

論 説

効率の高い人工能動輸送系の設計と構築

—新しいエネルギー変換系に向けて—

Design and Construction of Highly Efficient Artificial Active Transport System
—for Novel Energy Conversion System—

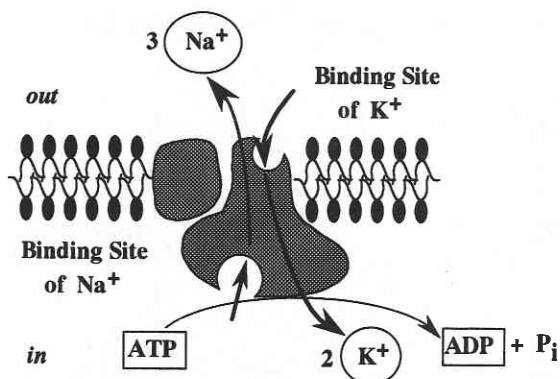
荒 木 孝 二・渡 邊 潤 也

Koji ARAKI and Junya WATANABE

1. は じ め に

生命の最小単位といえる細胞は、細胞膜で外界と区別された領域内に複雑で精緻な秩序性を発現し、多様な生命活動を可能としている。隔壁となるのは、基本的には脂質2分子が向かいあって並んだ厚さがわずか数nm程度の脂質二分子膜であり、膜タンパク質とともに細胞膜を構成している。膜の内部は疎水性（油のように水と混じらない性質）であるため、細胞内外の水相に存在するイオンなどの水溶性基質は膜を自由に透過できない。しかし膜上には様々な生体膜輸送系があり、必要な物質のみを選択的に外界から取り入れ、不要な物質のみを細胞外に放出する。中でも注目しているのは、基質を濃度の低い側から濃度勾配に逆らって高い側に輸送する能動輸送系である。例えば細胞外の K^+ イオンは濃度の低い細胞外から濃度の高い細胞内に汲み上げられ、 Na^+ イオンは濃度の低い細胞内から濃度の高い細胞外に汲み出される (Fig. 1)。この分子ポンプともいえる能動輸送は化学反応に伴う自由エネルギーを利用して行われており、 Na^+ 、 K^+ -ATPaseという膜を貫通して存在するタンパク質がその役割を担っている。しかしこのタンパク質の立体構造は極めて複雑で、現在でも十分に明らかにされていない。

これに対し、基質を取り込んで膜内輸送するキャリア分子を用いても、膜を通して水溶性基質を輸送することができる。キャリア分子は膜内に存在し、片側界面で水溶性基質と結合して膜に取り込み、反対側水相界面で基質と解離して放出する。このとき、取込み側の界面では高い基質親和性 (affinity) を示し、放出側で基質親和性を低下させることが可能な機能性キャリアを用いると、比較的分子量の小さいキャリアであっても人工能動輸送が実現できることを提唱し、これまでに光やpH差を駆動力とする人工能動輸送系の構築に成功している。¹⁾

Fig. 1 Na^+ , K^+ -ATPase

2. 人工能動輸送用キャリアの分子設計

では、具体的にどのようなキャリアの分子設計をすれば、効率の良い人工能動輸送系を構築できるのだろうか。効率の高い人工能動輸送を実現した例は皆無に近いが、錯体型キャリアを用いたpH駆動型アニオン能動輸送ではこれまでにない高い効率および高い選択性が得られることを見出し出している。^{2~4)}そこで、この錯体型キャリア分子を取りあげ、輸送機構を検証しよう。キャリアの分子構造は、以下に示すような平面正方形Ni(II)錯体**1a**である (Scheme 1)。b>1aを含む有機液膜相 (ジクロロメタン) を挟んだ両側水相のpH差がわずか2~3であっても、基質となるチオシアン酸イオン (SCN^-) を弱酸性水溶液 (Aq. I) から中性水溶液側 (Aq. II) に選択的かつ効率良く能動輸送し、初めは等しかった両水相の SCN^- 濃度が10倍以上開くという結果が得られている (Fig. 2)。まず基本的な作用機構を説明する。有機溶媒中の2価カチオン型錯体**1a**は、中性水溶液と接触すると配位子上のアミドが解離した中性錯体**1b**となり、弱酸性水溶液と接触することで再びもとのカチオン型錯体**1a**に戻る。カチオン型錯体**1a**は、配位性のアニオンと静電相互作用するだけでなく、軸

*東京大学生産技術研究所 物質・生命大部門

方向での配位相互作用も大きく寄与するために、配位性アニオンである SCN⁻ に高い親和性を示し、有機相に強く取り込むことができる。これに対し、アミド解離した中性錯体 **1b** では、アニオンとの静電相互作用が消失するだけでなく、面内配位子場が強くなるために軸方向の配位相互作用も弱くなり、アニオンに対する親和性は大きく低下する。つまり、配位子上のアミドへのプロトン (H⁺) の可逆的な付加・脱離が、キャリアのアニオン親和性をスイッチすることになる。このため、濃度の低い弱酸性側界面でも、親和性スイッチが on 状態の **1a** はアニオンを取り込むことができ、中性側界面において親和性スイッチ off 状態の **1b** になると、濃度が高くても取り込んだアニオンを放出することができる。このとき駆動力となるのは、基質アニオンとともに同方向に輸送 (synport) される H⁺ の両側水相中の濃

度差、つまり自由エネルギー差である。キャリアを用いた輸送での最大の難点は、有機液膜中への基質取り込みを促進するために基質親和性を高くすればするほど、取り込んだ基質の放出が困難になるというジレンマであるが、親和性をスイッチすることによりこの問題を解決している。

親和性スイッチングという基本的な作用機構は上で述べたが、**1a** の分子構造と作用機構を詳細に調べると、なぜこのキャリアが効率よく能動輸送を行えるかという分子構造上の特徴が明らかになる。まず第一の特徴は、スイッチング部位となる配位子アミドと基質が結合する金属中心とが分離されているということである。もちろん、駆動力となる H⁺ のスイッチング部位への結合により、離れた基質結合部位の親和性を on-off することができる。これまで報告されてきた能動輸送用キャリアは、駆動力となる物質と輸送される基質の結合部位が同一で、界面における交換反応で相互に結合するという物質交換型が多い (Scheme 2)。交換する物質同士の親和性の差に基づき交換反応が進行するが、両側の界面ではまったく逆の交換反応が起きるため、両側界面での交換反応がいずれも効率よく進行するような系を構築することは困難となる。これに対し、基質と駆動物質の結合部位が分離されているため、駆動力となる H⁺ のスイッチング部位への結合・解離は、基質による影響をあまり受けない。このため、効率のよい界面物質移動系の設定が容易となる。

次に、二相系における界面取り込み平衡について調べてみる。この条件では配位子上にある2つのアミドの解離が逐次ではなく同時に起きるので、水相 (aq) のイオンおよび有機相 (org) に存在するキャリアとの間のみかけの平衡定数 K_{app} は (1) 式で表すことができる。このため、低親和性キャリアと高親和性キャリアのモル比は、スイッチングする水相 [H⁺] 濃度の2次に依存し、水相 [H⁺] 濃度に1次依存する場合とくらべ、わずかな pH 差でキャリアの基質親和性のスイッチングができる、つまり鋭い pH

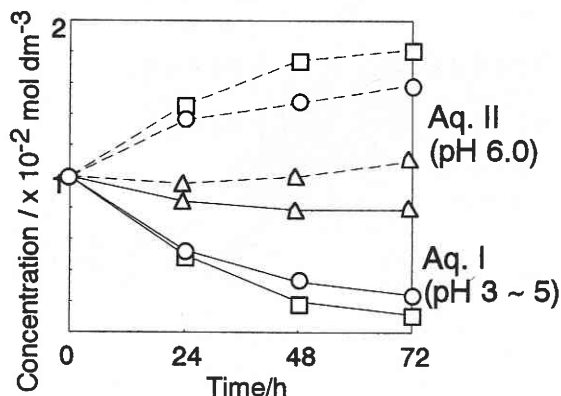
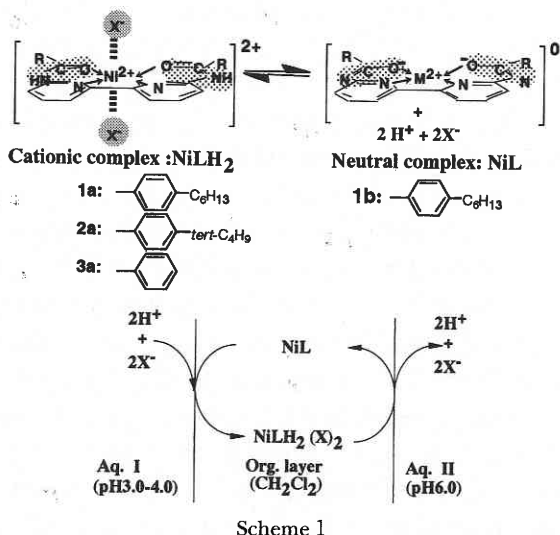
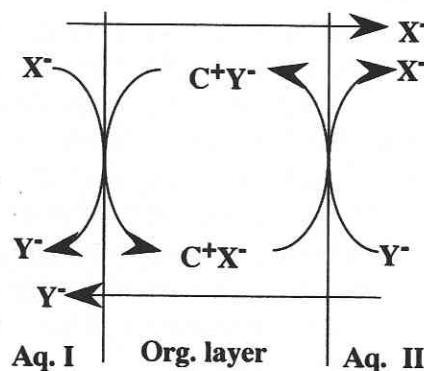


Fig. 2 Time course of the SCN⁻ concentrations of the aqueous layers I (—) and II (····) during the SCN⁻ transport by **1a** (1.11 x 10⁻⁴ mol dm⁻³) in the three-phase system at 20°C. Initial concentrations of SCN⁻ in both aqueous layers were 1 x 10⁻² mol dm⁻³. The layer II was set at pH 6.0, while pH of the layer I was 3.0 (○), 4.0 (□) and 5.0 (△).

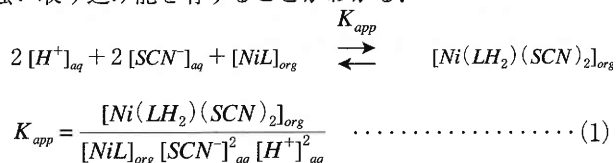


Scheme 1



Scheme 2 Ion-Exchange System. Illustration is only for the anion transport.

応答性を示すことができ、わずかな pH 差でも効率の良い能動輸送を実現できる (Fig. 3). ちなみに、キャリア **1a** は SCN^- に対し $\log(K_{app}) = 13.6$ という大きな値を示し、強い取り込み能を有することがわかる。



さらに基質の取り込み・放出について界面での速度論的な検討をしたところ、界面での基質取り込み・放出速度は、

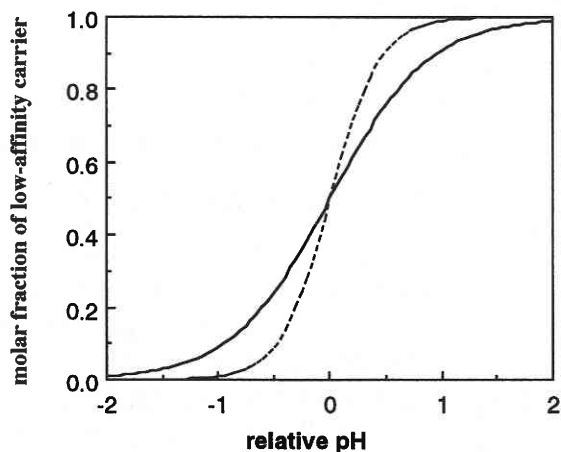


Fig. 3 Simulated molar fraction of low-affinity carrier (C^{low}) by assuming the following model switching reaction:

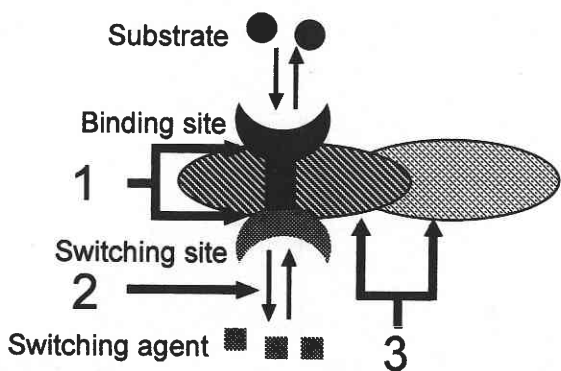
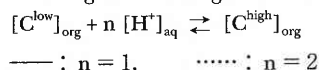


Fig. 4 Molecular Design of Functional Carrier for Artificial Active Transport

- 1 Separation of binding and switching sites
- 2 Higher-order dependence on the switching agent
- 3 Tuning the hydrophilic-hydrophobic balance of the carrier

いずれも測定条件ではキャリア分子濃度のみに依存するという結果が得られ、界面近傍でのキャリア濃度が界面物質移動速度を決める主要な因子であることが示された。つまり輸送速度を高めるには、キャリア分子の親水性/疎水性バランスの最適化が重要となる。ちなみに **1a** より疎水性の低い **2a** や **3a** では、水/ジクロロメタン二相系でカチオン型錯体が一部水相に分配されることから、**1a** は最適な親水性/疎水性バランスを持つことがわかる。

以上の結果をまとめると、具体的な高効率人工能動輸送キャリアの分子設計指針として、1) 基質結合サイトとスイッチングサイトの分離、2) 基質親和性の高次同調スイッチング、および3) 親水性/疎水性バランスの最適化、の3点が重要であるという結論となる (Fig. 4).

3. キャリア分子設計指針に基づく新しい人工能動輸送系の構築

錯体型キャリアの輸送特性を解析することにより、具体的なキャリア分子設計の指針が得られた。実際 **1a** による能動輸送は、これまでに知られている人工能動輸送系としては最も輸送効率の高いもので、駆動力となる H^+ 濃度差に基づく自由エネルギー差 ΔG の約 90% に相当する SCN^- 濃度差が形成される。生体内では、高効率に様々な形のエネルギーが変換されている。キャリアの基質親和性をスイッチングするという概念に基づきキャリア分子の設計を進めてゆくと、様々なエネルギーと共役した人工能動輸送系の構築が可能となる。これまでに光や pH 差を利用した輸送系の構築を行ったが、¹⁻⁴⁾ さらに、電気化学ポテンシャル、⁵⁾ 熱、化学反応などと共役した人工能動輸送系の構築も可能であり、今後検討してゆく予定である。

(2001年2月13日受理)

参考文献

- 1) K. Araki, Proc. Indian Acad. Sci. (Chem. Sci.), 108, 539 (1996).
- 2) K. Araki, S.-K. Lee, J. Otsuki, J. Chem. Soc., Dalton Trans., 1996, 1367.
- 3) S.-K. Lee, Y. Kumasaka, J. Otsuki, K. Araki, Bull. Chem. Soc. Jpn., 69, 1213 (1996).
- 4) S.-K. Lee, Y. Yamada, S. Mishina, K. Araki, Chem. Commun., 1996, 1179.
- 5) K. Araki, J. Watanabe, International Symposium on Molecular Synchronization for Design of New Materials System, Abstracts p.125 (2000).