能であるため非常に有用である。そこで今回、新たに親水部としてマンガンの錯体、疎水部として C16 のアルキル長鎖をもつ両親媒性錯体脂質を設計しリポソーム内のドメイン形成を目的とし合成を行った。また、錯体脂質の構造を変化させることで複合リポソームの相分離や相転移にどのような変化があらわれるのか調べた。さらに得られた錯体脂質と生体脂質 (DMPC) からなる複合リポソームを合成し相転移温度の変化および相分離の観察を行った。

【方法 (実験・理論)】

サリチル酸エチルを出発物質として得られたアミド中間体と、5 位に C16 のアルキル長鎖を持つベンズアルデヒドとを反応させ N₂O₂ 型四座配位子を合成した。この時、反応させるアルデヒドを、炭素数が同じでアルキル長鎖の位置が異なるものや、ベン

ズアルデヒドに置換基としてアルデヒド基を付けたものに変えることで、構造の異なる配位子 (L5_A, L5, L4) を3つ合成した。次に、これらの配位子と Mn(OAc)₂·4H₂O を反応させマンガン錯体 (MnL5_A, MnL5, MnL4) を合成し、単結晶 X 線構造解析より同定を行った。さらに、合成した錯体脂質と、生体脂質分子である 1,2-dimyristoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine(DMPC) をそれぞれ混合し複合リポソームを合成した。これら3つの複合リポソームに関して、DSC 測定による相分離と相転移温度の変化の観察、共焦点レーザー顕微鏡による GUV の観察を行った。また、複合リポソームの IR 測定を行い DMPC と錯体脂質の間に働く相互作用について考察した。

【結果・考察】

得られた錯体脂質の単結晶 X 線構造を示す (Fig.)。構造解析の結果、これらの錯体脂質は異なるパッキング構造をとっていることが分かり、固体状態での DSC 測定を行ったところ、異なる相転移挙動を示すことが明らかになった。錯体脂質と DMPC を異なる比率 (Complex / DMPC = 0.063, 0.083, 0.125, 0.25) で混合した複合リポソームを合成し DSC 測定を行ったところ、MnL5_A のみ、X=0.063 および 0.083 の複合リポソームにおいて2回相転移が起こっている様子が確認された。このことより MnL5_A ではリポソーム内に、DMPC のみで形成されている領域と錯体脂質と DMPC とで形成されている領域が存在しており、これらが相分離していると考えられる。このような現象は MnL5 および MnL4 では確認されなかった。一方で、MnL5_A および MnL4 においては、錯体脂質の導入量が多くなるほど相転移温度が低下することが分かった。

相分離がみられた MnL5_A について GUV (Giant Unilamellar Vesicle) を合成し共焦点レーザー顕微鏡で観察を行ったところ、DMPC のみからなる GUV では見られなかった、蛍光強度の偏りが観察された。このことより、MnL5_A を含む GUV では流動相において相分離が起こり、ドメインが形成されている様子が確認できた。ドメイン形成について考察するために MnL5_A と DMPC の複合リポソームの IR 測定を行ったところ、DMPC のリン酸のピークが $\nu(\text{P-O-P}) = 1232 \text{ cm}^{-1}$ から $\nu = 1228 \text{ cm}^{-1}$ へとシフトしていることが分かった。一方で相分離を起こさない MnL5 の複合リポソームではピークシフトが観測されなかった。このことから DMPC と MnL5_A の間に相互作用が働いており、それが複合リポソーム内でのドメイン形成および相分離を引き起こしていると考えられる。

【参考文献】

- [1] B. König *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 20704–20707
- [2] B. König *et al.*, *RSC Adv.* **2016**, *6*, 44456–44458

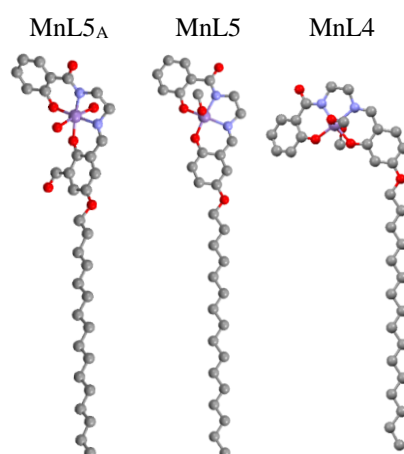


Fig. Structures of complex lipids