

Title	Membranome : 自己組織化膜を『場』として活用する 化学工学
Author(s)	石上, 喬晃; 杉田, 一馬; 馬越, 大 他
Citation	大阪大学低温センターだより. 2014, 161, p. 1-4
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/27389
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

Membranome : 自己組織化膜を『場』として活用する化学工学

基礎工学研究科 馬越 大、菅 恵嗣、石上 喬晃、
杉田 一馬、岡本 行広 (内線6287)

E-mail: umakoshi@cheng.es.osaka-u.ac.jp

1. はじめに

リポソーム膜は、水中でリン脂質（両親媒性分子）が自己組織的に形成する分子集合体であり、非極性・極性環境が凝縮した2分子膜界面（約5nm）から構成される [図1]。化学プロセスの諸現象を取扱う化学工学では一種の「液膜」として、また、生体系の諸現象を取扱う生物学では「モデル生体膜」として研究されている。リポソーム膜は、温度や脂

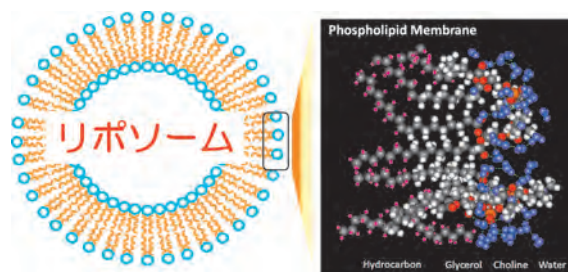


図1 リポソーム膜の概念図。

質混合比によって決定される相状態を示すものの、界面を構成する分子群の組換えによって変化する準安定状態を示す「自己組織系」でもある。以上のように「化学プロセス」と「生物」の境界にあり、非線形現象を誘導するのがリポソーム膜である。我々は、生体システムを発想の原点とし、リポソーム膜などの自己組織化膜を分子認識・変換の「場」とした「分子の振舞い」に関する一連の知見 (Membranome) を体系化し、新しい構造・機能を創出する方法論 (Bio-Inspired 化学工学) の確立を目指している [1-3]。

2. Membranome : リポソーム膜を「場」とした分子の振舞い

Membranomeとは、自己組織化膜を「場」とした「分子の振舞い」に関する一連の知見を指す。我々は、リポソーム（ベシクル）膜の「通常機能」に加え、外的要因（環境変数・共存分子）が変動する中で顕在化される「潜在機能」を体系的に探索し、新規なリポソーム膜材料の設計に活用してきた。

(1) 基礎：リポソーム膜の「ナノ場」としての物性の解析

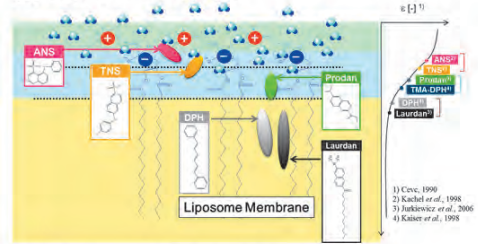
リポソーム膜のナノ物性を解析する手法を開発した。リポソーム膜深度方向に対して局在位置の異なる各種蛍光プローブ (DPH、Laurdan、TNSなど [図2(a)]) を用いて、リン脂質2成分から構成される1,2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine / 1,2-dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DOPC/ DPPC) リポソーム膜の物理化学的特性を解析した。DPH蛍光解析では、相転移温度を境として膜流動性 (1/P値) の温度依存性を示す事を明らかにした。Laurdan蛍光解

析より膜極性 (GP₃₄₀値) 解析を行い、特定の組成・温度において、リポソーム膜の2次元界面にマイクロ相分離構造が形成される事を示した。任意の組成を有するリポソーム膜に対して、その物理化学的な膜特性を反映させた相図を作成する事を目的として、横軸に1/P値、縦軸にGP₃₄₀値をプロットしたCartesian diagramを作成した [図2 (b)]。秩序相・液晶相の相転移における膜流動性および膜極性はしきい値を有し (1/P = 6、GP₃₄₀ = -0.2)、Cartesian diagram上の第1象限に不均一相、第2象限に秩序相、第4象限に液晶相が各々あらわれる事を明らかにした [4]。さらにこの手法が様々な脂質膜 (Span80ベシクル膜、リノール酸ベシクル膜、他) の特性解析に適用可能である事を示した。リポソーム膜において形成される秩序構造の検出を目的として、新たにDPH-TEMPO消光法を開発した [5]。DPHプローブは膜の秩序相 (l_o , s_o) に配向されやすく、消光剤TEMPOは膜の液晶相 (l_d) に配向されやすい特性を利用して、秩序相に配向されたDPH蛍光プローブの蛍光残存率より秩序相ドメインのサイズを計算した。両プローブのFörster半径の和、即ち48 Åをドメインの最大値と仮定すると、DOPC/DPPC (50/50) では14 Å、DOPC/Ch (70/30) では13 Å、DOPC/DPPC/Ch (40/40/20) では36 Åの秩序相ドメインが各々形成される事が示された。既存の報告例では約5 nmが脂質膜ドメインの検出限界であったが、本手法では約13-36 Åのナノドメインを検出可能である事を明らかにした。上記の知見に基づいてリポソーム膜の相図を作成し、任意の組成を持つリポソーム膜に対する、各種膜特性 (膜流動性、膜極性、マイクロ相分離、ナノドメイン形成) の評価手法を確立した [図2 (c)]。以上の様に、リポソーム膜のナノ疎水環境の各種物性 [4] は、後述の展開・応用に際して基礎的な知見となる。

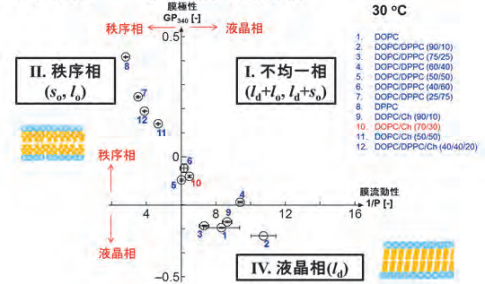
(2) 展開：リポソーム膜を「場」とした分子認識

リポソーム膜を分子認識場として捉えた場合、様々な可能性が見えてくる [2]。これまで、様々な特性を有するリポソームが共存する条件で、膜上における分子の振舞いに関する現象を体系的に検討してきた。in vitro 遺伝子発現系では、核酸分子 (RNA など) や Ribosome がリポソーム界面に集積し、レポータータンパク質の発現挙動を Up/Down 制御できる事を報告した。酵素 (Chitosanase や Hexokinase など) やペプチド (酸化SODフラグメントなど) も特定の組成を有する膜に集積され、高次構造を形成して、活性を On-Off 制御している事も報告している。また、酵素活性中心を構成する低分子量の要素化合物 (ポルフィリンや His) をリポソーム膜上で集積化

(a) 蛍光プローブ局在性



(b) リポソーム膜の相状態解析



(c) リポソーム膜のナノドメイン構造解析

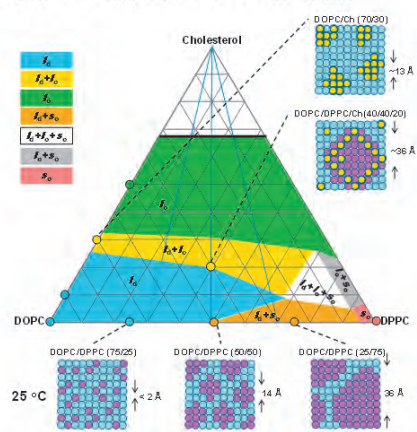


図2 蛍光プローブ法によるリポソーム膜の各植物性の解析。

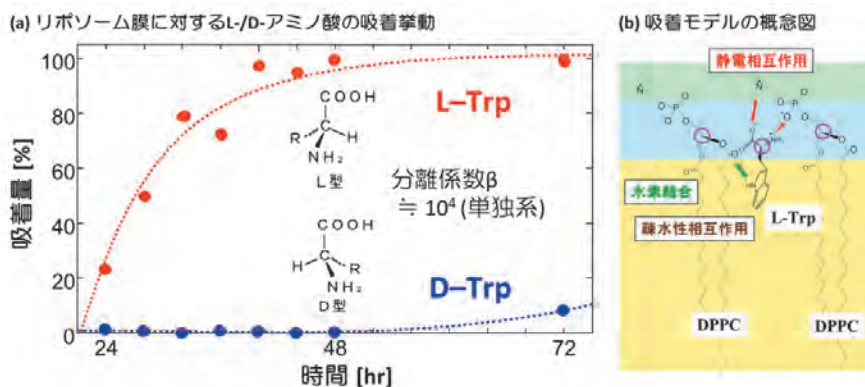


図3 リポソーム膜におけるアミノ酸吸着の一例。

し、二種類の抗酸化酵素様活性が誘導・制御できる人工酵素の開発にも成功している。さらには、特定のリポソームとアミノ酸を共存させた場合、L体を選択的に吸着する事も、世界に先駆けて報告した [図3 (a)]。一連の研究成果において、リポソーム膜表面では、ゲスト分子と、膜を構成するホスト分子群の間で、多体間相互作用を通じて「分子認識」が達成されている点が共通している [図3 (b)]。この様に、リポソーム膜表面はデザイン性に優れた特徴を有し、脂質分子の組み合わせにより、膜表面の物理化学的な特性を制御する事が可能である。現在、系統的にデザインした各種リポソーム膜の電荷・流動性（疎水性）・水和量を定量的に評価する誘電分散解析法を開発し、リポソーム膜における各種現象（アミノ酸・ペプチドなどの (i) 認識、(ii) 構造形成、(iii) 集合化）と各種膜特性との関連性をデータベース化している途上である。

(3) 応用：リポソーム膜固定化担体を用いたキラル分離

工学的応用を志向して、リポソームを固定化したゲル粒子を利用したカラム（クロマト）型分離材料は既に開発しており、分子-生体膜間相互作用の分析やバイオ分離プロセスに応用している。より高性能で汎用性の高い、新規な固定化担体の開発を目指して、中空糸膜の特性を活かして、固定化量が従来比で約20倍の中空糸膜モジュール型リポソーム固定化分離材料の開発例も報告している。さらには、高濃度リポソームを包埋したハイドロゲル担体の開発にも成功しており（ゲル内部のリポソームの体積分率が約80%）、ケーススタディとしてアミノ酸の光学分割に成功している [図

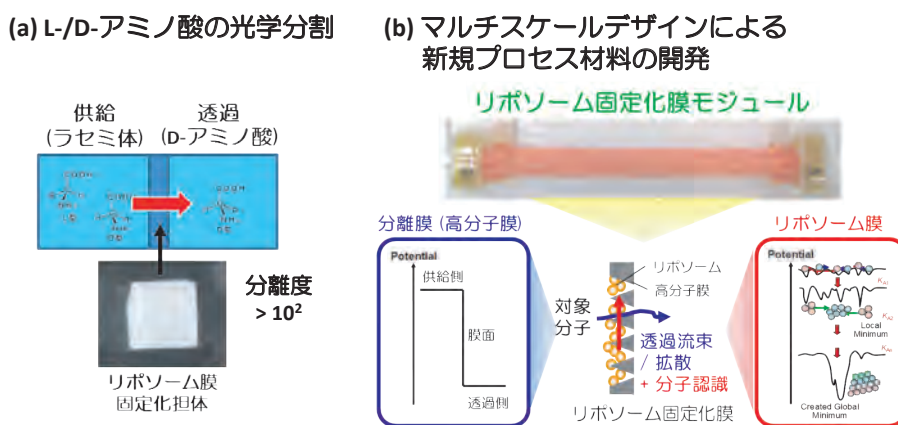


図4 リポソーム膜固定化担体の概要。

4 (a)].さらなる高度化が必要であるが、上述のリポソーム固定化担体は、従来からの平衡論と輸送現象に基づく「分離」に加えて、「場」としてのリポソーム膜による「分子認識」を組み合わせた点で独創的である。人工腎臓のプレ/ポスト・モジュールを想定して、構造異常ペプチドの認識能や抗酸化機能の付与に関する研究も進めている。産学連携を通じて世界最高性能を追求すると同時に、新しいバイオ分離材料の設計指針の提案に繋がりたいと考えている。

3. Bio-Inspired 化学工学：Membranome 視点から

化学プロセスに関連する従来の科学技術が、エンタルピーに代表される熱エネルギーによって設計されているとするならば、リポソーム膜を始めとする自己組織系は、自身の「散逸構造」を利用しつつ、エントロピーを駆動力として物質変換・輸送を達成できる分子集合体と言っても過言ではない。生体系ではこの特徴を活用して、非常に効率よい物質生産系を構築している。最終到達点までの道程は長いですが、生体系の戦略から発想した新しい技術 [図 4 (b)] を創成・体系化する事により、エネルギー付加を最小限に抑制した革新的プロセスの開発が期待される。我々は、「リポソーム膜」などの自己組織系を「場」として、各種の生体分子（低分子量物質、ペプチド、タンパク質や核酸など）が多体間相互作用により「認識・変換」される諸条件を体系化しつつある。レーザー顕微ラマンスペクトル/IRスペクトル/磁気円二色性スペクトル/高周波誘電分散スペクトルなど、分光学的手法を活用して、「リポソーム膜の界面現象」の分子論的な理解をさらに深め、新しい学術的基盤を創成したいと考えている。

NEXT プロジェクトは次世代の化学工学を構築するためのきっかけであり、長期的には「分子の顔」が見える NEXT 化学工学の創成を目指したいと考えている。著者自身は、生体系の戦略を発想の原点とし、「基礎工学 (Engineering Science)」に立脚した上で、「場」としての自己組織系（リポソーム膜）をマイクロ～メソ～マクロ視点から階層的にデザインする原理・手法を明らかにし、さらには革新的機能性材料の研究開発を通して、「Bio-Inspired 化学工学」の創成のための学術的・技術的・人的基盤の構築に挑戦したい。

謝辞

本研究の一部は、内閣府 最先端・次世代研究開発プログラム（通称NEXT）（GR066）の支援を受けて実施されました。

参考文献

- [1] P. Walde, Chem. Biochem., **17**, 922 (2010).
- [2] 馬越, 化学工学, **76**, 215 (2012).
- [3] 馬越, 島内, 菅, 膜, **37**, 264 (2012).
- [4] H. Umakoshi and K. Suga, Solv. Extr. Res. Dev. Jpn., **20**, 1 (2013) [Invited Review].
- [5] K. Suga et al., Langmuir, **29**, 1899 (2013).
- [6] K. Suga et al., Langmuir, **29**, 4830 (2013).