

「膜場」を活用する Bio-Inspired 化学工学



研究室紹介

馬 越 大*

Bio-Inspired Chemical Engineering Utilizing Membrane Platform
for Molecular Recognition and Conversion

Key Words : Chemical engineering, Vesicle membrane, Molecular recognition

はじめに

“キラリティ”は生命・生体系にみられる重要な特徴の一つであり、酵素・抗体など、自己組織的に集積化した生体高分子によって達成されている。キララル認識/変換を達成する鍵は、「異相系界面デザイン」ではないだろうか？(図1) 酵素の活性中心や抗体の分子認識点では、ナノスケール微小界面(表面)における多点相互作用を経て、前述の機能を誘導しているものと考えられる。「Bio-Inspired」視点から貢献できる「新しい化学工学」の1つの方向性として、酵素・抗体から inspire された「膜場」を設計するための「基礎工学 (Engineering Science)」を確立する事にあると考えている¹⁻⁶⁾。リポソーム・ベシクルの「膜場」は、水中で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5 nm)から構成される。ベシクル膜の物理化学的な特性は温度や構成分子に応じて容易に改変する事が可能であり、膜表層の親水-疎水界面を各種反応場として活用する例も報告されている⁴⁾。本稿では、リポソーム・ベシクル膜場を、キララル認識・キララル変換を達成するための場として活用した研究例を紹介する。最初に、膜場の各種特性を体系的に解析する手法について報告し、それによりデザインされた膜場において“Emergent”な現象(例キララル認識・キララル変換)が観測された例について紹介する。



図1 膜場活用の概念図。3点支持すれば、対象となる「モノ」の配向性は決まる？

膜場を知り、膜場を活かす？

リポソーム膜の機能を活用するためには、「膜場」を知る必要がある。従来から、膜界面の水平方向に脂質分子の局在により秩序性の異なる領域(ドメイン)が形成されることが知られている(例:脂質ラフト)。これまで、顕微鏡技術の発展と(蛍光)分子プローブの開発によって、脂質膜相分離に関する研究の発展は著しく、蛍光プローブ分子の局在特性を利用して、脂質膜表層の構造的な特性(不均一なテクスチャ)を可視化する方法が知られている。当研究Grでは、これまで、(i) マルチ蛍光プローブ解析法、(ii) Laurdan 蛍光水和解析法、(iii) 蛍光消光ナノドメイン解析法、(iv) Coumarine 活用電荷密度解析法、(v) 膜表面増強ラマン分析法など、リポソーム(ベシクル)膜場を知るための独自解析手法について報告しており、各種膜場の特性に関する知見が蓄積しつつある。複雑系の1つでもある膜場は、単一特性だけの評価では不十分であり、複数の特性を解析した上で、タテ・ヨコ・ナナメ視点も含め、俯瞰的な視野でモデル化する戦略が必要である⁵⁾。

「膜場」の状態を知った上で、それをさらに分子スケールで眺めた場合、各種の官能基が高秩序に集

* Hiroshi UMAKOSHI

1969年8月生まれ
大阪大学 大学院基礎工学研究科 化学系専攻 博士後期課程(1997年)
現在、大阪大学 大学院基礎工学研究科 化学工学領域 教授 博士(工学)
Bio-Inspired化学工学
TEL: 06-6850-6287
FAX: 06-6850-6286
E-mail: umakoshi@cheng.es.osaka-u.ac.jp



積化された場と見做すこともできる (図 2 (a)). 例えば, リン脂質の場合, 親水的な官能基は表層で集合構造を形成し, 不斉炭素を持つグリセロ基を中心に, 疎水層に水素結合 Acceptor (ケト基), 親水層には, 負電荷を有するリン酸基, 正電荷を有するコリン基が位置する. 膜場は複数の脂質分子から構成されるため, これらの複数の官能基が高秩序に隣接した環境を供している. 酵素・抗体などの生体高分子の認識部位は, nm スケールの微小空間 (表面) に複数の官能基を配することにより, 生物学的な特異性を誘起していることが知られている (図 2 (b)). リポソーム膜の表層 (およびその微小空間) を活用できれば, 酵素・抗体のような機能を誘導できると考えられる. 以下では, 膜場が誘導する特異的な現象について, 代表的な例を示す.

膜場とキラル認識

一例として, アミノ酸のキラル認識に関する研究成果があげられる (図 2 (c)). グリセロール骨格に不斉炭素を有する L 型リン脂質から調製したリポソームに対して, D-/L- アミノ酸の吸着挙動を解析した結果, 高い L 選択性を示すことがわかった⁷⁾. リン脂質が共存する有機溶媒 (クロロホルム)-水系では, 挙動に差が見られない事から, リポソーム膜表層の不斉炭素近傍で, 静電的相互作用・疎水性相互作用・水素結合が多点相互作用した結果, 誘導し

た現象と推察している. さらには, 3成分 (DOPC/DPPC/Cholesterol) から成る不均一性のリポソーム膜を対象とした場合, 均一相と比べてアミノ酸 (His) の吸着速度が促進され, 秩序相ドメイン (s_0 相や l_0 相) が形成される際の異相界面長が関与していることが示された⁸⁾. 光学異性体がある低分子量医薬品 (例 Ibuprofen) についても同様に検討したところ, 高い S 体選択性が得られ, 3成分リポソーム膜系 (DOPC/SM/Cholesterol) では, S 体選択性を異相界面の長さで制御できることを示した⁹⁾. 以上のように, アミノ酸や Ibuprofen が不斉選択的に膜と相互作用し得る可能性が示されている. 従来から, 膜と分子との相互作用に関する研究は, 比較的短時間での平衡吸着過程が想定されている. しかしながら, 水環境中における膜場は, その特性を非常に鋭敏に変化させることも知られており, 例えば, 外来性分子が膜に遷移的に吸着することにより, 膜場の特性 (特に, 表層) も大きく変化することもわかっている. リポソーム膜と外来分子とのキラル認識現象は, 外来分子の吸着によって準安定な膜場状態に移行し, 不斉炭素近傍での多点相互作用を組み替えつつ, 最終的に, 再安定な膜状態移行した結果誘導されたものと推察される.

膜場とキラル変換

リポソーム膜をキラル変換反応の場として活用し

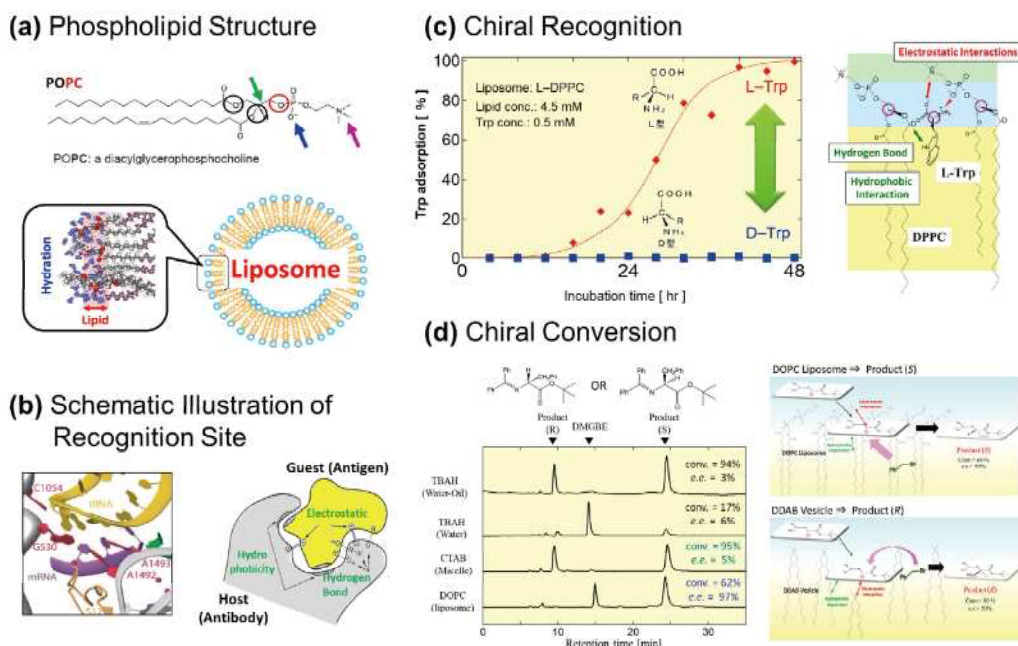


図 2 リポソーム膜場における誘導される “Emergent” な現象

た研究例も報告されている。一例として、アミノ酸誘導体の不斉選択的なアルキル化反応について検討した例が挙げられる(図2(d))¹⁰⁾。相間移動触媒でも使用される4級アンモニウム基は、リン脂質のコリン基の末端にも含まれており、リポソーム膜を形成した場合は、膜表層に集積される。DOPCリポソーム懸濁液に、反応基質を添加し、光学異性体の存在するアミノ酸誘導体が生成する反応について検討したところ、反応転化率には低下が見られたものの非常に高い選択性(e.e.>90%)で(S)体生成物が得られた(e.e.; enantiomeric excess [%] = (S-R)/(S+R) × 100)。この傾向は検討した全ての脂質ベシクルで確認され、e.e.値はほぼ全ての系で90%以上が達成され(S)体の生成物が得られた。対照系(水-クロロホルム系、水系、あるいはCTABミセル系)では、立体選択的な反応は誘導されておらず、リポソーム膜系で誘導される現象であることがわかった。同様の現象は、ベシクル膜場においても誘導されることを示している。2本の長鎖アルキル基を有する4級アンモニウム性両親媒性分子DDABは、不斉炭素を持たない。DDABベシクル膜を調製の上、前述のアミノ酸誘導体のアルキル化反応について検討した¹¹⁾。その結果、転化率が非常に高い一方(～90%)、選択率は50～70%程度でR体の生成物が得られることが観察されている。以上の2種類の膜場において、異なる不斉選択性が得られた。さらに、DDABベシクル膜においては、温度変化させて膜の状態を変化させることにより、不斉選択性が反転することも判明している(未発表データ)。現象論的なアプローチに過ぎないが、触媒分子を修飾・吸着した「膜場」において、膜界面における多点相互作用により「反応中間体」を安定に保持できれば、その分子配向性が規定され、不斉選択的なCC結合反応が誘起できるものと思われる。現在、全く別の視点から、異相系(固相-液相あるいは液相-液相)の界面における触媒分子の秩序性を制御した状態で、不斉選択性を誘導できる可能性を検討しており、ある一定の成果が得られている(未発表データ)。

おわりに

「キラル」を切口にして「膜場」が潜在的に誘導する機能について概説した。現時点では、現象論的なアプローチにとどまっているが、体系的な視点から基礎データは蓄積しつつあり、各署からの反響も

ある¹²⁾。分子・集合体スケールの視点から現象を発掘し、モデル化を経て、新たな原理・学理を見出す、「膜場」の「Chemical Engineering Science」の創成に挑戦したいと考えている。現在、日本で開催されているRugby World Cupでは、多数の好カードがラインアップされており、(私を含め)日本中で多くの人が熱狂しているように見える。複数のラグーマンが組んでいるスクラムを見ながら、個人的には、「膜場」における「複数分子のスクラム」こそがEmergentな現象を誘導するカギではないか?との想いにふけっている。分子レベルで“*One for All, All for One*”を目指したいと、ひそかに考えている。

謝辞

本稿で紹介した成果は、菅 恵嗣 助教、岡本 行広 准教授、博士後期課程学生(7名 既修了、6名 現所属)を始め、Bio-Inspired 化学工学研究室のメンバーに依るものである。絶え間ない努力に感謝の意を表したい。

参考文献

- 1) 馬越 大, 膜, **35**, 209-260 (2010)
- 2) 馬越 大, 化学工学, **76**, 215-216 (2012)
- 3) 馬越 大, 高分子, **65**, 166-168 (2016)
- 4) 林 啓太, 韓 瑾, 馬越 大, 化学工学, **83**, 394-397 (2019)
- 5) 馬越 大, 菅 恵嗣, 膜, **44**, 69-75 (2019)
- 6) Walde, P., Umakoshi, H., Stano, P., Mavelli, F., *Chem. Commun.*, **50**, 10177-10197 (2014)
- 7) Ishigami, T., Suga, K., Umakoshi, H., *ACS Appl. Mater. Interf.*, **7**, 21065-21072 (2015)
- 8) Ishigami, T., Tauchi, A., Suga, K., Umakoshi, H., *Langmuir*, **32**, 6011-6019 (2016)
- 9) Okamoto, Y., Kishi, Y., Ishigami, T., Suga, K., Umakoshi, H., *J. Phys. Chem. B*, **120**, 2790-2795 (2016)
- 10) Iwasaki, F., Suga, K., Okamoto, Y., Umakoshi, H., *ACS Omega*, **2**, 91-97 (2017)
- 11) Iwasaki, F., Suga, K., Okamoto, Y., Umakoshi, H., *ACS Omega*, **2**, 1447-1453 (2017)
- 12) Serrano-Luginbühl, S., Ruiz-Mirazo, K., Ostaszewski, R., Gallou, F., Walde, P., *Nature Reviews Chem.*, **2**, 306-327 (2018)