

補助事業番号 2022M-255

補助事業名 2022年度 生体試料からの脂質分子の抽出および精密分離に関する研究

補助事業

補助事業者名 大阪大学 大学院基礎工学研究科 物質創成専攻 化学工学領域 岡本 行広

1 研究の概要

高齢化社会では、安心して生活を送るためには、五体満足な暮らしを可能とする医療技術が必要である。このため、早期診断による疾病の予防は有効な方法の一つである。早期診断による疾病予防を可能にするために必要な要素は、疾病に関係するバイオマーカーの探索および同定が挙げられる。さらに、早期診断という観点で、クリニックや自宅などで簡便に検査実施可能であり、しかも、高精度である検査装置が重要である。

ところで、核酸やタンパク質といった水溶性分子に関して、これまでに精力的にバイオマーカー探索や検査機器の研究開発が実施されてきた。一方、脂質分子などの非水溶性分子に関しては、構造が多様かつ性質も類似した分子が多いため、分離分析の技術に課題が依然として多く残っている。

そこで、早期診断の精度向上、簡便な早期診断を目指し、生体試料由来の脂質分子の分離に着目する。早期診断において、雑多な生体試料(細胞や細胞外小胞体、血液や尿など)から水溶性分子と非水溶性分子(脂質)を粗分離する過程が必要である。このため、高効率かつ簡便に脂質分子の粗分離(抽出)を可能な手法の開発を目指す。そして、粗分離された脂質分子に対して、精密な分離を実施し、構造の違いにより脂質分子を分離する過程が必要である。このため、構造がわずかに異なる脂質分子に対しても分離可能な精密分離法を開発する。

2 研究の目的と背景

(背景)早期診断による疾病の予防のために、診断の高性能化および高精度化が必要である。脂質分子もバイオマーカーとして期待される分子である。しかし、核酸やタンパク質などの水溶性分子と異なり、脂質分子の分離は、非常に困難なため、現状の脂質分子の分離分析法は、早期診断に必要なと想定される性能を達成していない。

(目的)そこで、早期診断に必要なバイオマーカー探索や、脂質分子のバイオマーカー分析を可能とする脂質分子の抽出法および精密分離法を開発する。

3 研究内容 (URL <http://www.membranome.jp/B-ICE/member/70/233.html>)

(1)生体試料からの脂質分子の抽出および精密分離に関する研究

1.生体試料からの脂質分子の抽出(粗分離)法に関する研究

細胞を生体試料のモデルと想定して研究を実施した。その結果、溶液Aが疑似細胞(リポソーム)を溶解し、所定の操作後は、二相に分離することを見出した。このため、溶液Aを抽出に用いるために、抽出に関係する溶液Aの物性測定を行い、溶液Aの物性を明らかとすることに成功した。

この物性解析の結果から、溶液Aは、現状用いられる溶液と比較し、有毒な試薬を用いることなく、簡便かつ短時間で脂質分子を抽出することができる可能性を有していることを明らかとした。



図1 組成の異なる溶液Aの画像
(色は色素を用いて染色)
左: 二相分離の写真

2. 脂質分子の精密分離法に関する研究

抽出後の脂質分子の精密分離に関して、キャピラリー電気泳動の優れた分離性能に注目して、溶液Aを泳動としたキャピラリー電気泳動分離を試みた。今年度は、脂質分子ではなく、モデルとして難水溶性物質と水溶性物質を用いて分離を試みた。これらはどちらも中性であるが、溶液Aを用いると、キャピラリー電気泳動分離が可能であった。このため、本手法を今後は生体由来の脂質分子に適用し、精密分離を検討していく。

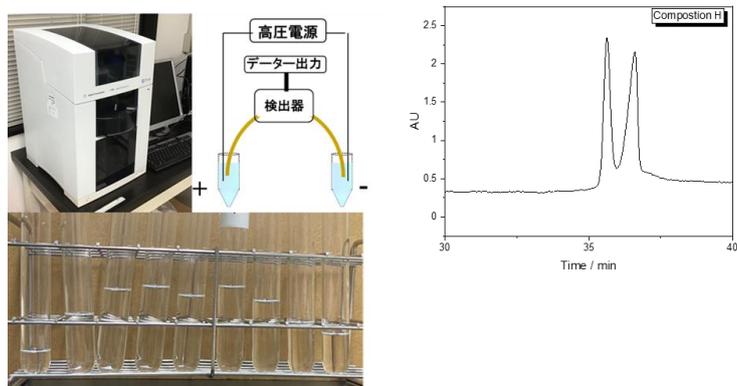


図2 キャピラリー電気泳動装置および装置構成そして分離結果

3. 抽出および精密分離の一貫分離システムに関する研究

抽出からキャピラリー電気泳動分離までの一貫分離システムの構築を目指した。本項目は、当初は、分離システムとして、機器・部品を用いて、抽出とキャピラリー電気泳動の一貫システムを作る予定であった。しかし、前述の溶液Aの成果から、抽出後、脂質を含む抽出液に所定の操作を加えると、そのままキャピラリー電気泳動分離への適用可能性が判明した。

4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

脂質分子は構造が多岐に渡る。また、存在している環境も大きく異なる。このため、サンプルごと、脂質分子種ごとに、最適な抽出法・精密分離法、解析法があると考えられる。このため、本研究では、このような脂質分子の抽出・精密分離に対して、現行法の改良では、現状以上の性能の向上を見込めないと判断し、新規の抽出・精密分離法を作りあげていくという基礎研究に特化している。抽出で臨まれる特性を考慮した抽出法を開発し、わずかな構造や物性の差異を分ける可能性を有している電気泳動法と、今回見出した溶液Aを組み合わせた精密分離法の有望性を実証した。実社会への活用という点では、データや実績が不十分であるが、今後さらに検討を行うことで、現状の脂質分離分析に勝る手法へと発展させていきたいと考えている。

5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

これまで、生体試料を中心に分離分析法の研究を実施してきた。特に近年では、脂質分子が形成する脂質膜の分析に注力している。そこで、今回の研究では、脂質膜を構成する脂質分子自体の分離に注目して研究を実施した。これにより、分子として脂質を分離し、脂質膜として脂質膜を分析し、脂質膜を分離分析へ活用するという、分子レベルから膜レベルまでを対象に研究を行うという位置づけとなる。

教員としては、これまでに分析化学および、規模は大きなスケールとなるが分離工学に関する教育を行っている。この際、生体試料からの分離プロセスは、一つの原理で完結することはほぼ皆無であると伝えている(細胞溶解、膜分離、イオンクロマト、抽出、アフィニティークロマトグラフィー、晶析などなどの組み合わせ)。今回の研究は、まさに細胞の溶解・脂質の抽出、脂質分子の精密分離という一連の分離プロセスに関する研究を行うものとなっている。

6 本研究にかかわる知財・発表論文等

1. Okamoto, Y.; Hamaguchi, K.; Watanabe, M.; Watanabe, N.; Umakoshi, H. Characterization of Phase Separated Planar Lipid Bilayer Membrane by Fluorescence Ratio Imaging and Scanning Probe Microscope. *Membranes* **2022**, *12*, 770. <https://doi.org/10.3390/membranes12080770>
2. 岡本 行広, ヤヌス粒子の熱泳動に対する基材表面の効果, *ぶんせき*, 2023,5,205
3. 岡本 行広, キャピラリー電気泳動法の測定原理と装置活用のコツ, キャピラリー洗浄での留意点, 「キャピラリー電気泳動のデータ解析と分析テクニック」, (技術情報協会), in press
4. 岡本 行広, イ ジョンフ, 大城 敬人, ナノポア解析のための脂質抽出法の開発, 第83回分

析化学討論会(富山), 2023.05 (学会)

5. Zachary Nicolella , Yukihiro Okamoto*, Nozomi Morishita Watanabe, Gary Lee Thompson, Hiroshi Umakoshi, Significance of *in situ* Quantitative Membrane Property–Morphology Relation (QmPMR) Analysis, submitted
6. Yukihiro Okamoto, Jungu Lee, Takahito Ohshiro, in preparation.

7 補助事業に係る成果物

(1)補助事業により作成したもの

該当なし

(2)(1)以外で当事業において作成したもの

該当なし

8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名: 大阪大学(オオサカダイガク)

住 所: 〒560-8531

大阪府豊中市待兼山町1-3

担 当 者: 准教授 岡本 行広 (オカモトユキヒロ)

担 当 部 署: 基礎工学研究科 (キソコウガクケンキュウカ)

E - m a i l: okamoto.yukihiro.es@osaka-u.ac.jp

U R L: <http://www.membranome.jp/B-ICE/member/70/233.html>