

遠心FFFを用いたリポソームカーゴの質量測定 F4-MALSを用いた熱ストレス下における アデノ随伴ウイルス血清型の安定性の研究

一般情報

ID0067

アプリケーション： ナノ医薬品、ドラッグデリバリー、バイオ医薬品

テクノロジー： CF3-UV

機器構成： Postnova CF2000, PN3211 UV/Vis

キーワード： 遠心FFF、ナノ医薬品、ドラッグデリバリー、ポルフィソーム

はじめに

脂質ベースのナノ粒子（リポソーム）は、医療分野および非医療分野の両方で多くのアプリケーションのために開発されています。生物医学的治療、イメージング、化学療法の分野では、薬物を添加したリポソームは、生体適合性に優れており、望ましくない免疫反応を回避することができるため、癌を含む疾患の治療に大きな可能性を示しています。しかし、リポソーム自体は、治療薬やイメージング剤としては機能しません。ポルフィリンは有機分子の一群であり、様々なイメージング用途で臨床現場にて使用されているほか、光線力学的療法の光増感剤としても応用されています。しかし、ポルフィリンは親油性のため、水溶液中で凝集しやすいので、リポソームに組み込むことで、ポルフィリンのイメージング特性と感光性を維持した、より安定したデリバリービヒクルが得られます[1]。これらのハイブリッド材料はポルフィソームと呼ばれ、かつて癌のブレイクスルートップ10に選ばれたこともあります[2]。これらのドラッグデリバリー粒子に充填された薬物「カーゴ」の量を測定することは、ナノ医薬品における分析上の課題です。充填された粒子と充填されていない粒子は同じサイズであることが多いため、サイズで分離することはできません。そこで、質量ベースの分離を実現するために、粒子をその質量に基づいて分離する遠心FFF（CF3）を使用しました（図1）。

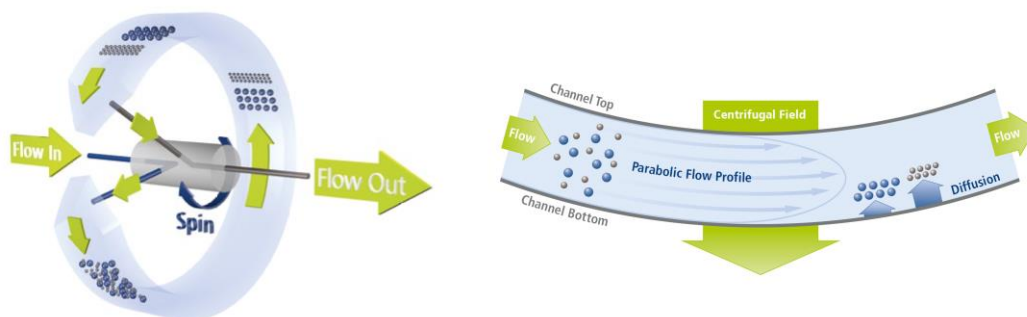


図 1: CF3 チャンネルの概略図

実験と結果

空のものとヒト血清アルブミン（HSA）を充填したポルフィソームのサンプル溶液を、UV/Vis検出器（PN 3211）とCF3（Postnova CF2000）を接続して分析しました。

UV/Vis信号は、粒子の質量分布を測定するための濃度検出器として使用し、空のポルフィソームと薬剤を充填したポルフィソームの間の測定された質量の差は、カーゴ質量として算出されました。空のポルフィソームと薬剤が充填されたポルフィソームのUV信号を図2に示します。空のポルフィソームは質量が少なく、先に溶出し、12分程度でピークを迎えます。充填されたポルフィソームは、カーゴが入っているために質量が大きく、溶出が遅くなるため、ピークは21分前後になります。この保持時間の変化は、ポルフィソーム1個あたりのHSAの平均質量に比例します。

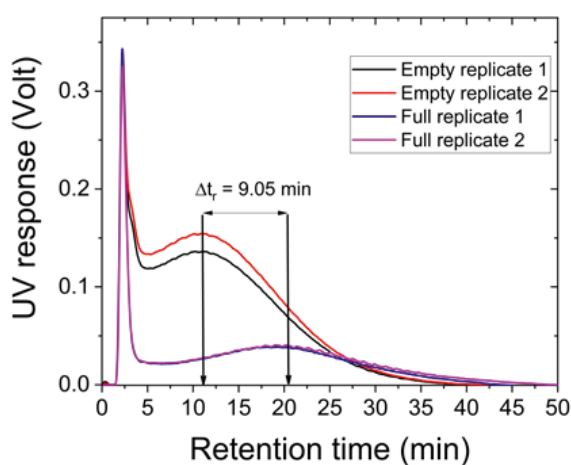


図 2: 空のポルフィソームと薬剤が充填されたポルフィソームの UV/Vis フラクトグラム

図2のUVベースのフラクトグラムは、CF3理論を使用して粒子の質量分布（図3）に変換されます[3]。

充填されたポルフィソームの質量から空のポルフィソームの質量を差し引くことにより、カーゴ質量（HSA）を計算できます。この例では、HSAの質量は 15.6 ± 1.8 アトグラム（ $15.6 \pm 1.8 \times 10^{-18}$ グラム）またはポルフィソームあたり $\sim 143 \pm 17$ HSAと計算されました。各粒子が腫瘍などの標的に送達できる薬物ペイロードの量を決定するために非常に重要です。

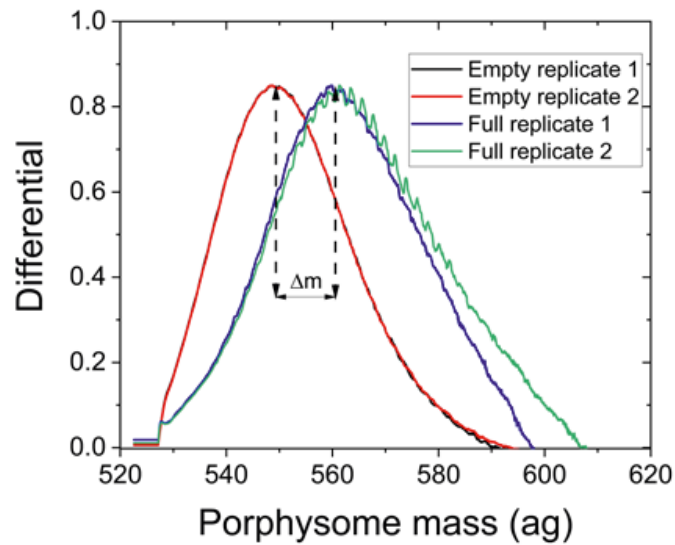


図 3: 空および薬剤が充填されたポルフィソームの質量分布。

まとめ

CF3は、充填されたポルフィソームと空のポルフィソームでは、薬物カーゴの質量による保持時間の違いを測定できました。

充填された粒子と空の粒子との間の質量差であるカーゴ質量を十分に感知できるので、類似のドラッグデリバリー粒子についても応用できるはずです。

参考文献

- [1] E. Huyn and G. Zheng, NanoToday, 2014, 9(2), 212-222.
- [2] <https://technainstitute.com/porphysomes/>
- [3] S. Tadjiki, M.D. Montaño, S. Assemi, A. Barber, J. Ranville, R. Beckett, Analytical Chemistry, 2017, 89(11), 6056-6064.