

令和元年5月31日現在

機関番号：82108

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K04869

研究課題名(和文)水-脂質膜-油バイオ界面のモデル創生と界面ナノ特性の解明

研究課題名(英文) Studies on model formation and nanoscopic properties of biological water/lipid membrane/oil interfaces

研究代表者

片岡 知歩(浜井知歩)(Kataoka, Chiho)

国立研究開発法人物質・材料研究機構・国際ナノアーキテクトニクス研究拠点・主任研究員

研究者番号：70443009

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：リン脂質単分子膜で覆われた油水界面は、生物学・工学分野において非常に重要な構造である。しかし液液界面を研究する手段が非常に限られているため、リン脂質単分子膜の形成機構や単分子膜の構造は未解明である。

そこで本研究では、リン脂質一分子膜の集合体(ミセル)とリン脂質二分子膜で囲まれた球体(ベシクル)が油水界面とどのように相互作用するかについて研究を行った。その結果、(1)リン脂質単分子膜の構造は油の粘度に依存する、(2)ベシクルは油水界面に吸着後、自発的に単分子膜を形成する、(3)ミセルに比べベシクルの反応性は非常に低い、ということが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体中には油/リン脂質単分子膜/水界面が存在する。この界面は脂質の輸送・代謝に重要な役割を果たしており、様々な疾患に関わっている。このため、界面の生物学的性質が精力的に研究されているが、化学的、物理的性質は未解明である。生体中での界面機能を理解するためには、分子レベルでの性質の理解が必須である。そこで本研究では、化学的手法を用いて測定可能なモデル界面の作製法を開発した。本作製法は油水界面に関する今後の研究に役立つと期待される。

研究成果の概要(英文)： Oil/water interfaces coated with a phospholipid monolayer are an important structure in biological studies and technological applications. Nonetheless, the mechanisms of phospholipid monolayer formation and the structures of monolayers are not well characterized because of the technical challenges of observing liquid/liquid interfaces.

In this work, I investigated the interactions between an oil/water interface and micelles or vesicles. The findings of this study are 1), micelles form a monolayer with the area per lipid that depends on the oil viscosity; 2), vesicles spontaneously adsorb and rupture to form a homogeneous monolayer on the interface; and 3) the reactivity of vesicles is much lower than that of micelles.

研究分野：表面化学

キーワード：油水界面 リン脂質 単分子膜 ベシクル 吸着

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生体中には油／リン脂質単分子膜／水界面(図1)が存在する。この油水界面に囲まれた構造体は脂質輸送や代謝において重要な役割を果たしている。また、エマルジョンと呼ばれる油水界面で囲まれた構造は、食品、化粧品、医薬品等、様々な産業分野で利用されている。従って、油水界面に関する研究は、生物学・工学分野において非常に重要である。しかし、液液界面を測定する手法は非常に限られているため、界面リン脂質単分子膜の形成機構や構造は未解明な点が多い。

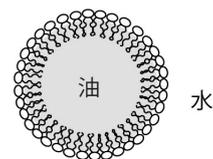


図1. 油／リン脂質／水界面

現在まで、生物学的手法を用いて生体中に存在する油水界面の研究が行われてきた。しかし、界面の生物学的機能をよりよく理解するためには、界面の物理化学的性質を理解することが必須である。今までのところ技術的な問題から、分子レベルでの研究が困難となっている。そこで本課題では、界面構造や性質を分子レベルで理解するための研究を行った。

2. 研究の目的

光学顕微鏡を用いて油水界面を観察できるようにするため、モデル油水界面の作製法を探索した。さらに、油水界面に存在するリン脂質単分子膜の構造を調べることで、およびリン脂質単分子膜の形成機構を調べることを目的とし、研究を行った。

3. 研究の方法

ガラス表面上に界面モデルを作製するため、カバーガラスの表面修飾を行った。エクストルージョン法を用いてユニラメラベシクルを作製した。また、ペンダントドロップ式界面張力計および光学顕微鏡を用いて、リン脂質分子と油水界面との相互作用を研究した。

4. 研究成果

カバーガラス表面付近に油水界面を作製する方法を開発した。本手法により、界面の光学顕微鏡観察が可能となった。本研究ではこのモデル界面を利用し研究を行った。

短鎖リン脂質を緩衝液に溶かし、モノマー溶液あるいはモノマー／ミセル混合溶液(図2)を作製した。次に界面張力計を用いて、ミセルと油水界面との相互作用を調べた。短鎖リン脂質溶液中に油滴を形成すると、油水界面の界面張力は時間とともに減少し、その後平衡状態に到達した(図3)。

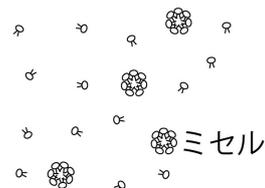


図2. リン脂質ミセル

ミセルが存在する脂質濃度では、単分子膜の形成は数分のうちに終了した。また、平衡状態での界面張力に基づき単分子膜中での一分子占有面積を決定したところ、一分子が占める面積は油相の粘度に依存することが明らかとなった。油の粘度が最も高い時、一分子占有面積は気液界面の単分子膜の値に近くなることも分かった。分子の大きさを考慮することによって、一分子占有面積と油相との相関を議論した。

次に、長鎖リン脂質を緩衝液に懸濁し、直径 100 nm のユニラメラベシクル (図 4) を形成した。そして、界面張力計と蛍光顕微鏡を用いて、ベシクルと油水界面との相互作用を研究した。その結果、ベシクルは油水界面に自発的に単分子膜を形成することが明らかとなった。現在まで、油水界面へのベシクルの吸着に関して、その挙

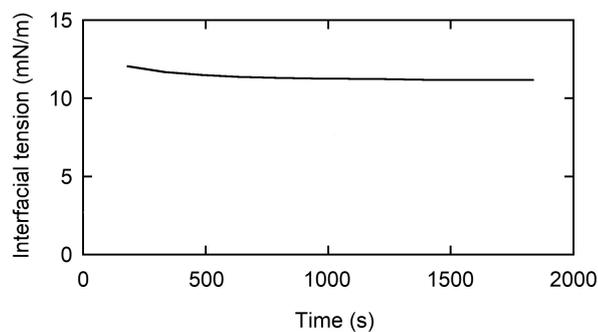


図 3. 界面張力と時間の関係 (リン脂質濃度 0.053 mM)

動を明らかにする決定的なデータは得られてこなかった。本研究では自発的膜形成を確認することができ、またその証明方法を提示することができた。また、ベシクルが単分子膜を形成する速度は、ミセルの場合と比較すると非常に遅いことが分かった。さらに、油水界面付近での個々のベシクルの挙動を観察したところ、吸着したベシクルのすべてが単分子膜へと変化する

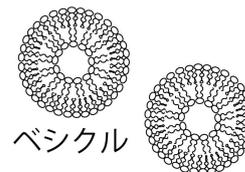


図 4. リン脂質ベシクル

わけではないことが分かった。少ない割合の吸着ベシクルが単分子膜の形成に寄与していた。ベシクルが単分子膜へと変形するとき、膜構造は大きく変化する必要がある。この膜変形家庭を考慮することによって、ベシクルの反応性を議論した。以上の結果は雑誌に投稿中である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。