

浸透圧下における糖脂質を含むリポソームの構造変化 The structure change of liposome containing glycosphingolipid under osmotic pressure

小内輝明, 平井光博
Teruaki Onai¹, Mitsuhiro Hirai¹

¹Graduate School of Engineering, Gunma University, Maebashi 371-8510, Japan.

*E-mail: m04b303@gs.aramaki.gunma-u.ac.jp

生体膜のモデル,あるいはドラッグキャリア等として,リポソームの構造と機能については多くの研究がなされてきた。リポソームの構造安定性には,脂質膜と水溶液中の様々な物質(イオンや低分子,タンパク質をはじめとする外来分子)との相互作用が影響を及ぼすことが知られている。したがって,その相互作用の機構を明らかにし,制御することは生体膜の安定性を考察する上で重要な知見となる。

本研究では,生体膜のモデルとして ganglioside(G_{M1})/cholesterol/DOPC 混合系を考え, Polyvinylpyrrolidone(PVP)を添加したときのベシクル構造に及ぼす影響について調べた。

Gangliosideは親水性頭部にシアル酸を持つスフィンゴ糖脂質の一つで,リン脂質と比較して巨大な親水性頭部と疎水性尾部にセラミドを持つ (Fig.1:G_{M1})。主に細胞膜表面に偏在し,糖鎖の多様性により分子認識や細胞の分化・発生,免疫機能の発現等への関与が示されてきた。^[1]

一方,PVPは N-vinyl-2-Pyrrolidone の重合した高分子で,吸湿性がよく,人体にほとんど吸収されないため,化粧品や食品・医薬品錠剤の賦形剤,さらに工業的な用途にまで広く一般的に使用されている。脂質膜の研究では,浸透圧法に dextran 等と共に用いられている。^[2]

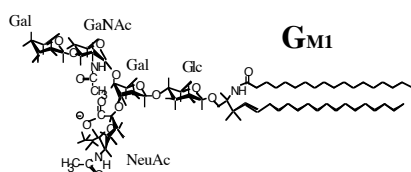


Fig.1
: Schematic representation of molecular structure of G_{M1}.

試料調整について:

[G_{M1}]/[cholesterol]/[DOPC]の混合比率は 0.1/0.1/1, 0.1/0/1, 0/0.1/1, 0/0/1 の4種類を用意し,DOPC濃度が5% w/vになるよう調整した。Vortex mixerで溶媒中に分散させた後 Extruderを用いて large uni-lamellar vesicles(LUVs)溶液とし,これをPVP溶液(10,20,30,40,50% w/v)と等量で混合し,混合試料(lipid=2.5% w/v)とした。

広角X線溶液散乱:

X線小角散乱実験にあたり,高エネルギー加速器研究機構の放射光源においてBL10Cを利用した(カメラ長:85cm,波長:1.49Å)。また,より小角側の構造情報を同時に得るために,Spring-8のBL40B2を利用した(カメラ長:50~400cm,波長:0.75~1.0Å)。

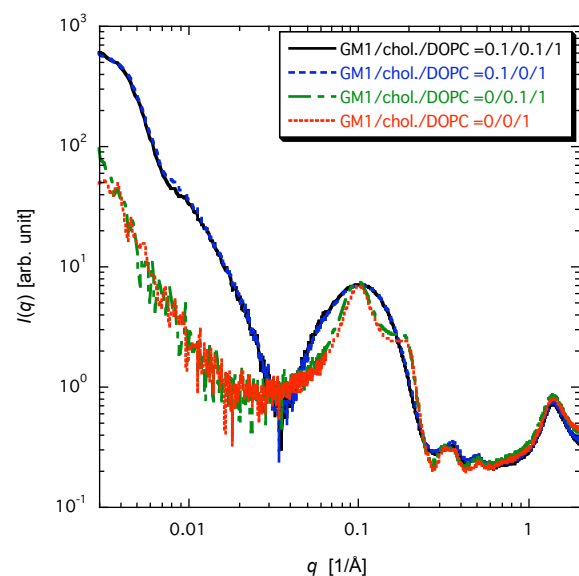


Fig. 2 Scattering curve of G_{M1}/cholesterol/DOPC mixture at PVP concentration = 0 % w/v.

測定結果について、PVP 濃度 0 % w/v の散乱曲線を Fig.2 に示す。糖脂質を含まない系では、 $q=0.10, 0.19 \text{ \AA}^{-1}$ 付近に明確なピークが確認された。ラメラ構造の周期に帰属されるものと考えられる ($[\text{GM}_1]/[\text{cholesterol}]/[\text{DOPC}]=0/0.1/1$ では 62.9 \AA , $0/0/1$ のとき 61.9 \AA)。また cholesterol の有無によらず uni-lamella vesicle ではない。対して、糖脂質を含む系ではベシクル構造を示唆する散乱曲線が確認できた。

次に

$[\text{GM}_1]/[\text{cholesterol}]/[\text{DOPC}]=0.1/0.1/1$ の試料に対する PVP 濃度依存性を Fig.3 に示す。まず PVP を添加したことで散乱曲線の $q=0.01 \text{ \AA}^{-1}$ 付近で明らかな変化が確認できる。さらに PVP 濃度を上げていくと、10~15% w/v で $q=0.10 \text{ \AA}^{-1}$ 前後での瘤状の曲線に規則的な変化が現れる。

これらの変化について議論するために Fig.4 に Fig.3 の $I(q)$ から得た距離分布関数を示す。これをみると PVP の添加により、まず PVP=5 % w/v において r の切片の位置が増加している (1060 から 1200 \AA)。これはベシクルの最大長が広がっていることを示す。しかし、さらに PVP 濃度を上げていくと最大長は徐々に小さくなっていく (PVP 濃度 25% w/v では $\sim 840 \text{ \AA}$)。

これらの結果から、PVP を添加した $[\text{GM}_1]/[\text{cholesterol}]/[\text{DOPC}]=0.1/0.1/1$ の混合系リポソームにおいて、PVP が低濃度 (5 % w/v) のとき粒径の分散性が増し、その濃度が増加するのに伴い収縮する傾向にあると結論できる。

これらの変化がどのようなベシクル構造の変化に由来するのか、今後はモデル解析^[3]を行い、詳細を明らかにしていきたい。

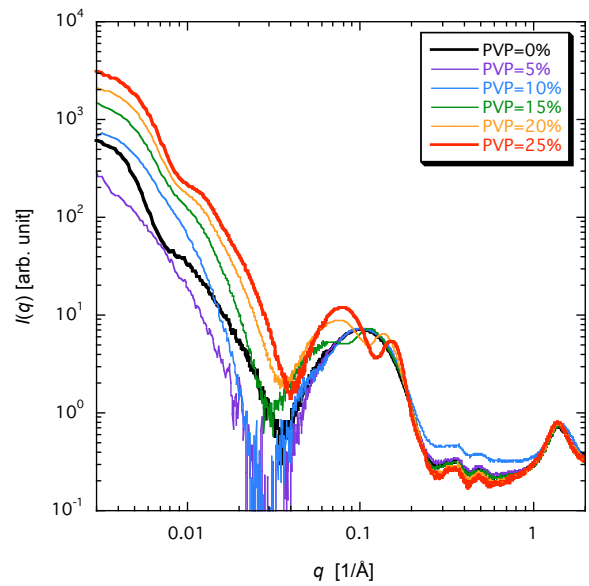


Fig.3: Scattering curve of $[\text{GM}_1]/[\text{cholesterol}]/[\text{DOPC}] = 0.1/0.1/1$ mixture depending on PVP concentration (0~25% w/v).

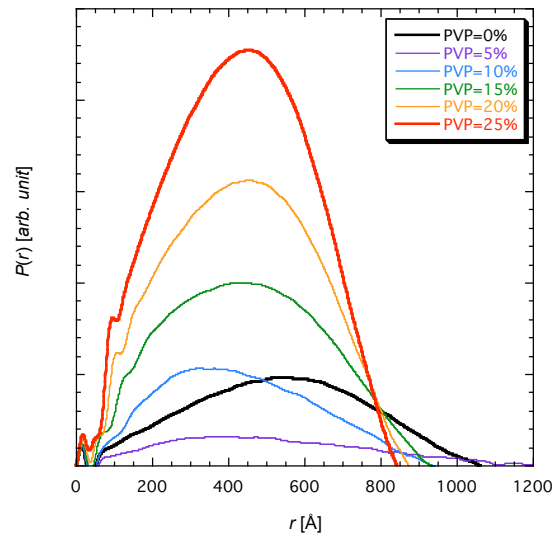


Fig.4 Distance distribution function of fig.3 $[\text{GM}_1]/[\text{cholesterol}]/[\text{DOPC}] = 0.1/0.1/1$ mixture depending on PVP concentration (0~25% w/v).

References

- [1] S. Hakomori: *Sci. Am.* **254**, 32-41 (1986)
- [2] T. J. McIntosh, S. A. Simon: *Biochem.* **25**, 4058-4066 (1986)
- [3] M. Hirai et al.: *J. Biochem.* **215**, 55-61 (1993)