

自己組織系に魅せられて



若 者

渡 邊 望 美*

Diversity of Self-assembly System

Key Words : Self-assembly system, Lipid nanoparticles, Colloidal dispersion

はじめに

自己組織系とは、リン脂質や界面活性剤などの両親媒性分子が自発的に集合して形成する集合体が内在する系であり、これらの分子は疎水性相互作用や静電相互作用の非共有結合を介して集合構造を形成する。分子集合体構造は動的なゆらぎを有しており、構成分子の種類や外部の環境（温度・圧力・バルク中の溶質など）に影響を受けていることが知られている。

細胞膜の基本構造は、リン脂質が疎水基同士を向かい合わせて形成する二分子膜から構成される。膜タンパクはこの疎水環境を利用して膜中に係留し、シグナル伝達などの機能を果たしている。また細胞膜は外界からの区画化としての機能も重要であり、この疎水性の壁としての膜の存在は薬剤分子の送達には大きな障壁となる。特に、近年開発が進んでいるペプチドや核酸分子などの中分子医薬品は、従来の低分子医薬品と比較して分子量が大きいいため、膜透過性が課題となる。この課題を克服するため、リポソームをはじめとする脂質ナノ粒子の薬剤キャリアが開発されてきた。例えば、脂質膜小胞であるリポソームの場合、内水相に薬剤を内封することが可能であり、複数の抗がん剤内封リポソームは既に上市されている。近年は、リポソーム以外の様々な脂質ナノ粒子が研究されている。特に COVID-19 のワクチンとして、mRNA を搭載した脂質ナノ粒子

の応用展開が成功したことから、元々のがん治療のためのナノキャリア開発も加速化している。その一方で、脂質ナノ粒子の物性や特性については不明な点も多く、また、多様な脂質ナノ粒子に対する体系化された解析方法は確立されていない。

これまで筆者は自己組織系の解析に取り組んできた。また、研究活動の中で同じ“自己組織系の特性解析”に取り組む海外の研究グループとの交流を通して経験した自己組織系解析への取り組みについて紹介する。

脂質二分子膜解析（フィンランド Åbo Akademi 大学）

著者が博士後期課程に在籍時、フィンランドにある Åbo Akademi 大学の J. Peter Slotte 教授の研究室に研究滞在した（2017年4月～2018年3月）。Slotte 教授は脂質二分子膜の物性解析の第一人者であり、時間分解蛍光解析を使用したアプローチで知られる研究者である。海外で研究する機会が与えられ、米国・欧州・東南アジアなど色々と候補を頂いたのだが、直感的に「北欧」と回答してしまった。正直なところをいうと、北欧というこれまで接点のなかった文化や環境に対して関心があったからである。フィンランドは北欧諸国のうちロシアと近接している国で、かつてスウェーデンの統治下にもあった。滞在していた Åbo Akademi 大学はスウェーデンが統治していた時代の首都 Turku に位置し、フィンランドで唯一のスウェーデン系の大学であった。大学内ではスウェーデン語が行き交い、はじめはスウェーデン語とフィンランド語を聞き分けることもできなかった。北欧といえば、福祉国家として知られており、雇用の均等化や高い教育水準、社会福祉が整っている。実際滞在している研究棟の中を見ても、男女比はほぼ等しく、また子供を持つ研究者は 15時から16時には帰宅するなど、ワークライフバ



* Nozomi WATANABE

1992年6月生まれ
大阪大学大学院 基礎工学研究科 物質
創成専攻博士後期課程（2019年）
製薬会社での勤務を経て、
現在、大阪大学大学院 基礎工学研究科
物質創成専攻 助教 工学博士
TEL : 06-6850-6285
FAX : 06-6850-6286
E-mail : no.watanabe.es@osaka-u.ac.jp

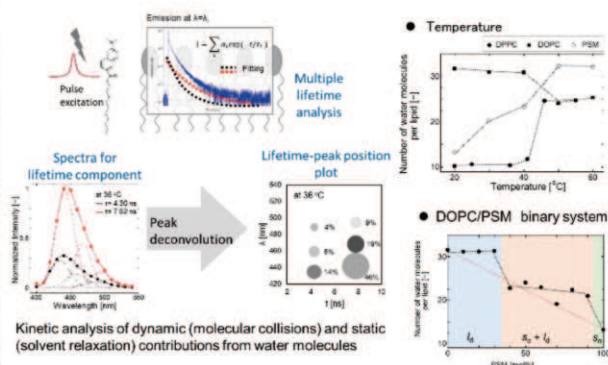


図1 Fikaの様子(左) 時間分解蛍光解析を用いた、脂質膜水和解析手法の提案(右)

ランスを重視した働き方が印象的だった。

Slotte 研は講師・博士学生含め 10 名ほどの小規模な研究グループであるが、個人の知識力・ディスカッションの質は非常に高かった。毎日 9 時と 14 時に Coffe time (スウェーデンの Fika という文化)があり、社会ニュースや日常のあれこれ話するのだが、研究ディスカッションに発展することは少なくない(図 1 左)。彼らが扱う時間分解蛍光解析は、脂質膜に蛍光分子を配向させ、その蛍光分子の蛍光寿命特性から膜の構造に関して議論する。彼らは分子レベルでの構造の違いが生み出す膜内部の特性(分子の側方拡散性や拡がり・相互作用特性)に着目しており、様々な分子の構造と膜を構成した時の振る舞いについて精通している。日々の会話の中で、質の高い研究ディスカッションを積み重ねることが大変刺激になり、様々なアイデアをもらう機会となった。

ここで Slotte 教授と共同で開発した、膜特性解析手法について紹介する。脂質膜中における Laurdan の蛍光減衰曲線は二次の指数関数フィッティングによって、長・短二種類の寿命成分に分解できる。各蛍光波長において寿命解析を行い、寿命成分ごとのスペクトルを描画することで、溶媒緩和や蛍光分子周辺の動的な情報が反映される。蛍光波長は溶媒の緩和(水和)による静的な影響を強く受ける¹⁾。一方で蛍光寿命は、高温条件下や流動性の高い脂質膜中などの動的な系において寿命が短くなる。静的・動的な影響の両方が蛍光特性に寄与するため、水和の程度は双方の寄与を考慮して検討する必要がある。筆者は独自のデコンボリューション解析²⁾

を時間分解スペクトルに適用し、分解したピークの寿命値(τ)とピーク波長値(λ)ならびにピーク面積比を反映させたプロットを作成した(図 1 右)。組成や温度の異なる複数の条件でその分布を辿ると、ゲル相は短波長・長寿命領域、液晶相は長波長・短寿命領域など、膜の相状態に応じた分布の偏りが確認された³⁾。これは水分子による Laurdan への動的な相互作用や緩和の影響を反映しており、この方法を用いることでより詳細な溶媒環境の予測が可能になる。

脂質膜界面解析 (アメリカ UC Davis 校)

University of California Davis 校の Tonya L Kuhl 教授は分子間力・表面力の理論と実験的研究で世界的に有名な Israelachvili 教授の門下生であり、Israelachvili 教授が開発した表面力測定装置(SFA)測定における著名な研究者である。SFA は溶液中の表面間に働く van der Waals 力や反発力を精緻に計測することが可能であり、コロイドや界面化学・生物物理学・接着工学など幅広い分野に適用されている。Kuhl 教授は特に、二つの脂質二分子膜表面間に働く力を明らかにし⁴⁾、自己組織系の界面の安定性や融合のメカニズム解明を進めている。

筆者が彼女の研究室に滞在したのは 2023 年 3 月の 3 週間だけであったが、受け継がれた研究文化を感じるには充分であった。特に驚いたのは、Kuhl 教授が自ら実験を行い学生指導をしている姿だった。SFA 測定にはサンプルづくりから測定に至るまで複数の工程がある。「難関」といわれる雲母基板の作製は、非常に細かい作業を μm オーダー

で合わせるまさに職人技である。Kuhl 教授の実験室でディスコ音楽を大音量で流し、「集中して作業するときはディスコが一番なの」とニコニコしながら驚くべき手捌きで基板作成をしている姿が忘れられない。所属する学生の話聞いても、「学生の誰も彼女のスキルには及ばない」と称される様子も印象的だった。

筆者が来訪した目的は、自己組織系の界面に働く力の解析のためである。特に前述した時間分解蛍光解析から、脂質膜に水和する水分子の特性は脂質分子の構造によって異なり、表層に働く相互作用力も異なることが予測される。また近年、脂質膜同士の融合や脂質膜と脂質分子液晶の融合メカニズムにも興味があり、様々な構造（二分子膜・液晶・構成分子構造の違いに起因する別の構造）を有する自己組織系において働く力を明らかにしたいと考えている。取得したデータは未発表ではあるが、自己組織系の振る舞いを、①時間分解蛍光解析による分子集合体内部の特性、②集合体の表層に働く力、とボトムアップ的に解明することを目指している。

自己組織系相図解析 (アメリカ State University of New York, Buffalo 校)

Paschalis Alexandridis 教授はブロックコポリマーの自己組織系解析において多くの研究成果を残しており、2021 年にはスタンフォード大学調査の「世界で最も引用される研究者の一人」としてその成果を称えられている。Alexandridis 教授とはアメリカ化学工学会での国際学会や研究室への来訪など、複数のディスカッションを重ねてきた。中でも印象的なのが教授の研究室を訪ねた時である。Alexandridis 教授の成果の一つに、ブロックコポリマーの自己組織系の形成挙動について相図を作成し、その構造形成の熱力学的なメカニズムを明らかにした研究がある⁵⁾。彼は 1メートル四方の発泡スチロール板に多数のサンプルバイアルを差し込み、それぞれのサンプルを比較することでまさに相図を「可視化」していた。教授曰く「これが一番の方法だ」と、それを作成した学生たちも誇らしげな様子だったのが記憶に残っている。

自己組織系を取り扱うなかで、分子がどう振る舞うのか、予想のつかないことがしばしばある。予想もしないような相分離を見せたり、かといえ透明な分散状態を示したり、実験条件からは見えてこな

い事実がサンプルにはある。Alexandridis 教授の「系」に対する深い洞察は、こうした俯瞰的な実験手技の積み上げによるものだと実感させられた。

おわりに

これまで二分子膜の物性解析から始め、脂質や界面活性剤が創り出す「膜」構造の解析に研究対象を拡げてきた。それと同時に、研究環境や研究者との交流も拡げるべく意識してきた。筆者が自己組織系においてもっとも興味があることは、分子の集まりと構造が呼応するようにして粒子を作り出していることである。分子の特性が構造を規定しているのか、構造が分子特性を特徴づけるのか？いずれにしても、形成する構造・集合特性は構成する脂質分子・調製方法に大きく依存し、個々のナノ粒子に対して多元的な解析が求められる。自己組織系に魅せられた様々な研究者との交流を通して、それぞれが得意とする専門を以て呼応しあうことで解明に近づくのではと考えると、うずうずしてしまう。これまで自己組織系の特性解析は二分子膜で体系化されてきたが、こうした膜解析法は脂質ナノ粒子にも適用可能であり、解析手法の拡張によって多様な脂質ナノ粒子の特性・構造が明らかになると期待している。

最後に、筆者の滞在を快く受け入れてくださった Slotte 教授、Kuhl 教授、度重なる研究ディスカッションの機会を設けてくださった Alexandridis 教授、そして筆者を快く海外へ送り出してくださった基礎工学研究科 馬越 大教授に心より感謝の意を申し上げます。

参考文献

- 1) Parasassi T, Stasio GD, Ravagnan G, Rusch RM, Gratton E: *Biophys. J.*, 60, 179-189 (1991)
- 2) Watanabe N, Goto Y, Suga K, Nyholm TKM, Slotte JP, Umakoshi H: *Biophysical J.*, 116, 874-883 (2019)
- 3) Watanabe N, Suga K, Slotte JP, Nyholm TKM, Umakoshi H: *Langmuir*, 35, 6762-6770 (2019)
- 4) Kuhl TL, Leckband DE, Lasic DD, Israelachvili JN: *Biophys. J.*, 66(5), 1479-1488.
- 5) Alexandridis P, Holzwarth J. F., Hatton T. A.: *Macromolecules*, 27(9), 2414-2425.