

微生物細胞は油の中で生きられるか？

～両親媒性分子による微生物細胞の有機溶媒中への可溶化～

奈良工業高等専門学校化学工学科 直江一光

無極性有機溶媒中に両親媒性分子を添加することにより形成される自己凝集体、逆ミセルまたはマイクロエマルジョンは、水やペプチド、タンパク質などの親水性生体高分子を疎水的な有機溶媒に可溶化することができることから、バイオプロダクトの分離精製、基質として疎水性物質を扱う酵素反応のための新しい分離・反応媒体として期待され、これまでさまざまな系での例が報告されている。¹⁾

有機溶媒中に可溶化される生体高分子は、分子量が10万までの低分子量のタンパク質から25万ぐらいのDNAまで報告されているが、その立体的な制約から比較的低分子量のものに限られる。しかしながら、近年、逆ミセル有機溶媒中に微生物細胞やそのオルガネラを「可溶化」させた例がいくつか報告されている。

ここで可溶化という単語を使ったことに注目していただきたい。通常、有機溶媒中に微生物細胞を添加すると、懸濁したサスペンションが得られ、細胞は時間と共に沈降してしまうであろう。しかしながら、逆ミセル有機溶媒の場合、条件にもよるが、濁りのほとんどない熱力学的に安定な「溶液」を得ることができる。驚くべきことに水溶液中で懸濁する細胞濃度であってもクリアな細胞有機溶媒が得られる。

Darszon ら²⁾は、*Bacillus cereus* およびその孢子、そしてパン酵母を、リン脂質の混合物であるアズレクチンを両親媒性分子、トルエンを有機溶媒として用いたマイクロエマルジョン系に可溶化させ、それらの生存率を測定した。その結果、*B. cereus* とパン酵母は24時間後、可溶化したうちの0.1%しか生存していなかった。一方、*B. cereus* の孢子は30日間まで何の影響もなかった。しかし、Pfammatter ら³⁾は、パン酵母の可溶化において、Tween85/パルミチン酸イソプロピル (IPP)、アズレクチン/IPP 系マイクロエマルジョンを用いて、可溶化24時間後、それぞれ40%、60%の生存率を得ている。さらに彼らは、一度逆ミセルまたはマイクロエマルジョン有機溶媒を経験した親細胞から得られたパン酵母を用いて可溶化実験を行うことによって生存率がかなり改善されることに成功している。Tween85/IPP 系では、2世代目、5世代目の酵母を用いると、それぞれ60%、90%の生存率が得られた。また溶媒中の水分量が大きいほど生存率が高いことも示した。このようにそれぞれの微生物細胞に適したマイクロエマルジョン系があり、その適した系においては、細胞の適応力もあいまってかなり高い生存率が得られるようである。

ミセル有機溶媒中に可溶化された微生物細胞やオルガネラの機能への影響についても研究がなされている。Haering ら⁴⁾は、大腸菌を Tween85/IPP 系マイクロエマルジョンに可溶化させ、生成されるβ-ガラクトシダーゼの酵素活性を測定することにより、その細胞活性を測定した。可溶化直前にβ-ガラクトシダーゼの非代謝性誘導物質であるイソプロピル-1-チオ-β-D-ガラクトシド (IPTG) と基質 X-gal を添加し、活性を測定した。β-ガラクトシダーゼ活性は小さいが増加しており、マイクロエマルジョン有機溶媒中においてもタンパク質合成が可能であることが示された。また、AOT/イソオクタンマイクロエマルジョン系に可溶化させたミトコンドリアを水溶液中に再回収し、その呼吸機能について調べた報告もある。⁵⁾それによると、可溶化による呼吸機能への影響はまったくなく、電子顕微鏡による観察においても、内膜のレベルでは変化がなかった。

さらに植物細胞の光合成能力への影響も調べられている。⁶⁾パン酵母より大きいエンジン細胞 (*Rumex obtusifolius*) を AOT/イソオクタン有機溶媒に可溶化し、酸素の放出・消費をポーラログラフイーにより測定した。水溶液中と同じレベルの光合成反応による酸素放出は見られなかったが、アスコルビン酸存在下では光合成による酸素消費が確認された。最近、(Tween85/Span80)/ヘキサデカン系マイクロエマルジョンに可溶化したラン藻の光合成能についても報告されている。⁷⁾

このように、両親媒性分子による有機溶媒への微生物細胞の可溶化は、今まで水系に限られていた多様な生物機能を疎水性媒体に拡張する可能性を有しており、新しい微生物細胞固定化媒体への応用が期待される。

- 1) Luisi, P. L. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **947**, 209 (1988).
- 2) Darszon, A. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **151**, 1074 (1988).
- 3) Pfammatter, N. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **161**, 1244 (1989).
- 4) Haering, G. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **127**, 911 (1985).
- 5) Hochkeppler, A. and Luisi, P. L.: *Biotechnol. Bioeng.*, **33**, 1477 (1989).
- 6) Hochkeppler, A. and Luisi, P. L.: *Biotechnol. Bioeng.*, **37**, 918 (1991).
- 7) Famifietti, A. et al.: *Biotechnol. Bioeng.*, **40**, 173 (1992).