

## 2L09-1 担がんマウスにおけるSpan80ベシクルの血管壁透過現象

○重川 庸介<sup>1</sup>, 宮崎 龍彦<sup>2</sup>, 増田 晴造<sup>3</sup>, 秋山 浩一<sup>3</sup>, 菅原 卓也<sup>4</sup>, 藤原 隆<sup>3</sup>, 能勢 真人<sup>2</sup>, 加藤 敬一<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>愛媛大院・理工, <sup>2</sup>愛媛大・医, <sup>3</sup>愛媛大・総研支援センター, <sup>4</sup>愛媛大・農)

我々は、非イオン性界面活性剤Span80を主成分とするベシクルに、がん細胞標的リガンドとして海藻由来レクチン*Eucheuma serra* agglutinin(ESA)を固定化したベシクルのDDSへの応用を研究してきた。本研究では、このベシクルの癌腫瘍での血管透過を検討した。平均粒径100nmまたは500nmである蛍光試薬CFを内包させたベシクル(CF-V)のヒトさい帯静脈内皮細胞HUVECとの親和性をFACSにより評価した。100nmのCF-VがわずかにHUVECとの親和性を示した。また、これらベシクルの血管壁透過性を、血管壁モデルを使用して検討した。その透過性は、細胞密度と粒径が低いほどより高くなった。これは、ベシクルの血管壁透過が、血管内皮細胞によるトランスサイトーシスよりも、血管内皮細胞間の方が通過しやすいことを示す。さらに、蛍光試薬FITCを内包させたESA固定化PEG修飾ベシクル(FITC-EPV)を投与したマウス大腸癌Colon26腫瘍担がんマウスにおいて、腫瘍組織でのベシクルの血管透過現象を蛍光顕微鏡観察により検討した。腫瘍組織におけるFITC-EPVの蛍光は、経過時間ごとに増加し、投与後24時間で最も高かった。さらに、これらは血管付近においてよく観察された。これにより、生体内でベシクルの血管壁透過と腫瘍蓄積が確認された。

### Permeation of the Span80 vesicle through blood-vessel wall of cancer-burden mouse

○Yosuke OMOKAWA<sup>1</sup>, Tatsuhiko MIYAZAKI<sup>2</sup>, Seizo MASUDA<sup>3</sup>, Koichi AKIYAMA<sup>3</sup>, Takuya SUGAHARA<sup>4</sup>, Takashi FUJIWARA<sup>3</sup>, Masato NOSE<sup>2</sup>, Keiichi KATO<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Grad. Sch. Sci. Eng., Ehime Univ., <sup>2</sup>Sch. Med., Ehime Univ., <sup>3</sup>Int. Center Sci. Ehime Univ., <sup>4</sup>Fac. Agric., Ehime Univ.)

**Key words** Span80 vesicle, Drug Delivery System, extravasation

## 2L09-3 生理活性バイオフィラクタントのベシクルリン脂質二分子膜への分配挙動

○小松崎 哲<sup>1</sup>, 黒岩 崇<sup>1,2</sup>, 佐藤 誠吾<sup>1</sup>, 向高 祐邦<sup>1</sup>, 野村 暢彦<sup>1</sup>, 市川 創作<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>筑波大院・生命環境, <sup>2</sup>食総研)

【目的】微生物は細胞膜を介した情報伝達物質の授受によりコミュニケーションし、Quorum Sensingなどの多様な生物機能の発現や制御に重要な役割を果たしている。情報伝達物質が細胞膜へと分配する挙動は、細胞膜を介した物質の移動現象を理解する基礎として重要である。また、情報伝達物質を利用して微生物を制御する場合の重要な知見となる。本研究では、細胞膜のモデルとしてベシクルを使用し、緑膿菌により生産されるバイオフィラクタントで情報伝達物質として機能しているアシル化ホモセリンラクトン(AHL)のリン脂質二分子膜への分配挙動を評価した。【方法と結果】リン脂質とAHLを任意の割合で混合して調製した脂質薄膜に緩衝液を加えて振盪することで、AHLを含むベシクル懸濁液を得た。この懸濁液を均一な孔径を有する膜に強制透過し、大きさ約100nmの単層ベシクルを調製した。脂質二分子膜とバルク水相間のAHLの分配を十分に平衡化させた後、超遠心法によりベシクルを沈降分離し、水相および脂質膜中のAHL濃度を求めた。AHLは脂質膜に分配しやすく、脂質二分子膜に分配するAHLの濃度は、水相のAHL濃度の増加に伴って増大した。AHLが分配したベシクルの形態を電子顕微鏡で観察した結果、AHLを含まないベシクルと同様の球状小胞構造であり、AHLによりベシクルの構造が大きく変化しないことがわかった。

### Partition behavior of physiologically active biosurfactant into bilayer membrane of phospholipid vesicles

○Satoshi KOMATSUZAKI<sup>1</sup>, Takashi KUROIWA<sup>1,2</sup>, Seigo SATO<sup>1</sup>, Sukekuni MUKATAKA<sup>1</sup>, Nobuhiko NOMURA<sup>1</sup>, Sosaku ICHIKAWA<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Grad. Sch. Life Env. Sci., Univ. Tsukuba, <sup>2</sup>Natl. Food Res. Inst.)

**Key words** partition, lipid vesicle, acyl homoserine lactone, biosurfactant

## 2L09-2 オリゴグルコサミン添加によるリポソーム保持DNAの酵素分解耐性の向上

○村上直<sup>1</sup>, 小野 努<sup>2</sup>, 境 慎司<sup>1</sup>, 井嶋 博之<sup>1</sup>, 川上 幸衛<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>九大院・工・化工, <sup>2</sup>岡山大院・環境学)

【目的】リン脂質の二分子膜よりなるリポソームは、核酸を保持させた場合には、表面修飾を行うことにより遺伝子キャリアとして利用できる。タンパク質保持リポソームについては、先に、オリゴグルコサミンがその表面電位や物質保持特性に影響を与えることを示した。本研究では、プラスミドDNAを保持させたリポソームの調製を行い、オリゴグルコサミンを添加した場合の、リポソーム保持DNAの酵素分解に対する保護作用(酵素分解耐性)について検討した。【方法および結果】まず、凍結融解法によりプラスミドDNAを保持させたリポソーム(DMPC:DMPG:DOPE=1:1:0.4)を調製した。ついで、そのリポソームにデオキシリボヌクレオースを添加して、37°Cで90分間インキュベートを行った。酵素分解反応の前後における2本鎖DNAの定量より、リポソームへの保持によるDNAの保護効果を検討した。さらに、オリゴグルコサミンを添加して調製したリポソームについても同様の検討を行い、その添加がリポソーム保持DNAの酵素分解耐性に与える影響について検討した。構成グルコサミン単位数が3以下のとき、リポソーム保持DNAの酵素分解耐性は低下したが、その単位数が5以上の場合には逆に向上した。グルコサミン単位数が多い場合には、保持DNAを酵素分解より保護する被覆層がリポソーム表面に形成されたものと考えられる。

### Protective effect of oligoglucosamine on the enzymatic degradation of liposome-entrapped DNA

○Sunao MURAKAMI<sup>1</sup>, Tsutomu ONO<sup>2</sup>, Shinji SAKAI<sup>1</sup>, Hiroyuki IJIMA<sup>1</sup>, Koei KAWAKAMI<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Dept. Chem. Eng., Fac. Eng., Kyushu Univ., <sup>2</sup>Grad. Sch. Environment. Sci., Okayama Univ.)

**Key words** liposomes, glucosamine, DNA, oligosaccharide

## 2L09-4 ACE固定化リポソームを用いるペプチドライブラリからのACE阻害ペプチドのスクリーニング

○橋本直也<sup>1</sup>, Fida HASAN<sup>1</sup>, 熊田陽一<sup>2</sup>, 加藤 滋雄<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>神戸大院・自科, <sup>2</sup>岡山山・工・生物機能)

ACEは血管収縮作用を有する高血圧症の原因物質を生成するため、ACEの活性を低く維持できれば原因物質の生成を抑制でき高血圧症の改善につながる。これまでにACE阻害ペプチドを探索した研究が多く報告されているが、それらはある特定のタンパク質を対象としたものが主であり、様々なアミノ酸配列のペプチドに対して網羅的にスクリーニングを行ったものではない。本研究ではペプチドライブラリからのACE阻害ペプチドのスクリーニングを目的として、ランダムオクタペプチド提示ファージライブラリを構築しACE固定化リポソームを吸着体として用いたバイオパンニングを行った。本法は吸着体としてポリエチレンチューブを用いた従来法と比較して非特異吸着が少なく、目的ファージを効率的に回収できると考えられる。数ラウンドのパンニング操作後、回収したペプチドの阻害活性の特性解析を行った。

回収したペプチドの中で、互いに高い配列相同性を示していたペプチド群の代表的な配列はそれぞれ NCLLAIRFA, TMSCLPTLA, LSTLRSFCA, LSYRLVLYAであり、中でもLSTLRSFCA(IC<sub>50</sub>値2μM)は非常に強い阻害活性を有していた。吸着体としてタンパク質固定化リポソームを用いたバイオパンニング法は特異的相互作用を有する物質をスクリーニングする上で有用であり、他の酵素に関しても酵素固定化リポソームを用いることで阻害ペプチドのスクリーニングが可能であることが示唆された。

### Screening of ACE inhibitory peptides from random peptide library utilizing ACE-immobilized liposomes

○Naoya HASHIMOTO<sup>1</sup>, Fida HASAN<sup>1</sup>, Yoichi KUMADA<sup>2</sup>, Shigeo KATO<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Grad. Sch. Sci. Tech., Kobe Univ., <sup>2</sup>Dept. Biotech., Okayama Univ.)

**Key words** ACE inhibitory peptide, ACE-immobilized liposome, biopanning