

1. 背景

近年の日本において、厚生労働省が発表している人口動態統計によると、一番の死亡原因となっているものはがんや肉腫などである。がん治療の方法の一つとして、ドラッグデリバリーシステムという、適量の薬剤を患部にのみ作用させる方法が考えられている。本研究では、ドラッグデリバリーシステムの薬剤を運搬するキャリアとなる膜構造体であるベシクルを、東大片岡研究室が開発したポリオンコンプレックス(通称PIC)を用いて作製する。これまで、ベシクルの代表として、リポソームが汎用されてきたが、リポソームは調製段階で有機溶媒を用いるために、医療応用を使用することが困難である。一方、PIC型ベシクル(通称ピクソーム)は、調製に有機溶媒を用いる必要が無いという利点が存在する。PICは150 mM 塩濃度下で粒子状を取り、塩濃度を低下させることでベシクル形状を取ることが明らかになっている。本研究では、PICの物性の一部を明らかにするため、塩濃度を測定できる状況でPIC溶液の塩濃度を低下させ、PIC一粒子の形態変化を追跡・経時観察を行う。

2. マイクロ流体デバイスを用いたピクソーム形成法

ベシクル形成チャンネルの作製法は、ガラス基板状にアルミを蒸着して電極を作製、その後、フォトリソグラフィで流路形状を作製する。純水チャンネルは、PDMS で型を取ることで作製する。この際に、純水チャンネルの両端にシリコンチューブをそれぞれ配置する。透析膜を介してベシクル形成チャンネルと純水チャンネルを組み合わせることでマイクロ流体デバイスを作製する。ベシクル形成チャンネルに塩濃度を150 mM に調製したPIC溶液を導入する。そして、純水チャンネルに純水を循環させることで、透析膜を介してPIC溶液内の塩を拡散させて、ピクソームの形成を行う(図1)。この際に、ベシクル形成チャンネル内の、PIC溶液の抵抗値を測定することで塩濃度を導出する。

3. アルミ電極を用いた塩濃度測定

図2に示す回路を作製し、PIC溶液の抵抗値を測定する。ファンクションジェネレータを用いて交流電流をかけ、その際の V_0 と V_1 を、オシロスコープを用いて測定する。測定結果から、デバイス部のインピーダンスを求める。既知の塩濃度溶液をベシクル形成チャンネルに導入し、その際のインピーダンスを測定する。既知の塩濃度溶液の測定結果と比較することにより、PIC溶液の塩濃度を導出することとする。透析膜を介して純水側に塩を拡散させることでベシクル形成チャンネル内の塩濃度を低下させると、塩濃度は指数的に低下すると考えられる。このため、塩濃度が e^{-1} 倍になるのに要する時間(緩和時間)を、塩濃度低下速度の指標として用いることとする。

4. ベシクル形成チャンネル内のピクソーム形成実験

ベシクル形成チャンネルにPIC溶液を導入すると、ベシクル形成チャンネルを構成するガラス基板、流路壁、透析膜にPICが張り付く。PICの張り付きを防止するため、BSA(Bovine serum albumin)でブロッキング処理を行った。ブロッキング処理を行った後、ベシクル形成チャンネルを純水で洗う。純水チャンネルのシリコンチューブをシリンジに接続し、シリンジポンプを用いて、一定流速で純水を循環させる。シリンジポンプの動作が安定した後、マ

イクロピペットを用いて、ベシクル形成チャンネルにPIC溶液を導入する。PIC溶液の抵抗値を測定しながらPIC一粒子の形態変化を観察する。測定結果から塩濃度推移を導出し、塩濃度変化とPIC形態変化の関係を調べる。

5. 形成されたベシクルとベシクル形成過程

塩濃度を低下させた結果として形成されるベシクルには単一膜のベシクルと入れ子状のベシクルが存在した。本研究では、緩和時間が $\tau=370$ s, 420 s, 1200 sの場合についての実験を行った結果、塩濃度が10 mMまで低下した際に、 $\tau=370$ s, 420 sの場合は約8割が単一膜であったが、 $\tau=1200$ sの場合は、単一膜の割合は約2割であった。図3に示すのは、 $\tau=420$ sの際に、PICの凝集体から分裂・すり抜けが生じ、複数の単一膜・入れ子状のベシクルが形成される過程である。

6. 結論

本研究によって、塩濃度変化を測定している状態で、PIC一粒子の形態変化を観察が行えた。この結果、分裂・すり抜けにより、PICの凝集体から複数の単一膜・入れ子状のベシクルが形成される様子が観察された。また、緩和時間が約400 sで塩濃度が低下した際に単一膜ベシクルが多数形成されることがわかった。

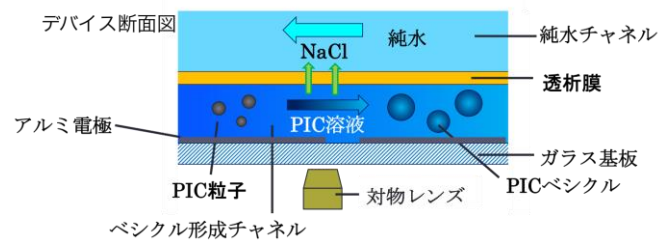


図1. デバイス模式図

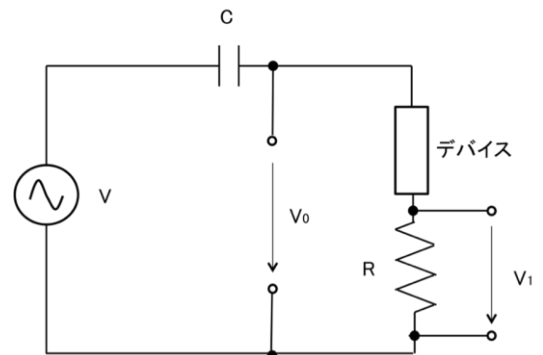


図2. 回路図

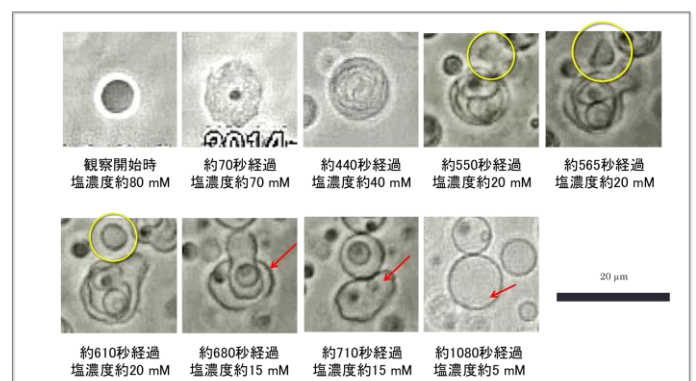


図3. $\tau=420$ s, ベシクル形成過程